

Optimalisasi Fermentasi Bungkil Inti Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) oleh Kapang *Trichoderma reesei* (*Optimizing of Palm Kernel Cake Fermentation by Fungi Trichoderma reesei*)

Achmad Jaelani

Staf Pengajar Fakultas Pertanian Universitas Islam Kalimantan Muhammad Arsyad Al Banjary

Abstrak

Penelitian dilakukan untuk mempelajari optimalisasi fermentasi bungkil inti sawit oleh kapang *Trichoderma reesei*. Eksplorasi bungkil inti sawit melalui proses mikrobiologi sekarang ini merupakan salah satu upaya dalam memecahkan masalah produksi limbah pada industri kelapa sawit. Karakteristik pertumbuhan dari *Trichoderma reesei* mengikuti suatu rumus regresi untuk jumlah koloni adalah $Y = 0,0652x + 2,29$ dengan jumlah koloni yang optimum 2.13×10^6 CFU/cc yang mana ditemukan setelah 60 jam. Diameter koloni tertinggi ditemukan setelah 30 jam sebesar 102,89%. Penelitian tentang optimalisasi penggunaan produk fermentasi menggunakan Rancangan Acak Lengkap pola factorial 3x3. faktor pertama adalah ketebalan dari median bungkil inti sawit (1, 2, dan 3 cm) dan faktor kedua dosis penggunaan *Trichoderma reesei* (10^4 , 10^5 , 10^6 CFU/cc). hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara dosis *Trichoderma reesei* dan ketebalan medium terhadap pH, suhu media, dan kandungan protein kasar. Interaksi antara ketebalan medium dan dosis tidak terjadi pada kandungan protein kasar bungkil inti sawit hasil fermentasi.

Kata kunci: Bungkil inti sawit, fermentasi, *Trichoderma reesei*.

ABSTRACT

The research was conducted to study Optimizing of Palm Kernel Cake fermentation by Fungi *Trichoderma reesei*. Exploiting of palm kernel cake (PKC) through by microbiological process is represent one of effort in problems solving of waste product of coconut palm. The growth characterization of *Trichoderma reesei*, followed by the regression equation on the number of colony was $Y = 0,0652x + 2,29$ with optimize number of colony was 2.13×10^6 CFU/cc which obtained was 60 hours. The highest of diameter colony was reached at 30 hours that was 102.89%. The research was about optimize fermentation process using by Completely Randomized Design with 3x3 factorial. The first factor was the thickness of PKC medium (1, 2, and 3 cm) and the second factor was *Trichoderma reesei* doses (10^4 , 10^5 , 10^6 CFU/cc). There was a significantly different ($p < 0.05$) of *Trichoderma reesei* doses and thickness of medium on pH and temperature medium, crude protein, There was no interaction between thickness of medium with *Trichoderma reesei* doses on crude protein content of PKC fermentation.

Key words : Palm kernel cake, Fermentation, *Trichoderma reesei*

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara kedua terbesar setelah Malaysia sebagai penghasil kelapa sawit. Luas areal perkebunan kelapa sawit di Indonesia pada tahun 2003 diproyeksikan sekitar 4.045.012 hektar dengan total produksi *crude palm oil* (CPO) sekitar 7.919.614 ton (Jakarta Future Exchange, 2002).

Bungkil inti sawit (*palm kernel cake/meal*) merupakan hasil ikutan pada proses pemisahan minyak inti sawit yang diperoleh secara kimiawi

(ekstraksi) atau dengan proses fisik (expeller). Adapun rata-rata produksinya sekitar 0,3 – 0,6 ton/ha tanaman/tahun (Sindu, 1999), dengan kandungan protein lebih rendah bila dibandingkan dengan bungkil kedele dan kacang tanah yaitu sekitar 15,73 – 17,19% (Chong *et al.*, 1998).

