

Makalah I

Isolasi, Identifikasi, Dinamika dan Skrining Pertumbuhan Fungi dari Biokonversi *Palm Kernel Meal*

Dwi Pangestu

dwi_pang@yahoo.com

ABSTRACT

Bioconversion research on microbiology aspects presented, consist of global assessment regrouping isolation, identification, dynamics, and growth screening fungi appeared during the fermentation process of Palm Kernel Meal. The researchworks were carried out from April to October 2009. The aims was to point out the indigenous fungi presented on *Palm Kernel Meal* which potentially involved in the biodegradation of this organic by-product. The isolation technic used spread methods based on 3 types of media (Czapek Dox Agar-CDA, Malt Extract Agar-MEA, and Potato Dextrose Agar-PDA). The selective media, Mimura agar-MA, was used for fungi growth screening. Fifteen isolates have been obtained were regrouped into 4 genera (*Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Geotrichum*). Based on 7 days period of fermentation processing, *Mucor* had the highest frequency distribution and *Geotrichum* had the highest quantity. *Mucor racemosus* had the most wide diameter colony on Mimura agar-MA (9 cm) comparing to the other isolates.

Key words : Bioconversion, fermentation, fungi dynamics, growth screening, isolation, identification, palm kernel meal.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara terbesar di dunia dalam industri minyak kelapa sawit. *Foreign Agricultural Service* (2008) melaporkan bahwa Indonesia telah mengekspor minyak kelapa sawit sekitar 14,6 juta ton melampaui ekspor negara Malaysia. Peningkatan jumlah produksi kelapa

sawit tersebut dilakukan seiring meningkatnya kebutuhan minyak kelapa sawit dunia. Besarnya potensi komoditi minyak sawit membuat pemerintah Indonesia melakukan peningkatan areal lahan perkebunan kelapa sawit untuk mendukung perdagangan kelapa sawit dunia. Departemen Perindustrian (2007) menyatakan luas perkebunan sawit Indonesia pada tahun 2004 sekitar 4.251.700 hektar. Luas lahan kelapa sawit Indonesia tersebut telah menghasilkan 1 juta ton PKM.

Tabel I.1. Produksi kelapa sawit dunia (ton) (*Foreign Agricultural Service / USDA Office of Global Analysis, 2008*).

Negara	2004/05	2005/06	2006/07	2007/08	2008/09	2008/09
Indonesia	9,631	11,696	11,450	13,505	14,800	14,600
Malaysia	12,684	12,931	12,900	14,266	14,360	14,260

Palm Kernel Meal (PKM) merupakan limbah dalam proses ekstraksi minyak inti kelapa sawit (Ng, 2003). Menurut Perez (1997), *Palm Kernel Meal* (PKM) mengandung bahan yang kaya akan arginin, leusin, dan sistein. Sinurat (2003) melaporkan bahwa proses biokonversi lumpur (*sludge*) kelapa sawit dapat meningkatkan kadar protein, asam amino dan menurunkan kadar serat lumpur (*sludge*) kelapa sawit.

Palm Kernel Meal (PKM) merupakan salah satu limbah dalam industri kelapa sawit. Akubuo & Eje (2002) melaporkan bahwa proses pemerasan mekanis menghasilkan *Palm Kernel Oil* (PKO) dan *Palm Kernel Meal* (PKM). Hem *et al.*, (2008), memanfaatkan *Palm Kernel Meal* (PKM) melalui proses

biokonversi untuk pertumbuhan maggot *Hermetia illucens* L. sebagai pakan alternatif alami ikan dalam industri akuakultur.

Biokonversi PKM merupakan suatu proses degradasi susunan makromolekul PKM seperti selulosa, lignin, dan hemiselulosa sehingga menghasilkan senyawa yang lebih sederhana dan dapat dimanfaatkan oleh organisme lain seperti maggot *Hermetia illucens* L (Gandjar *et al.*, 2006; Hem *et al.*, 2008). Fungi adalah kelompok mikroorganisme yang berperan besar dalam proses degradasi susunan makromolekul PKM. Fungi menggunakan enzim selulolitik, lignolitik, dan hemiselulolitik dalam mendegradasi substrat *Palm Kernel Meal*.

Penelitian ini bertujuan mengisolasi, mengidentifikasi, mengetahui dinamika fungi selama 7 hari biokonversi PKM, dan uji skrining pertumbuhan fungi.

LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium *Institut de recherche pour le developpement* (IRD), Balai Riset Budidaya Ikan Hias Departemen Kelautan dan Perikanan, Jl. Perikanan No. 13 Pancoran Mas, Depok dan di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, pada bulan April-Oktober 2009.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *potato dextrose agar* (PDA), tetrasiklin (Sigma), asam sulfat dan natrium hidroksida (Sigma), laktofenol, *metyl Blue*, *metyl Red*, aquades steril dan etanol teknis. Substrat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Palm Kernel Meal* (PKM) asal Lampung.

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah wadah plastik berbentuk persegi panjang berukuran 28 x 20 x 20 cm, penggiling tepung, mikroskop, Erlenmeyer 250 ml dan 500 ml [Iwaki, pyrex], Timbangan analitik, pH meter [Thermo], *vortex* [Bio-Rad], *hot plate* dan *magnetic stirrer* [Ika[®] RH-KT/C], *microwave oven* [General Electric], transfer box, kamera digital [Nikkon], *deep freezer* -80° C [Angelantoni Scientifica], autoklaf [Mediclav 2000 AS], mesin pembuat es [Hoshizaki & NordCap], alat analisis proksimat (Buchi 321 dan Velp Scientifica DK), oven [Bicasa Termostatica], lemari pendingin [LG & Toshiba].

