

Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Aktivitas Enzim Dan Lignin Pada Proses Fermentasi Kulit Buah Kakao Menggunakan Kapang (*Phanerochaete chrysosporium*)

Engkus Ainul Yakin, Ali Mursyid Wahyu Mulyono

Fakultas Pertanian, Universitas Veteran Bangun Nusantara, Jl. Letjen Sujono Humardani
No. 1, Sukoharjo 57521. Telp. +62-0271-593156, fax. +62-0271-591065
Email : engkus_ainul@yahoo.com

Abstrak

Penelitian dilakukan untuk mengetahui aktivitas enzim lignolitik dan lignin pada proses fermentasi kulit buah kakao. Substrat yang digunakan yaitu kulit buah kakao sedangkan penggunaan kapang yaitu *Phanerochaete chrysosporium*. Preparasi KBK yaitu KBK segar dicacah, digiling halus kemudian dikeringkan. Preparasi kapang dengan menumbuhkan kapang dalam medium cair. Metode penelitian yang dilakukan yaitu lama fermentasi yang dilakukan adalah melakukan fermentasi KBK dengan lama hari yang berbeda yaitu 5, 7, 9, 11 dan 13 hari pada suhu 37⁰ C dan pH 7 menggunakan lima perlakuan dan lima ulangan. P0 = fermentasi KBK selama 5 hari, P1 = fermentasi KBK selama 7 hari, P2 = fermentasi KBK selama 9 hari, P3 = fermentasi KBK selama 11 hari, P4 = fermentasi KBK selama 13 hari. Fermentasi dengan menggunakan erlenmeyer 500 ml dan ditutup dengan kapas. Variabel yang diamati meliputi aktivitas enzim LiP dan MnP, NDF, ADF, lignin. Analisis data yang diperoleh akibat perlakuan diuji dengan Analisis Variansi (ANOVA) dengan rancangan penelitian pola searah, bila terdapat perbedaan variabel karena perlakuan dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan's multiple range test (DMRT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan fermentasi selama 7 hari aktivitas enzim tertinggi LiP sebesar 0,527 ± 0,04 unit/ml dan MnP sebesar 0,063 ± 0,00 unit/ml, kandungan lignin terendah 26,30 ± 0,35%. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu fermentasi dengan menggunakan kapang *Phanerochaete chrysosporium* baik pada fermentasi selama 7 hari.

Kata kunci : fermentasi, hari, kulit buah kakao, *Phanerochaete chrysosporium*

Abstract

The study was conducted to determine the enzyme activity ligninolitik and lignin content in the fermentation process of cacao pod. The substrate used was the cacao pod while the fungi use *Phanerochaete chrysosporium*. Preparation of cocoa pod was chopped, finely ground and then dried. Preparation of fungi by growing fungi in liquid medium. Research methodology was the optimization of fermentation is fermentation conducted with cocoa pod different days are 5, 7, 9, 11 and 13 days at a temperature of 37⁰ C and pH 7 using five treatments and five replications. T0 = 5 days fermentation of cocoa pod, T1 = 7 days fermentation of cocoa pod, T2 = 9 days fermentation of cocoa pod, T3 = 11 days fermentation of cocoa pod, T4 = 13 days fermentation of cocoa pod. Fermentation used a erlenmeyer with cotton at the top. Variables observed enzyme activity LiP and MnP, NDF, ADF, lignin. This study was designed using research design completely randomized design with a unidirectional pattern analysis of variance (ANOVA oneway). Significant variables followed Duncan's multiple range test (Duncan Multiple Range Test / DMRT). The results showed fermentation for 7 days LiP highest enzyme activity of 0.527 ± 0.04 units / ml and MnP amounted to 0.063 ± 0.00 units / ml, low lignin content of 26.30 ± 0.35%. The conclusion from this research that the fermentation by using fungi *Phanerochaete chrysosporium* well in fermentation for 7 days.