Sampai sekarang pemanfaatan BIS sebagai pakan ternak masih belum optimal karena beberapa kendala diantaranya palatabilitasnya rendah, defisiensi asam amino methionin, triptophan, sistin dan mineral Zn, Se. Selain itu daya cerna yang rendah akibat tingginya kandungan serat

kasar yaitu berkisar 12,47 – 16,09 % dan sekitar 27% dari bungkil inti sawit tersusun atas hemiselulosa dimana fraksi polisakarida mannan adalah yang terbanyak. Komponen mannan pada bungkil inti sawit merupakan komponen polisakarida dengan formasi linier dan berbentuk kristal yang cukup tinggi karena terdapatnya ikatan β -(1-4) yang sulit untuk didegradasi. Karenanya untuk mampu dimanfaatkan secara optimal, harus mampu memecah ikatan tersebut.

Pada bahan pakan bungkil kelapa sawit, kandungan mannan dan galaktomannan merupakan yang terbesar. Adapun lebih lanjut dikatakan bahwa enzim yang efektif menguraikan komponen ini adalah β -mannanase, α -galaktosidase dan β -xilosidase (Daud and Jarvis, 1993b).

Mannan merupakan polisakarida yang penyerapannya terbatas bagi unggas khususnya ayam pedaging. Agar pemanfaatan BIS sebagai pakan ayam pedaging optimal maka polisakarida mannannya harus didegradasi menjadi monosakarida yang mudah dicerna dan diserap. Salah satu caranya adalah melalui pra-hidrolisa mannan BIS dengan menggunakan mikroba yang benar-benar mampu mendegradasi mannan.

Mikroba pendegradasi polisakarida mannan telah diteliti oleh Chen *et al.*, (1987) dengan menggunakan bakteri *Bacillus* M50 yang ditumbuhkan pada media yang mengandung galaktomannan. Enzim yang dihasilkan mampu menghidrolisa mannan menjadi mannooligosakarida, mannobiosa dan mannosa. Glenn dan Roger (1988) mengisolasi mutan asporogenous kapang *Aspergillus niger* yang mampu menghasilkan enzim yang dapat mendegradasi mannan (mannanase, selulase dan β -glukosidase).

Pemilihan mikroba pendegradasi polisakarida mannan harus didasarkan pada beberapa ketentuan diantaranya tidak toksik, mudah dalam aplikasi, biaya murah, dan produksinya cukup baik. Dari beberapa ketentuan tadi, pemilihan kapang merupakan hal yang tepat karena telah memenuhi ketentuan tadi.

Trichoderma reesei merupakan salah satu kapang yang mampu mendegradasi polisakarida mannan dengan menghasilkan beberapa enzim, salah satunya adalah mannanase yang diperoleh pada substrat kopi (Regalado *et al.*, 1995), *bean gum* (Hagglund *et al.*, 2003), dan *blue mussel* (Xu *et al.*, 2002). Adapun kelebihan dari kapang ini adalah mudah diperoleh serta dalam aplikasinya tidak terlalu sulit (mudah dikembangkan).

Metode

Kapang yang digunakan adalah *Trichoderma reesei* strain FNCC 6012 yang diperoleh dari Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada Yogyakarta, PDA (*potato dextrose agar*) sebagai bahan media pertumbuhan kapang, aquades steril, NH_4NO_3 , KCl, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, CuSO_4 , alkohol 70%, spirtus. Adapun alat-alat yang digunakan adalah autoclave, laminar, cawan petri, tabung reaksi, gelas ukur, aluminium foil, pengaduk, erlenmeyer, timbangan digital, spoit, lampu spirtus, osse, plastik tahan panas, thermometer, higrometer, incubator, alat penghitung, spidol transparan, jangka sorong.

Percobaan Tahap I : Uji Karakteristik Pertumbuhan Kapang *Trichoderma reesei*

Percobaan ini berlangsung selama 2 minggu, menggunakan Analisis regresi (Steel dan Torrie, 1995) dengan umur pertumbuhan kapang sebagai prediktor dan jumlah koloni serta diameter koloni sebagai respon. Adapun umur pertumbuhan kapang yang diamati : 24, 30, 36, 42, 48, 54, 60, dan 72 jam.

