

## AKTIVITAS ENZIM SELULASE DAN MANANASE BUNGKIL INTI SAWIT YANG DIFERMENTASI DENGAN KOKTAIL MIKROBA

Tiurma Pasaribu dan Arnold Parlindungan Sinurat

Balai Penelitian Ternak, Ciawi Bogor

e-mail: pasaributiurma@yahoo.com

### ABSTRAK

Enzim selulase dan mananase dapat berperan menurunkan hemiselulosa dan serat kasar pada bungkil inti sawit terfermentasi, sehingga bungkil inti sawit terfermentasi diharapkan menjadi bahan pakan alternative untuk unggas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi aktivitas enzim selulase dan mananase pada bungkil inti sawit yang difermentasi dengan inokulan koktail mikroba. Metode fermentasi yang dilakukan adalah dengan mencampurkan bungkil inti sawit yang sudah steril dengan koktail mikroba (1:1) kemudian diaduk hingga homogen dan diinkubasi dalam tray plastik selama 7 hari pada suhu  $\pm 30^{\circ}\text{C}$ . Parameter yang diukur adalah aktivitas enzim selulase dan mananase setelah inkubasi 7 hari. Rancangan penelitian dilakukan dengan Rancangan Uji T, masing-masing terdiri dari 3 ulangan. Hasil menunjukkan bahwa fermentasi bungkil inti sawit dengan menggunakan koktail mikroba dapat meningkatkan enzim selulase (0,025 menjadi 0,468  $\mu\text{/ml}$ ) dan mananase (0,027 menjadi 9,084  $\mu\text{/ml}$ ). Disimpulkan bahwa koktail mikroba dapat meningkatkan aktivitas selulase dan mananase dalam bungkil inti sawit terfermentasi yang berperan menurunkan kadar serat kasar, dengan demikian bungkil inti sawit terfermentasi menjadi salah satu bahan pakan alternatif pada unggas.

**Kata Kunci:** bungkil inti sawit, fermentasi, koktail mikroba, mananase, selulase.

### ABSTRACT

*Cellulase and mannanase enzymes can play a role in reducing hemicellulose and crude fiber on fermented palm kernel cake, so that fermented palm kernel cake is expected to be an alternative feed material for poultry. The purpose of this study was to evaluate the activity of cellulase and mannanase enzymes in palm kernel cake fermented with microbial cocktail inoculants. The fermentation method is carried out by mixing sterile palm kernel cake with the microbial cocktail (1: 1) then stirring until homogeneous and incubated in a plastic tray for 7 days at  $\pm 30^{\circ}\text{C}$ . The parameters measured were dry matter loss measured at incubation 3.5, and 7 days and cellulase and mannanase enzyme activity tests were measured after 7 days incubation. The study design was carried out with a T-Test Design, each of them consisted of 3 replications. The results showed that palm kernel cake fermentation using microbial cocktails could increase cellulase (0.025 to 0.468  $\mu\text{/ml}$ ) enzymes and mannanase (0.027 to 9.084  $\mu\text{/ml}$ ) enzymes. It was concluded that microbial cocktails can increase cellulase and mannanase activity in fermented palm kernel cake which has a role in reducing levels of crude fiber. Thus the palm kernel cake is fermented into one of the alternative feed ingredients in poultry.*

**Keywords:** cellulase, fermentation, mannanase, microbial cocktail, palm kernel cake.

## 1. PENDAHULUAN

Melimpahnya produksi bungkil inti sawit di Indonesia memberi peluang sebagai bahan pakan ternak ruminant dan unggas, Pasaribu (2018) melaporkan tahun 2017 jumlahnya sekitar 3,2 juta ton. Bungkil inti sawit (BIS) adalah hasil samping dari produksi CPO (crude palm oil) diperoleh secara ekstraksi atau dengan proses fisik (expeller). Kadar protein yang tinggi (15,73-17,19%) (Mathius *et al.*, 2005) pada BIS memberi

peluang sebagai bahan pakan alternative pada ayam, tapi serat yang tinggi menjadi salah satu kendalanya. Untuk memperbaiki nilai nutrisi bungkil inti sawit tersebut kadar serat kasar diturunkan.