Keywords: cocoa pod, day, fermentation, *Phanerochaete chrysosporium*

1. PENDAHULUAN

Limbah tanaman pangan dan perkebunan memiliki peran yang cukup penting dan berpotensi dalam penyediaan pakan hijauan bagi ternak ruminansia seperti sapi, kambing, domba dan kerbau terutama pada musim kemarau. Pada musim kemarau hijauan rumput terganggu pertumbuhannya, sehingga pakan hijauan yang tersedia kurang baik dari segi kuantitas maupun kualitas. Bahkan di daerah-daerah tertentu rumput pakan ternak akan kering dan mati sehingga menimbulkan krisis pakan hijauan. Selain itu, sistem pemeliharaan ternak ruminansia sebagian besar masih tergantung pada hijauan pakan berupa rumput-rumputan dan pakan hijauan lainnya dengan sedikit atau tidak ada pakan tambahan.

Kulit buah kakao (KBK) memiliki peran yang cukup penting dan berpotensi dalam penyediaan pakan ternak ruminansia khususnya kambing terutama pada musim kemarau. Pemanfaatan kulit buah kakao sebagai pakan ternak dapat diberikan dalam bentuk segar maupun dalam bentuk tepung setelah diolah. Dilihat dari komposisinya, kulit buah kakao mengandung 7,75% protein dan energi sebesar 3900 kkal/kg yang melebihi komposisi rumput gajah yaitu 6,9% dan energi sebesar 3800 kkal/kg (Puastuti *et al.*, 2009).

Kulit buah kakao adalah merupakan limbah agroindustri yang dihasilkan tanaman kakao (*Theobroma cacao L.*) Buah kakao yang terdiri dari 74 % kulit buah, 2 % plasenta dan 24 % biji. Hasil analisa proksimat mengandung 22 % protein dan 3-9 % lemak Nasrullah dan A. Ella, 1993).

Phanerochaete chrysosporium merupakan salah satu mikroorganisme yang mempunyai kemampuan mendegradasi lignoselulosa secara selektif (Tuomelo *et al.*, 2000) yaitu mendegradasi komponen lignin terlebih dahulu diikuti dengan komponen selulosa. Selulosa dan hemiselulosa dimanfaatkan oleh kapang sebagai sumber karbon. Kapang ini juga mempunyai kemampuan untuk tumbuh pada suhu yang relatif tinggi yaitu 36-40°C sehingga cocok digunakan dalam proses fermentasi yang banyak menghasilkan panas (Tuomelo *et al.*, 2002). Efisiensi degradasi lignin yang tinggi dan minimal dalam memanfaatkan polimer selulosa dibanding fungi pelapuk putih lain

menjadikan *P. chrysosporium* sebagai pilihan terbaik dalam perlakuan degradasi lignin.

Kapang pendegradasi lignin yang paling aktif adalah *white-rot fungi* seperti misalnya *Phanerochaete chrysosporium* dan *Coriolus versicolor* yang mampu merombak hemiselulosa, selulosa dan lignin dari limbah tanaman menjadi CO₂ dan H₂O (Paul, 1992; Limura, 1996). Pada umumnya basidiomisetes *white-rot* mensintesis 3 macam enzim, yaitu Lignin-peroksidase (LiP), Manganese-peroksidase (MnP) dan Laccase. Ketiga enzim tersebut sangat berperan dalam proses degradasi lignin (Srinivasan *et al.*, 1995).

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengkaji pengaruh lama fermentasi dengan menggunakan kapang *Phanerochaete chrysosporium* terhadap aktivitas enzim dan nilai lignin kulit buah kakao.