Model matematis rancangan penelitian adalah :

$$Y = a_1x_1 + a_2x_2$$

Peubah yang diamati dalam percobaan :

1. Jumlah koloni kapang.

Sebelum melakukan perhitungan koloni terlebih dahulu membuat media Potatoe Dextrose Agar (PDA). Sebanyak 3.9 gram PDA dilarutkan dalam 100 cc air aquades steril kemudian diaduk hingga rata. Larutan tersebut dipanaskan hingga seluruhnya larut. Media PDA tersebut dituangkan pada tabung reaksi sebanyak 3-4 cc yang ditutup kapas kemudian disterilkan pada suhu 121 °C selama 15 menit di dalam autoclave. Setelah dingin pada suhu 45 – 50 °C, medium yang masih cair ditempatkan dalam keadaan miring dengan kemiringan 30° dan media PDA tidak mengenai kapas.

Biakan murni kapang *Trichoderma reesei* ditanam pada media agar miring di dalam laminar, kemudian disimpan pada suhu kamar (28 °C), diinkubasi selama 48 – 72 jam. Setelah 72 jam Inokulum berupa spora ditambahkan aquades steril sebanyak 10 ml per tabung reaksi, kemudian memisahkan spora dengan cara menggores-gores permukaan biakan yang berisi biakan kapang pada agar miring dengan menggunakan pengaduk mika, selanjutnya di vortex agar suspensi spora menjadi homogen dan siap dilakukan perhitungan jumlah koloni. Pada perhitungan jumlah koloni dipersiapkan Media PDA yang sudah steril sama seperti diatas hanya saja tempatnya pada cawan

petri. Sederetan tabung reaksi yang berisi 9.9 ml aquades steril dipersiapkan sebanyak 5 tabung dan diberi label mulai dari pengenceran 10^{-2} sampai 10^{-6} . Masukkan 0.1 ml larutan spora kedalam tabung 10^{-2} , kemudian dari tabung tersebut diambil 0,1 ml untuk dituangkan pada tabung 10^{-3} dan satu lagi dimasukkan dalam cawan petri dan demikian seterusnya. Sebelum pengambilan larutan spora dalam tabung harus dihomogenkan dengan vortex. Simpan cawan petri pada suhu kamar (28°C), diinkubasi selama 48 – 72 jam. Lakukan pengamatan setiap 6 jam untuk perhitungan jumlah koloni.

2. Perubahan diameter koloni kapang.

Persiapan pengukuran diameter koloni kapang hampir sama dengan perhitungan jumlah koloni. Media PDA yang sudah steril ditempatkan dalam cawan petri. Bagian bawah cawan petri dibuat garis vertikal dan horizontal tepat ditengah cawan petri. Hal ini untuk memudahkan dalam pengukuran maupun penempatan spora kapang. Osse yang sudah steril dicelupkan pada larutan spora dan ditusukan pada media PDA tepat dipersilangan garis vertikal dan horizontal. Pengamatan diameter pertumbuhan kapang dilakukan setiap 6 jam.

Persiapan Penelitian :

a. Perbanyakkan Kapang *Trichoderma reesei*

Pertama membuat media agar dari 200 gram kentang, 20 gram gula pasir dan 15 gram agar. Ekstrak kentang sebanyak 1 liter yang telah disaring ditambah gula dan agar (Biotek agar powder) kemudian diaduk hingga rata. Media agar disterilkan dalam autoclave pada suhu 120°C selama 15 menit. Setelah dingin pada suhu $45 - 50^{\circ}\text{C}$, medium yang masih cair dituangkan secara aseptik ke sederetan tabung reaksi untuk pembuatan agar miring dan cawan petri yang sudah steril di dalam laminar masing-masing sebanyak 10 – 15 ml. Biakan murni dari kapang *Trichoderma reesei* ditanam pada media agar di dalam laminar, kemudian disimpan pada suhu kamar (28°C), diinkubasi selama 48 – 72 jam. Biakan pada agar miring, disimpan pada suhu 4°C untuk keperluan selanjutnya.

b. Pembuatan inokulum

Inokulum berupa spora diperoleh dengan cara menambahkan aquades sebanyak 10 ml per tabung reaksi, kemudian memisahkan spora dengan cara menggores-gores permukaan biakan berisi biakan kapang pada agar miring dengan menggunakan kawat osse, selanjutnya di blender

agar suspensi spora menjadi homogen dan akhirnya dilakukan perhitungan jumlah spora dengan menggunakan haemocytometer di bawah mikroskop. Selanjutnya inokulum siap digunakan.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis regresi sehingga diperoleh kurva persamaan regresinya (Steel dan Torrie, 1995).