Manan dan galaktomanan merupakan kandungan paling dominan dalam bungkil inti sawit. Oleh karena itu perlu diolah untuk mendegradasi serat kasar tersebut, misalnya dengan teknologi fermentasi. Manan, galaktomanan, glukomanan (kelompok NSPs) merupakan komponen karbohidrat utama dalam BIS yang merupakan kendala pemanfaatan BIS untuk bahan pakan unggas. Selain difermentasi, cara lain untuk menurunkan komponen tersebut adalah dengan cara menambahkan enzim dalam ransum yang mengandung BIS.

Pada ruminansia bungkil inti sawit bisa diberikan langsung hingga 50% (Widiawati dan Bamualim 2014), pada ayam pedaging hingga 5% tanpa mengganggu performan (Ketaren *et al.*, 1999). Namun bila pemberian bungkil inti sawit ditambahkan enzim BS4 maka jumlah BIS bisa ditingkatkan hingga 20% pada ayam petelur (Sinurat *et al.*, 2016). Sundu (2005) melaporkan aktivitas enzim efektif untuk meningkatkan nilai nutrisi bungkil inti sawit.

Fermentasi merupakan proses pemecahan senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana yang melibatkan kapang atau bakteri. Selama proses fermentasi mananase memecah manan dan galaktomanan menjadi manosa dan galaktosa (McCleary dan Matheson, 1986). Haryati *et al* (1995) melaporkan *Eupenicillium javanicum* dan *Aspergillus niger* dapat meningkatkan aktivitas mananase pada media bungkil inti sawit, yaitu sekitar (20,65 U/ml) (Mirnawati 2012). Selain *A. niger* penggunaan mikroba lain seperti *Bacillus amyloliquifacien* dan *Trichoderma harzianum* atau koktail mikroba bisa dimanfaatkan untuk meningkatkan aktivitas mananase dan selulosa pada bungkil inti sawit.

Koktail mikroba adalah campuran beberapa mikroba yang diramu menjadi satu (Schwan 1998), dalam penelitian ini yang dicampur adalah *Bacillus amyloliquifacien* dan *Trichoderma harzianum*. Penggabungan dua mikroba ini didasarkan atas peran enzim Ekso-beta-glukanase dari *Bacillus amyloliquifaciens* yang memotong rantai luar polisakarida dan enzim Endo-beta-glukanase pada *Trichoderma harzianum* yang memotong rantai dalam polisakarida (Wizna *et al.*, 2005). Diharapkan teknologi fermentasi dengan menggunakan koktail mikroba memiliki aktivitas enzim mananase dan selulase yang dapat meningkatkan nilai nutrisi bungkil inti sawit. Sehingga produknya dapat dimanfaatkan sebagai bahan pakan alternatif pada unggas. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas enzim mananase dan selulase bungkil inti sawit yang difermentasi dengan menggunakan koktail mikroba (kombinasi antara *Bacillus amyloliquifaciens* dan *Trichoderma harzianum*).

## 2. MATERI DAN METODE

Bungkil inti sawit (BIS) diperoleh dari Bengkulu. Biakan *Bacillus amyloliquefaciens* diperoleh dari kultur pemurnian Wizna *et al.*, (2005), kemudian diperbanyak dengan metode Kompiang (komunikasi pribadi). Dalam penelitian ini mengandung CFU  $18,7 \times 10^{16}$ . Biakan siap pakai *Trichoderma harzianum* diperoleh dari Balitnak dengan CFU  $3,3 \times 10^2$ .