2. BAHAN DAN METODE

2.1 Proses fermentasi

Proses fermentasi skala laboratorium dilakukan pada ruang steril Kulit buah kakao difermentasi dalam erlemeyer 500 ml. Fermentasi KBK dilakukan secara aerobik dengan cara memasukkan cacahan KBK sebanyak 100 g pada wadah fermentasi berupa Erlenmeyer 250 ml yang kemudian ditutup dengan kapas selanjutnya diautoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit. Kulit buah kakao steril selanjutnya diinokulasi dengan kapang sebanyak 1 % dari berat substrat berdasar bahan kering selanjutnya dimasukkan dalam *shaker incubator* pada kecepatan 150 rpm dan suhu 30°C. Setelah proses fermentasi selesai, KBK dikeluarkan dan dikeringkan-anginkan selama 6 jam. Penimbangan KBK setelah fermentasi dilakukan pada semua perlakuan. Pengeringan sampel menggunakan oven pada suhu 55° C selama 5 hari. KBK yang sudah kering digiling menggunakan *Thomas-Wiley* (tipe 4) dengan diameter saringan 1 mm.

2.2 Metode penelitian

Fermentasi KBK dengan menggunakan kapang *Phanerochaete chrysosporium* dilakukan dengan lama hari yang berbeda yaitu 5, 7, 9, 11, dan 13 hari. Suhu dan pH yang digunakan sama pada semua perlakuan yaitu pada suhu 37° C dan pH 7.

Yakin & Mulyono. 2017

Percobaan ini dirancang dengan Rancangan Acak Lengkap pola searah dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan sehingga terbentuk 25 unit percobaan. Kelompok perlakuan yaitu : P0 = fermentasi KBK selama 5 hari, P1 = fermentasi KBK selama 7 hari, P2 = fermentasi KBK selama 9 hari, P3 = fermentasi KBK selama 11 hari, P4 = fermentasi KBK selama 13 hari.

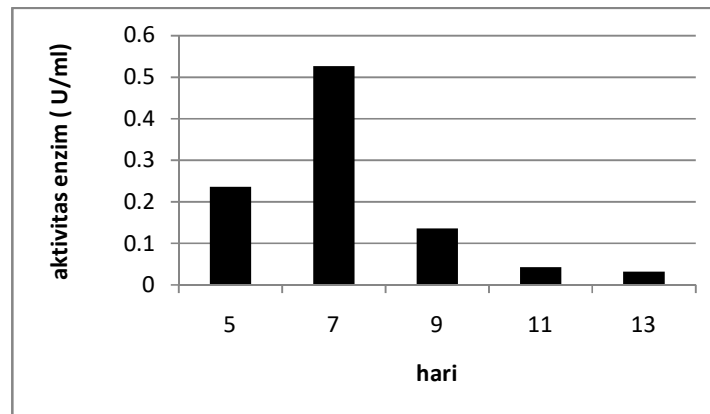
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Lignin Peroksidase

Hasil rerata aktivitas enzim Lignin peroksidase (LiP) tercantum dalam tabel 1. Untuk dapat memperjelas berikut digambarkan grafik aktifitas enzim LiP.

Tabel 1. Rerata aktivitas enzim Lignin Peroksidase fermentasi kulit buah kakao (U/ml)

Ulangan	Perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
1	0,219	0,521	0,223	0,054	0,025
2	0,223	0,562	0,126	0,036	0,046
3	0,265	0,460	0,114	0,049	0,018
4	0,238	0,567	0,081	0,033	0,040
Rerata	0,236 ^c ± 0,02	0,527 ^d ± 0,04	0,136 ^b ± 0,06	0,043 ^a ± 0,01	0,032 ^a ± 0,01



Gambar 1. Grafik rerata aktivitas enzim LiP

Bila dilihat hasil penelitian yang telah dilaksanakan yaitu fermentasi dengan lama hari yang berbeda terlihat aktivitas enzim tertinggi ditunjukkan pada perlakuan P1 = 0,527 ± 0,04 U/ml yaitu perlakuan fermentasi selama 7 hari.

Hasil penelitian ini hampir sama dengan penelitian Puspita (2007) menunjukkan bahwa jamur *Pleurotus* sp. 1 memiliki aktivitas enzim LiP tertinggi pada inkubasi hari ke-6 yaitu sebesar 0,430 U/ml. Aktivitas enzim LiP tertinggi pada 7 hari disebabkan karena puncak dari pertumbuhan kapang terjadi pada hari yang ketujuh sehingga pelepasan enzim LiP juga mencapai titik yang

tertinggi. Setelah tujuh hari pertumbuhan kapang cenderung stagnan bahkan cenderung menurun sehingga hal ini juga berefek pada aktivitas enzim LiP yang juga turun.