Percobaan Tahap II : Fermentasi Bungkil Inti Sawit pada Berbagai Dosis Kapang dan Ketebalan Media BIS yang Berbeda

Pada fermentasi ini dicobakan berbagai dosis kapang yang menghasilkan produk fermentasi terbaik. Adapun dosis kapang yang digunakan berkisar antara 10^4 hingga 10^6 spora/100 g substrat. Adapun suhu optimal dari kapang *Trichoderma reesei* dilihat dari pertumbuhan miselium terbaik yakni sekitar $28 - 32^{\circ}\text{C}$.

Inokulum dalam bentuk cair ditanamkan kedalam bungkil inti sawit secara aseptik di dalam laminar, kemudian diaduk sehingga semua inokulum tercampur merata. Substrat yang telah dicampur dengan inokulum selanjutnya disimpan dalam rak kayu. Temperatur incubator diusahakan tetap pada suhu kamar 28°C , sesuai suhu optimum *Trichoderma reesei*. Sampel ditimbang dan diletakan dalam alumunium foil. Selanjutnya dikeringkan dalam oven dengan suhu 50°C selama 36 jam.

Kapang yang digunakan adalah *Trichoderma reesei* strain FNCC 6012 yang diperoleh dari Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada Yogyakarta, Bungkil inti sawit diperoleh dari hasil terbaik pada percobaan I, agar powder, gula pasir, ekstrak tauge, aquades steril, NH_4NO_3 , KCl, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, CuSO_4 , alkohol 70%, spirtus.

Adapun alat-alat yang digunakan adalah autoclave, laminar, cawan petri, tabung reaksi, gelas ukur, alumunium foil, kapas, pengaduk, erlenmeyer, timbangan digital, spoit, lampu spirtus, osse, plastik tahan panas, karet tahan panas, pipet, thermometer, higrometer, nampan plastik, plastik wrapp, kertas koran steril, selotip, spidol, oven

Percobaan Tahap II berlangsung selama 4 minggu, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola Faktorial dengan faktor pertama dosis kapang, dan faktor kedua ketebalan media BIS, dengan ulangan sebanyak 3 kali.

Perlakuan meliputi :

Faktor pertama dosis kapang :

D4 = dosis kapang 10^4 CFU/100g media

D5 = dosis kapang 10^5 CFU/100g media

D6 = dosis kapang 10^6 CFU/100g media

Faktor kedua ketebalan media BIS :

S1 = ketebalan media 1 cm

S2 = ketebalan media 2 cm

S3 = ketebalan media 3 cm

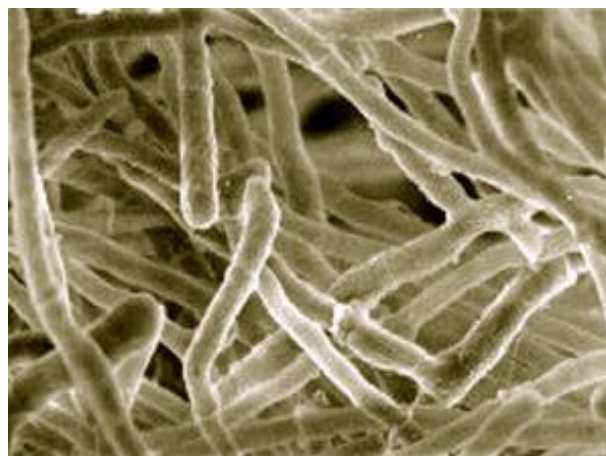
Peubah yang diamati dalam percobaan :

1. Suhu media selama fermentasi. Media BIS yang difermentasi diukur suhunya setiap 24 jam
2. pH media selama fermentasi. Media BIS yang difermentasi pada waktu tertentu diambil kemudian digerus dengan mortar dan ditambahkan aquades dengan perbandingan 1 : 5. pH diukur saat angka tidak berubah lagi.
3. Kandungan Protein Kasar. Diukur dengan menggunakan metoda Kjeldahl (Van Soest *et al.* 1968). Analisis ini menggunakan asam sulfat dengan suatu katalisator dan pemanasan. Zat organik dari sample dioksidasi oleh asam sulfat dan nitrogen diubah kedalam ammonium sulfat. Kelebihan asam sulfat dinetralkan dengan NaOH sampai larutan menjadi basa. Dari ammonium sulfat lalu didestilasi dalam medium asam untuk mendapatkan nitrogen secara kuantitatif. Karena protein rata-rata mengandung 16% Nitrogen, maka $100\% : 16\% = 6.25$ harus dipakai untuk mendapatkan nilai protein kasar (Protein kasar = $N\% \times 6.25$) (AOAC, 1980).