### 2.1. Perbanyak *B. amyloliquefaciens*

Bahan yang digunakan dalam perbanyak *Bacillus amyloliquefaciens* adalah media nutrisi agar, media cair Paul Marjonoff (PM) yang terdiri dari : {(MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 2%, ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,01%, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, *trace elements* (FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; MnSO<sub>4</sub>.4H<sub>2</sub>O; ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>; CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O; CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O), buffer fosfat pH 7,2, *yeast extract* 0,05%, dan bactopecton 0,075%)}. Perbanyak *Bacillus amyloliquefaciens* dilakukan menurut Kompiang (Komunikasi pribadi). Biakan *Bacillus amyloliquefaciens* ditanam pada media nutrisi agar dalam Petri Dish, kemudian diinkubasi selama 2 hari. Setelah dua hari biakan *Bacillus amyloliquefaciens* diambil 2 plate ditanam ke dalam media cair Paul Marjonoff (PM) 1 liter, kemudian diinkubasi selama 3 hari dalam fermentor. Selama inkubasi dipasang aerator supaya pertumbuhan bakteri dalam cairan tetap homogen. Pada hari kedua media PM ditambahkan 100 gram gula pasir dan 10 gram garam halus per liter, dan inkubasi dilanjutkan hingga 3 hari. Adanya pertumbuhan ditandai dengan berubahnya warna media dari coklat bening menjadi coklat keruh. Setelah 3 hari *B. amyloliquefaciens* siap untuk digunakan dan ditanam ke substrat bungkil inti sawit padat.

### 2.2. Fermentasi

Koktail mikroba dilakukan dengan mencampurkan BIS dengan *Bacillus amyloliquefaciens* dan *Trichoderma harzianum* (2:1:1), kemudian diaduk sampai rata dan diinkubasi dalam tray plastik selama 7 hari. Setelah 7 hari, dilakukan uji aktivitas enzim selulase, dan mananase.

### 2.3. Uji aktivitas mananase dan selulase

Metode uji aktivitas mananase dilakukan menurut prosedur Purwadaria *et al.*, (1994), substrat yang digunakan adalah locus bean (manan) 0,5%. Pengukuran aktivitas selulase ditentukan dari nilai aktivitas CMC-ase (Haggett *et al.*, 1979), dengan substrat yang digunakan larutan CMC 1,0%. Penentuan kedua enzim tersebut dilakukan pada pH 5,8 dengan suhu 40°C selama 30 menit. Nilai satu unit aktivitas enzim adalah enzim yang dapat memproduksi satu  $\mu\text{mol}$  manosa dalam satu menit untuk mananase. Sedangkan satu unit aktivitas selulase adalah enzim yang dapat memproduksi satu  $\mu\text{mol}$  glukosa dalam satu menit.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1. Aktivitas Selulase dan Mananase Setelah Fermentasi oleh Koktail Mikroba

Pada fermentasi 7 hari aktivitas mananase menunjukkan aktivitas lebih tinggi (9,084BK ( $\mu\text{ml}$ )) dibandingkan selulase (0,468 BK ( $\mu\text{ml}$ )) (Tabel 1), hal ini mengindikasikan kondisi pada

saat inkubasi pertumbuhan koktail mikroba lebih sesuai untuk memproduksi enzim mananase dibandingkan selulase. Hal ini didukung oleh kandungan serat kasar bungkil inti sawit yang lebih dominan adalah manan. Sehingga koktail mikroba lebih efektif mendegradasi manan dibandingkan selulosa dalam bungkil inti sawit. Hal ini sejalan dengan data aktivitas enzim pada fermentasi ketela (Okolie & Ugochukwu, 1988; Purwadaria *et al.*, 1997). Seperti diketahui sel bakteri dapat merubah pola enzim dimana enzim beradaptasi dengan lingkungannya yang spesipik. Todar (2008) melaporkan konsentrasi enzim dari sel bakteri tergantung dari keberadaan substrat. Pada prinsipnya enzim selalu diproduksi secara bebas oleh sel mikroba tergantung dari komposisi medium dimana mereka bertumbuh. Jadi secara umum enzim bekerja selama terjadinya proses glikolisis dan siklus asam sitrat/siklus Krebs (TCA cycle). Enzim selalu diproduksi oleh mikroba baik dalam konsentrasi tinggi atau rendah setiap saat.