LiP merupakan katalis utama dalam proses ligninolis oleh kapang karena mampu memecah unit non fenolik yang menyusun 90 persen struktur lignin (Srebotnik *et al.*, 1998). LiP mengkatalisis suatu oksidasi senyawa aromatic non fenolik lignin membentuk radikal kation aril. Disamping itu, karena LiP merupakan oksidan yang kuat maka enzim ini juga mempunyai kemampuan mengoksidasi senyawa fenolik, amina, eter aromatic dan

Yakin & Mulyono. 2017

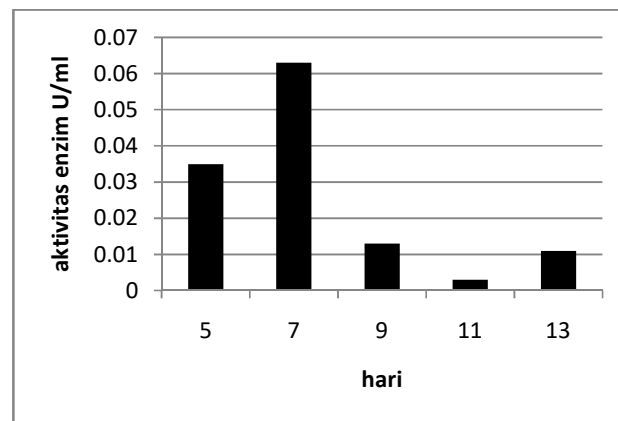
senyawa aromatic polisiklik. Oksidasi substruktur lignin yang dikatalisis oleh LiP dimulai dengan pemisahan satu elektron cincin aromatik substrat donor dan menghasilkan radikal kation aril, yang kemudian mengalami berbagai reaksi postenzymatic.

3.2 Mangan Peroksidase

Hasil rerata aktivitas enzim Mangan Peroksidase (MnP) tercantum dalam tabel 2. Untuk dapat memperjelas berikut digambarkan grafik aktivitas enzim MnP

Tabel 2. Rerata aktivitas enzim Mangan Peroksidase fermentasi kulit buah kakao (U/ml)

Ulangan	Perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
1	0,041	0,062	0,022	0,005	0,002
2	0,032	0,066	0,012	0,003	0,004
3	0,036	0,060	0,011	0,004	0,001
4	0,033	0,067	0,008	0,003	0,040
Rerata	0,035 ^b ± 0,00	0,063 ^c ± 0,00	0,013 ^a ± 0,00	0,003 ^a ± 0,00	0,011 ^a ± 0,01



Gambar 2. Grafik rerata aktivitas enzim MnP

Bila dilihat hasil penelitian yang telah dilaksanakan yaitu fermentasi dengan lama hari yang berbeda terlihat aktifitas enzim MnP tertinggi ditunjukkan pada perlakuan P1 = 0,063 ± 0,00 U/ml yaitu perlakuan fermentasi selama 7 hari.

Aktifitas enzim MnP tertinggi pada 7 hari disebabkan karena puncak dari pertumbuhan kapang terjadi pada hari yang ketujuh sehingga pelepasan enzim LiP juga mencapai titik yang tertinggi. Setelah tujuh hari pertumbuhan kapang cenderung stagnan bahkan cenderung menurun sehingga hal ini juga berefek pada aktifitas enzim MnP yang juga turun.

Enzim MnP mengoksidasi Mn^{2+} menjadi Mn^{3+} dan H_2O_2 sebagai katalis untuk menghasilkan gugus peroksida (Camarero *et.al.*, 1996). Mn^{3+} yang dihasilkan dapat

berdifusi ke dalam substrat dan mengaktifkan proses oksidasi. Hal ini didukung pula oleh aktivitas kation radikal dari veratril alkohol dan enzim penghasil H_2O_2 . Proses ini akan diakhiri dengan bergabungnya O_2 ke dalam struktur lignin (de Jong *et.al.*, 1994).