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan sidik ragam dan untuk melihat kecenderungan dari pengaruh masing-masing perlakuan dilakukan uji Berganda Duncan (Steel dan Torrie, 1995).



Gambar 1. Biakan kapang *Trichoderma reesei* FNCC 6041



Gambar 2. Penampang melintang hypha kapang *T. reesei* menggunakan Scanning mikroskop elektron

Tabel 1. Jumlah dan diameter koloni kapang *Trichoderma reesei* selama pertumbuhan

Umur pertumbuhan (jam)	Jumlah koloni (CFU/cc)	Diameter koloni (mm)	Perubahan diameter koloni (%)
24	Belum terlihat	13.58	-
30	2.06×10^5	27.41	102.89
36	2.62×10^5	38.10	39.00
42	3.33×10^5	48.93	28.42
48	1.75×10^6	54.94	12.28
54	2.04×10^6	66.19	20.48
60	2.13×10^6	73.78	11.47
66	2.13×10^6	76.73	4.00
72	2.13×10^6	80.05	4.32

Hasil dan Pembahasan

Uji Pertumbuhan Kapang *Trichoderma reesei*

Kultur murni kapang *Trichoderma reesei* FNCC 6041 diperoleh dari Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi Universitas Gajah Mada Yogyakarta berupa kultur kering dalam tabung vial kecil. Kultur murni ini dibiakan dalam media PDA pada beberapa *petridish*, untuk selanjutnya diperbanyak pada media agar miring.

Untuk mengetahui karakteristik dari kapang *Trichoderma reesei*, dilakukan perhitungan jumlah dan diameter pertumbuhan koloni kapang. Adapun rata-rata jumlah koloni kapang *Trichoderma reesei* diperlihatkan pada Tabel 1.

Diameter pertumbuhan kapang dilakukan pengukuran setiap 6 jam dan dimulai pada 24 jam pertama karena sampai 24 jam pertama belum terlihat pertumbuhan koloni kapang yang berarti (fase adaptasi dan pertumbuhan awal). Menurut Fardiaz (1985) jumlah awal sel yang tinggi akan mempercepat fase adaptasi.

Persentase (%) perubahan diameter koloni kapang paling besar dicapai pada umur pertumbuhan 30 jam. Disini pertumbuhan kapang memasuki fase logaritmik dengan kecepatan pertumbuhan paling tinggi. Jumlah koloni kapang mulai konstan (*fase stationary*), dicapai pada umur 60 jam yakni mencapai jumlah koloni 2.13×10^6 CFU/cc. Demikian pula halnya dengan perubahan diameter koloni kapang, pada umur 60 jam persentase perubahannya sangat kecil.

Berdasarkan hasil pengolahan data pada Tabel 1 tentang jumlah koloni (ditranformasi

dalam log) mengikuti persamaan $Y = 2.29 + 0.0652x$ dimana x sebagai umur pertumbuhan. Untuk diameter koloni kapang dapat diketahui persamaan regresinya adalah $Y = -9.58 + 1.32x$. Adapun persamaan regresi untuk perubahan diameter koloni adalah $Y = 74.6 - 1.03x$.

Pengaruh Dosis Kapang *Trichoderma reesei* dan Ketebalan Media Bungkil Inti Sawit Terhadap Hasil Fermentasi

Pada fermentasi BIS ini dicobakan dosis kapang dan ketebalan substrat BIS untuk memperoleh hasil fermentasi yang optimum. Dosis kapang yang dicobakan dari 2.13×10^4 hingga 2.13×10^6 kolon/cc. Adapun ketebalan media dari mulai dari 1 cm hingga 3 cm.