Tabel 1. Aktivitas selulase dan mananase sebelum dan sesudah fermentasi bungkil inti sawit dengan koktail mikroba.

Fermentasi	Sebelum Fermentasi BK ( $\mu$ /ml)	Sesudah Fermentasi BK ( $\mu$ /ml)
Aktivitas Selulase	0,025	0,468
Aktivitas Mananase	0,027	9,084

Manan adalah salah satu bentuk dari polisakarida (komponen dari hemiselulosa) tanaman yang merupakan polimer dari gula manosa (Fengel dan Wegener, 1995). Manan dihidrolisa menjadi mannosa maupun manno-oligosakarida yang berfungsi sebagai prebiotik oleh enzim endo  $\beta$ -mannanase (1,4- $\beta$ -D-mannan mannanohydrolase [EC 3.2.1.78]) dan exo $\beta$ -manosidase ( $\beta$ -D-mannanopyranoside hydrolase [EC 3.2.1.25]) (Puls & Scuseill, 1993). Manan yang berperan sebagai prebiotik dapat dimanfaatkan koktail mikroba untuk pertumbuhannya, dengan demikian koktail mikroba memproduksi enzim mananase lebih tinggi dari enzim selulase. Tingginya produksi enzim mananase berpengaruh terhadap aktivitas mananase.

Koktail mikroba juga memproduksi enzim protease yang mendegradasi protein bungkil inti sawit selama proses fermentasi, sehingga dapat meningkatkan kadar protein (32,4%) secara persentatif setelah difermentasi (Pasaribu *et al.*, 2018). Enzim selulase dan mananase yang diproduksi oleh koktail mikroba dapat berperan menurunkan NDF (serat deterjen netral) 10,5% dan hemiselulosa (49,7%) (Pasaribu *et al.*, 2018).

Menurunnya kadar NDF (serat deterjen netral) dan hemiselulosa merupakan hasil hidrolisis dari enzim selulase dan mananase yang diproduksi koktail mikroba. Purwadaria *et al.*, (1998) melaporkan, lumpur sawit yang difermentasi dengan *A. niger* ES1, antara enzim mananase dengan hemiselulosa nyata mempunyai korelasi. Penguraian hemiselulosa pada bungkil inti sawit lebih ditekankan pada enzim mananase, karena bungkil inti sawit dominan mengandung komponen manan. Dengan demikian bungkil inti sawit terfermentasi oleh koktail mikroba meningkatkan kualitas nutrisi BIS sehingga bisa digunakan sebagai bahan pakan alternatif pada unggas. Dapat

disimpulkan selama proses fermentasi pada bungkil inti sawit, koktail mikroba dapat meningkatkan aktivitas enzim mananase dan selulase.

#### 4. KESIMPULAN

Fermentasi bungkil inti sawit selama 7 hari dengan menggunakan koktail mikroba dapat meningkatkan aktivitas selulase hingga 94,5% dan mananase hingga 99,7%. Berdasarkan data tersebut, bungkil inti sawit terfermentasi oleh koktail mikroba punya potensi sebagai bahan pakan alternatif pada unggas.