Menurut Pelczar dan Chan (2005) fungsi utama suatu enzim ialah mengurangi hambatan energi aktivasi pada suatu reaksi kimiawi. Enzim dikenal ada dua tipe yaitu enzim ekstraseluler dan intraseluler. Fungsi utama dari enzim ekstraseluler ialah melangsungkan perubahan-perubahan pada nutrisi di sekitarnya sehingga memungkinkan nutrisi tersebut memasuki sel. Enzim intraseluler mensintesis bahan seluler dan juga menguraikan nutrisi untuk menyediakan energi yang dibutuhkan oleh sel.

Yakin & Mulyono. 2017

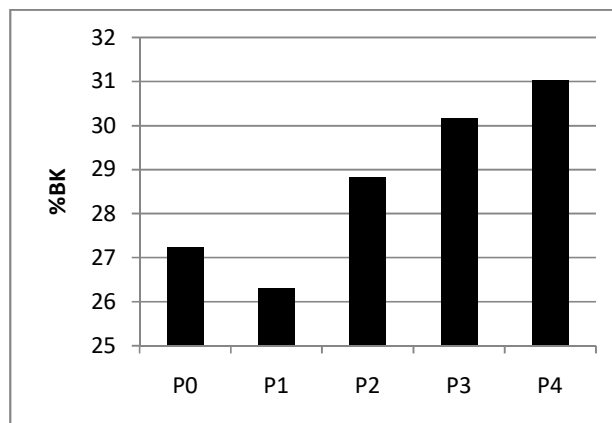
3.3 Lignin

Rerata lignin disajikan dalam Tabel 3. Untuk dapat memperjelas berikut

digambarkan kandungan lignin fermentasi kulit buah kakao.

Tabel 3. Rerata lignin fermentasi kulit buah kakao (%)

Ulangan	Perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
1	27,26	26,11	28,21	29,97	31,69
2	27,77	26,29	28,11	29,44	30,46
3	26,58	26,81	29,34	30,29	30,93
4	27,39	26,01	29,67	30,95	31,04
Rerata	27,25 ^b ± 0,49	26,30 ^a ± 0,35	28,83 ^c ± 0,79	30,16 ^d ± 0,63	31,03 ^e ± 0,50



Gambar 3. Grafik nilai lignin

Bila dilihat hasil penelitian yang telah dilaksanakan yaitu fermentasi kulit buah kakao selama 7 hari terlihat sekali bahwa lignin pada P1 berbeda nyata lebih rendah dibandingkan dengan P0, P2, P3 maupun P4. Rendahnya nilai lignin pada P1 bila dibandingkan dengan P0, P2, P3 maupun P4 karena pada perbedaan waktu fermentasi.

Fermentasi kulit buah kakao selama 7 hari memperlihatkan nilai lignin yang paling rendah dikarenakan waktu fermentasi selama 7 hari merupakan puncak dari pertumbuhan kapang sehingga produksi enzim yang dihasilkan juga tinggi sehingga mempengaruhi degradasi lignin di dalam proses fermentasi kulit buah kakao.

Lignin merupakan komponen dinding sel tanaman yang mengalami perkembangan setelah tanaman mengalami proses pematangan. Kulit buah kakao sebagai limbah tanaman tua telah mengalami lignifikasi tahap lanjut. Besaran dari nilai lignin sangat dipengaruhi oleh lamanya

fermentasi. Perubahan kandungan lignin pada substrat terjadi karena perombakan struktur lignin menjadi komponen yang lebih sederhana.