1. Perubahan pH media selama fermentasi

Pada penelitian ini pH awal media BIS adalah 5,94. Selama fermentasi terjadi perubahan pH. dimana hampir seluruh perlakuan menunjukkan pola yang sama yakni terjadi penurunan pH pada 24 jam umur fermentasi kecuali perlakuan S3D4 dan S1D5 berturut-turut pada 48 jam dan 96 jam waktu fermentasi. Penurunan pH terjadi karena H^+ dilepaskan selama konsumsi NH_4^+ dan terjadinya proses metabolisme NO_3^- serta penggunaan asam amino sebagai sumber karbon (Rahman, 1992). Setelah waktu tersebut terjadi kenaikan pH sampai akhir fermentasi. Adapun pH akhir fermentasi di bawah pH awal kecuali perlakuan S3D4. Terdapat interaksi antara ketebalan media BIS dengan dosis kapang terhadap pH media pada semua umur fermentasi kecuali pada umur 48 jam.

Tabel 2. Rata-rata perubahan pH selama fermentasi BIS oleh *Trichoderma reesei*

Perlakuan	Waktu Fermentasi (jam)					
	0	24	48	72	96	120
S1D4	5.94	5.59	5.59	5.57	5.37	5.38
S1D5	5.94	5.65	5.61	5.49	5.26	5.38
S1D6	5.94	5.72	5.61	5.51	5.41	5.34
S2D4	5.94	5.47	5.49	5.53	5.53	5.48
S2D5	5.94	5.47	5.91	5.49	5.60	5.49
S2D6	5.94	5.66	5.62	5.71	5.69	5.54
S3D4	5.94	5.59	5.48	5.97	5.87	5.97
S3D5	5.94	5.61	5.77	5.80	5.89	5.68
S3D6	5.94	5.75	5.65	5.91	5.85	5.84

Keterangan : S1 = ketebalan substrat 1 cm D4 = dosis kapang $10^4/100g$ substrat
 S2 = ketebalan substrat 2 cm D5 = dosis kapang $10^5/100g$ substrat
 S3 = ketebalan substrat 3 cm D6 = dosis kapang $10^6/100g$ substrat

Secara keseluruhan dari awal hingga akhir fermentasi berkisar antara 5.34 – 5.94. Menurut Fardiaz (1985), kapang dapat tumbuh pada kisaran 3 - 8.5, namun pH optimumnya berkisar antara 5 – 7. Nilai pH untuk pertumbuhan mikroba mempunyai hubungan dengan suhu pertumbuhannya. Jika suhu pertumbuhan naik, maka pH optimum untuk pertumbuhan juga naik (Fardiaz, 1998).

2. Perubahan suhu media selama fermentasi

Berdasarkan Tabel 3 terlihat bahwa perubahan suhu tertinggi pada waktu fermentasi 24 jam dicapai kombinasi perlakuan S2D6 yakni 31.67 °C. Namun suhu tertinggi selama fermentasi terjadi pada 96 jam waktu fermentasi yakni diperoleh pada perlakuan S3D6 yakni mencapai 35.67 °C. Perubahan suhu selama fermentasi seluruh perlakuan menunjukkan pola yang sama yakni terjadi kenaikan suhu hingga pada 72 jam umur fermentasi kecuali perlakuan S3D5 dan S3D6 masing-masing pada 48 jam waktu fermentasi dan 96 jam waktu fermentasi.

Kenaikan suhu media terjadi karena panas metabolisme yang dikeluarkan. Hal ini ditandai dengan terbentuknya air dan merupakan masa kritis dalam kultur media padat sehingga akan menimbulkan masalah teknis tentang cara

pemindahan panas (Rahman, 1992). Setelah waktu tersebut terjadi penurunan suhu sampai akhir fermentasi. Adapun suhu akhir fermentasi berada di atas suhu awal.

Pada perlakuan ketebalan substrat 3 cm ternyata proses fermentasi berjalan cukup lama, hal ini diperlihatkan dengan suhu menunjukkan peningkatan yang cukup lama. Hal ini disebabkan jumlah media yang difermentasi cukup banyak sehingga untuk fermentasi hingga sampai bawah perlu waktu yang agak lama meskipun dosisnya pun lebih tinggi dibanding perlakuan lainnya.