#### 5. DAFTAR PUSTAKA

- Fengel, D., dan G. Wegener. 1995. *Kayu : Kimia, Ultrastruktur, Reaksi-reaksi*. Diterjemahkan oleh Hardjono Sastrohamidjoyo. Cetakan I, Gajah Mada University Press, Yogyakarta. Hal. 124-154.
- Haggett, K.D., P.P. Gray and N.W. Dunn. 1979. Crystalline cellulose degradation by a strain of *Cellulomonas* and its mutants derivatives. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*. 8:183-190.
- Ketaren, P. P., A. P. Sinurat, D. Zainuddin, T. Purwadaria, and I. P. Kompiang. 1999. Fermented and unfermented palm kernel cake as broiler chicken feed. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 4(2): 107-112.
- Mathius I.W., A.P. Sinurat, B.P. Manurung, D.M Sitompul dan Azmi. 2005. Pemanfaatan produk fermentasi lumpur bungkil Sebagai Bahan Pakan Sapi Potong. Dalam: Mathius IW, Bahri S, Tarmudji, Prasetyo LH, Triwulanningsih E, Tiesnamurti B, Sendow I, Suhardono, penyunting. Inovasi teknologi peternakan untuk meningkatkan kesejahteraan masyarakat dalam mewujudkan kemandirian dan ketahanan pangan nasional. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 12-13 September 2005. Bogor (Indonesia): Puslitbangnak. Hal. 153-161.
- McCleary B.V. and N.K. Matheson. 1986. Enzymatic analysis of polysaccharide structure. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*. 44:147-487.
- Mirawati, A. Djulardi, Y. Marlida. 2013. Improving the quality of palm kernel cake through fermentation by *Eupenicillium javanicum* as poultry ration. *Pakistan Journal of Nutrition*. 12:1085-1088.
- Okolie P.N., and E.N. Ugochukwu. 1988. Change in activities of cell wall degrading enzymes during fermentation of cassava (*Manihot esculenta* Crants.) with *Citrobacter freundii*. *Journal of Science Food Agriculture*. 44:51-61.
- Pasaribu T, E.B. Laconi and I.P. Kompiang. 2018. Evaluation of the nutrient contents of palm kernel cake fermented by microbial cocktails as a potential feedstuff for poultry. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*. 44(3):295-302.
- Puls J, and J. Scuseill. 1993. *In hemicelluloses and hemicellulases*. Coughlan, M.P. and Hazlewood, G. P., eds. Portland. Press, New York: p. 1-27.

- Purwadaria T, T. Haryati, dan J. Darma.*1994.Isolasi dan seleksi kapang mesofilik penghasil mananase. *Ilmu dan Peternakan.* 2:26-29.
- Purwadaria T, T. Haryati, A.P. Sinurat, I.P. Kompiang, Supriyati, dan J. Darma.* 1997. The correlation between amylase and cellulose activities with starch and fiber contents on the fermentation of cassapro (cassava protein) with *Aspergillus niger*. Proceedings of Indonesian Biotechnology Conference, Jakarta, Juni, 17-19, 1997. Hal.379-390.
- Purwadaria T., A.P. Sinurat, T. Haryati, I. Sutikno, Supriyati dan J. Darma.* 1998. Korelasi antara aktivitas enzim mananase dan selulase terhadap kadar serat lumpur sawit hasil fermentasi dengan *Aspergillus niger*. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner.* 3(4):230-236.
- Schwan R.F.* 1998. Cocoa Fermentations Conducted with a Defined Microbial Cocktail Inoculum. *Applied Environmental Microbiolology.* 64(4): 1477–1483.
- Sinurat AP, T. Purwadaria dan T. Haryati.* 2016. Pengujian efektifitas enzim BS4 terhadap performan ayam petelur yang diberi jenis bahan pakan yang berbeda. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner.* 21(1): 1-8.
- Sundu B, Kumar A, Dingle J.* 2005. Response of birds fed increasing levels of palm kernel meal supplemented with enzymes. In : Proceedings of the 17th Australian Poultry Science Symposium; February 7–9, 2005; Sydney, New South Wales, Australia. 17:p. 227–228.
- Todar K.* 2008. <http://www.textbookofbacteriology.net/regulation.html>. Diakses Tanggal 10 Februari 2020.
- Widiawati Y, dan A. Bamualim.* 2014. Penggunaan Bungkil Inti Sawit dalam Konsentrat Sapi Perah sampai Taraf 30% terhadap Produksi Susu. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. 2014: 111-117.
- Wizna H. Abbas, A. Rizal, I.P. Kompiang, and J. Dharma.* 2005. The potential of cellulolytic bacteria *Bacillus sp.* From forest litter in improving the quality of cassava waste as feed and its applications toward improving the productivity of poultry. HB XII Project research report. Faculty of Animal Husbandry. Andalas University. Padang.