Nilai lignin pada P1 yaitu $26,30 \pm 0,35$ menunjukkan paling rendah diantara perlakuan yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa penurunan nilai lignin terjadi pada hari ketujuh fermentasi. Ini seperti pendapat dari Shi *et al.* (2009) yang menyatakan bahwa sebagian besar degradasi lignin terjadi pada hari 4-10 setelah fermentasi. Gupte *et al.* (2007) juga melaporkan bahwa kehilangan lignin maksimum oleh *Phanerochaete chrysosporium* terjadi pada hari kesepuluh setelah inkubasi.

Nilai lignin pada lama fermentasi berhubungan dengan produksi enzim ligninase. Jager *et al.* (1985) melaporkan bahwa produksi enzim ligninase tertinggi terjadi pada hari keenam setelah inokulasi. Degradasi lignin ini akan membuka jalan

Yakin & Mulyono. 2017

untuk perombakan selulosa dan hemiselulosa.

4. KESIMPULAN

KBK yang diberi perlakuan fermentasi dengan lama waktu yang berbeda menunjukkan fermentasi selama 7 hari memberikan hasil yang terbaik. Fermentasi KBK selama 7 hari menunjukkan aktifitas enzim tertinggi LiP sebesar $0,527 \pm 0,04$ unit/ml dan MnP sebesar $0,063 \pm 0,00$ unit/ml. Fermentasi KBK selama 7 hari menunjukkan nilai lignin terendah sebesar $26,30 \pm 0,35\%$.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Camarero, S., B. Bockle, M.J. Martinez, & A.T. Martinez. 1996. Manganese mediated degradation by *Pleurotus pulmonarius*. *Appl. Environ. Microbiol.* 62:1070-1072
- De Jong, J.A. Field, & J.A.M. de Bont. 1994. Aryl alcohols in the physiology of ligninolytic fungi. *FEMS Microbiol. Reviews.* 13:153-188.
- Gupte A., S. Gupte and H. Patek. 2007. Ligninolytic enzyme production under solid-state fermentation by white rot fungi. *J. Scient. Industr. Res.* 66:611-614.
- Limura, Y. P. Hartikainen, K. Tatsumi. 1996. Dechlorination of tetrachloroquaiacol by laccase of white rot basidiomycete *Coriolus versicolor*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 45 : 434-439
- Paul EA. 1992. Organic Matter Decomposition. *Encyclopedia of Microbiology*, Vol.3. Academic Press. Inc.
- Pelczar MJ Jr, Chan ECS. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Volume ke-1. Hadioetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL, penerjemah. Jakarta: UI Press. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*.
- Puastuti, W., D. Yulistiani dan Supriyati. 2009. Ransum berbasis kulit buah kakao diperkaya mineral : Tinjauan pada pencernaan dan fermentasi rumen *in vitro*. Prosiding. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 13-14 Agustus 2009. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. Bogor. Hal 442-448.
- Puspita ID. 2007. Aktivitas enzim ligninase isolat *Pleurotus* spp. liar asal Bogor [skripsi]. Bogor: Departemen Silviculture Fakultas Kehutanan IPB.
- Srebotnik, E., K.A. Jensen, and K.E. Hammel. 1998. Cleavage of Nonphenolic Lignin Structure by Laccase in The Presence of 1-Hydroxibenzotriazole.
- Shi J., R.R. Sharma-Shivappa and M.S. Chin. 2009. Microbial pretreatment of cotton stalk by submerged cultivation of *Phanerochaete chrysosporium*. *Bioreour. Technol.* 100:4388-4395.
- Srinivasan, C, T.M.D. Souza, K. Boominathan, and C.A. Reddy. 1995. Demonstration of Laccase in the White Rot Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmental Microbiology*, 61 (2): 4274-4277.
- Tuomelo M., M. Vikman, A. Hatakka and Itavaara M. 2000. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Biosresour. Technol.* 72:169-183.
- Nasrullah dan A. Ella, 1993. Limbah Pertanian dan Prospeknya Sebagai Sumber Pakan Ternak di Sulawesi Selatan. Makalah. Ujung Pandang
- Jager A., S. Croan and T.K. Kirk. 1985. Production of ligninase and degradation of lignin in agitated submerged cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 50:1274-1278.