Terdapat interaksi antara ketebalan media BIS terhadap dosis kapang. Semakin tebal media maka untuk fermentasi optimal dibutuhkan dosis kapang yang lebih banyak dan suhu maksimal yang dicapai pada proses fermentasi akan lebih lama. Suhu mempengaruhi efisiensi konversi substrat (karbon-energi) menjadi massa sel. Pada umumnya konversi maksimum terjadi pada suhu yang lebih rendah daripada suhu dimana kecepatan pertumbuhan maksimum. Hal ini penting dalam proses optimasi dimana diinginkan kecepatan pertumbuhan maksimum, bukan pertumbuhan maksimum.

Tabel 3. Rata-rata perubahan suhu selama fermentasi BIS oleh *Trichoderma reesei*

Perlakuan	Waktu fermentasi (jam)					
	0	24	48	72	96	120
S1D4	28.00	29.33	30.17	32.17	30.50	28.67
S1D5	28.00	29.83	31.00	32.83	31.50	29.67
S1D6	28.00	30.00	31.67	32.17	31.67	29.50
S2D4	28.00	29.33	31.00	34.33	33.33	30.67
S2D5	28.00	30.00	32.00	35.00	32.83	31.33
S2D6	28.00	31.67	33.17	34.67	33.00	31.00
S3D4	28.00	30.00	31.67	33.80	34.00	30.17
S3D5	28.00	30.67	35.67	33.50	34.50	31.83
S3D6	28.00	31.50	34.00	34.33	35.67	32.67

Tabel 4. Rataan kandungan protein kasar (%) BISF pada dosis kapang yang berbeda

Tebal media (cm)	Dosis kapang			Rataan
	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	
	%			
1	22.63 ± 0.77	23.16 ± 0.63	23.77 ± 0.67	24.06 ± 0.74 a
2	23.65 ± 0.43	24.25 ± 0.87	25.02 ± 0.13	24.31 ± 0.73 a
3	23.89 ± 0.24	23.95 ± 0.24	24.34 ± 0.44	23.13 ± 0.68 b
Rataan	23.39 ± 1.03 b	23.79 ± 0.47 b	24.37 ± 0.79 a	

Ket : Nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf kecil yang berbeda dalam baris yang sama atau huruf besar yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata (p<0,05)

3. Kandungan Protein BIS Hasil Fermentasi (BISF)

Faktor dosis kapang dan ketebalan substrat berpengaruh nyata terhadap kandungan protein kasar BISF ($p < 0.05$), namun tidak terjadi interaksi antara dosis kapang dan ketebalan media terhadap kandungan protein kasar ($p > 0.05$). Disini terlihat bahwa kandungan protein kasar tertinggi diperoleh pada dosis kapang 10^6 CFU/cc. Hal ini dapat dimaklumi bahwa semakin banyak dosis kapang maka kemungkinan pertumbuhan kapang pada media BIS akan lebih besar.

Dilihat dari ketebalan media terlihat bahwa pada ketebalan media 1 cm dan 2 cm berbeda nyata ($p < 0.05$) dengan ketebalan media 3 cm. Namun antara ketebalan media 1 dan 2 cm tidak menunjukkan adanya perbedaan kandungan protein kasar. Hal ini menunjukkan bahwa kapang *Trichoderma reesei* mampu melakukan fermentasi BIS hingga ketebalan 2 cm.

Pada ketebalan media 2 cm diperoleh kandungan protein kasar tertinggi (24.31%). Pada ketebalan media 3 cm, kapang tidak dapat menjangkau bagian bawah sehingga tidak seluruhnya dapat dirombak dengan sempurna.

Pada beberapa literature dinyatakan bahwa kandungan protein kasar BIS berkisar 14.5 - 16.5% (Daud *et al.* 1993). Apabila kita bandingkan dengan protein kasar BISF pada Tabel 6 yang berkisar 23.39 – 24.37%, terjadi peningkatan yang cukup berarti. Inilah sebetulnya yang diharapkan setiap proses pengolahan pakan.

Kesimpulan

Karakteristik kapang *Trichoderma reesei* memiliki pertumbuhan koloni dan diameter kapang tercepat setelah 24 jam pertama dan memasuki fase *stationary* pada umur pertumbuhan 60 jam dengan jumlah koloni 2.13×10^6 CFU/cc, diameter koloni tertinggi dicapai pada umur 30 jam dengan persentase perubahan diameter koloni mencapai 102,89%. Jumlah koloni (ditransformasi dalam log) mengikuti persamaan $Y = 2,29 + 0,0652x$. Untuk diameter koloni kapang dapat diketahui persamaan regresinya adalah $Y = -9,58 + 1,32x$. Adapun persamaan regresi untuk perubahan diameter koloni adalah $Y = 74,6 - 1,03x$. Fermentasi BIS oleh Kapang *Trichoderma reesei* dapat menghasilkan protein kasar yang optimum pada dosis kapang 10^6 CFU/cc dan ketebalan media BIS 2 cm

Daftar Pustaka

A.O.A.C. 1980. Methods of Analysis. 13th Ed. Association of Official Agricultural Chemist. Washington D.C.

- Chen, Y., J. Long, L. Liao, Y. Zhang, J. Yang. 2000. Study on the production of beta-mannanase by *Bacillus M50*. *Wei Sheng Wu Xue Bao*; 40(1):62-8
- Chong, C.H, R. Blair, I. Zulkifli and Z.A. Jelan. 1998. Physical and chemical characteristics of Malaysian palm kernel cake (PKC). *Proc. 20th MSAP Conf.* 27-28 July. Putrajaya, Malaysia
- Daud, M.J., M.C. Jarvis and A. Rasidah. 1993a. Fibre of PKC and its potential as poultry feed. *Proceeding. 16th MSAP Annual. Conference*, Kuala Lumpur, Malaysia
- Daud, M.J., and M.C. Jarvis 1993b. Effect of driselase on the nutritive value of PKC for poultry diets. *Proceeding. 16th MSAP Annual. Conference*, Kuala Lumpur, Malaysia
- Fardiaz, S. 1985. Fisiologi Fermentasi. Pusat antar Universitas berkerjasama dengan Lembaga Swadaya Informasi IPB, Bogor
- Glenn, R.D and P.L. Roger. 1988. A Solid substrate fermentation process for an animal feed product studies of fungal strain improvement. *Aust. J. Biotechnol.* 2:50-57
- Hagglund P, Eriksson T, Collen A, Nerinckx W, Claeysens M, Stalbrand H. 2003. Cellulose-binding module of the *Trichoderma reesei* beta-mannanase Man5A increases the mannan-hydrolysis of complex substrates. *Jour Biotechnol* 27(1):37-48.
- Jakarta Future Exchange. 2002. Perkembangan produksi minyak goreng sawit di Indonesia. www.bbj-ix.com
- Rahman, A. 1992. Teknologi Fermentasi. Penerbit Arcan, Jakarta
- Regalado, C., L.M. Barrera, G.B.E. Almendárez; S. Huerta-Ochoa; G. López. 1995. Production and properties of β -mannanase by solid substrate fermentation of soluble coffee industry wastes using *Trichoderma reesei* IMI 192656. Dpt. Of Food Research And Postgraduate Studies, Facultad De Química, Universidad Autónoma De Querétaro., C.U. Cerro De Las Campanas., Querétaro, Qro. 76010., Mexico
- S.A.S. Institute, 1997. Statistics in RAY. 5th Ed. SAS® Users Guide. Cary, NC, SAS Institute, Inc., United State
- Sindu, A. 1999. Pemanfaatan limbah kelapa sawit sebagai pakan ternak. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*. Vol. 1, No. 3 hal. 82-86.
- Steel RGD, and Torrie JH. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika : Suatu Pendekatan Biometrik*. Penerjemah Bambang S. Edisi ke-2. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Van Soest, P.J. and J.B. Robertson. 1968. System of analysis for evaluating fibrous feeds. In: *Standarization of Analytical Methodology for*

Feed. W.J. Pigdem, C.C. Balch dan M. Graham
(eds). IDRC
Xu BV, Häggglund P, Stålbrand H, and Janson JC.
2002. Endo-beta-1,4-Mannanases from blue

mussel, *Mytilus edulis*: purification,
characterization, and mode of action. *Jour*
Biotechnol 92:267-277.