Cara Kerja

Biokonversi *Palm Kernel Meal* (PKM) (Hem *et al.*, 2008)

Sebelum digunakan sebagai substrat, PKM sebagai limbah padat inti kelapa sawit dicuci terlebih dahulu dengan air kran. Substrat PKM digiling hingga halus menggunakan gilingan beras, setelah itu disaring dengan saringan ukuran 48 mesh. Campuran PKM dan aquades steril (1:2) dimasukkan ke dalam kotak plastik berbentuk persegi, berukuran panjang 28 cm, lebar 20 cm, tinggi 20 cm, dengan perbandingan 1 : 2. Campuran PKM diaduk hingga homogen, selanjutnya ditutup dengan kain strimin dan penutup plastik yang sudah diberi lubang. Wadah yang berisi PKM diletakkan pada rak besi dengan posisi berjajar. Rak besi yang berisi wadah PKM diletakkan pada ruang penyimpanan tertutup. Biokonversi dilakukan secara alami selama 7 hari. Selama biokonversi berlangsung dilakukan pengukuran suhu, pH dan Rh substrat serta suhu dan Rh ruang setiap hari. Pengambilan sampel untuk isolasi kapang dilakukan setiap hari sebanyak 1 g secara acak.

Isolasi fungi

Sampel PKM sebanyak 1 g diambil dari wadah biokonversi untuk dilakukan isolasi fungi. Sampel PKM hasil biokonversi dimasukkan ke dalam akuades steril untuk dilakukan pengenceran hingga 10^{-5} . Selanjutnya, 100 μ l dari pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} dengan spatel *dryga/sky* diratakan di permukaan cawan petri yang berisi PDA dan tetrasiklin, diinkubasi pada suhu

27--30 °C selama 3—5 hari. Pengamatan dilakukan setiap hari. Koloni representatif yang tumbuh dipindahkan ke dalam cawan petri berisi medium PDA baru sampai diperoleh biakan murni.

Pembuatan *original*, *stock*, dan *working culture*

Original culture dibuat dengan memindahkan koloni tunggal hasil pemurnian ke dalam medium PDA miring. *Original culture* selanjutnya dibuat *stock* dan *working culture*, *stock culture* disimpan pada suhu 10 °C sedangkan *working culture* disimpan pada suhu 27--30 °C.

Identifikasi fungi

Biakan murni fungi ditumbuhkan selama 3--5 hari dengan suhu 27--30°C pada medium PDA, MEA dan CDA dalam cawan petri. Pengamatan makroskopik meliputi permukaan koloni, warna koloni, warna sebalik koloni, garis radial, lingkaran konsentris, dan tetes eksudat. Pengamatan mikroskopik dilakukan dengan pembuatan preparat menggunakan laktofenol dan diamati di bawah mikroskop untuk melihat ada atau tidaknya septum hifa. Hifa berpigmentasi hialin atau gelap. Hifa berbentuk spiral/bernodul/ mempunyai rhizoid. Spora seksual/aseksual, bentuk, ukuran, jumlah dan pengaturan letak spora. Identifikasi dilakukan menggunakan kunci identifikasi: Domsch *et al.*, (1980), Gandjar *et al.*, (1999) dan Klich (2002).

Dinamika fungsi pada biokonversi *Palm Kernel Meal* (Rochima, 2005)

Dinamika fungsi selama biokonversi PKM diamati melalui perubahan keberadaan (ada atau tidaknya fungsi), kelimpahan (jumlah) dan keberagaman jenis fungsi setiap hari selama proses biokonversi PKM. Setiap hari selama 7 hari biokonversi PKM, dicatat perubahan keberadaan dan keberagaman fungsi yang ditumbuhkan pada medium PDA, dicatat pula suhu, kelembapan dan pH substrat.

Pembuatan medium selektif Mimura (Suyanto, 2001).

Medium selektif tersusun atas 2 lapisan. Lapisan bagian bawah cawan petri adalah medium tanpa penambahan serbuk *Palm Kernel Meal*, sedangkan pada medium di atas lapisan tersebut ditambahkan serbuk *Palm Kernel Meal*. Komposisi medium selektif terdiri dari serbuk *Palm Kernel Meal* 40 g; agar (Difco) 17,5 g; NH_4NO_3 (Merck), 5 g; tetrasiklin 0,5 mg; larutan mineral 200 ml, dan H_2O 1 L dengan pH 5.

Komposisi larutan mineral : $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Merck) 25 g; KCl (Merck) 3 g; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck) 1,85 g; KH_2PO_4 (Merck) 0,25 g; Na_2EDTA (Merck) 0,15 g; $(\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_2$ (Merck) 0,25 g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Merck) 19,50 mg; Larutan *trace metal* 10 ml dan H_2O 1 liter.

Komposisi larutan *trace metal* terdiri dari : H_3BO_3 (Merck) 17,13 g; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Merck) 2,16 g; ZnCl_2 (Merck) 0,16 g; Na_2MoO_4 (Merck) 0,65 g; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Merck) 1,50 mg; $\text{COCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Merck) 6 mg; H_2O 1 liter.

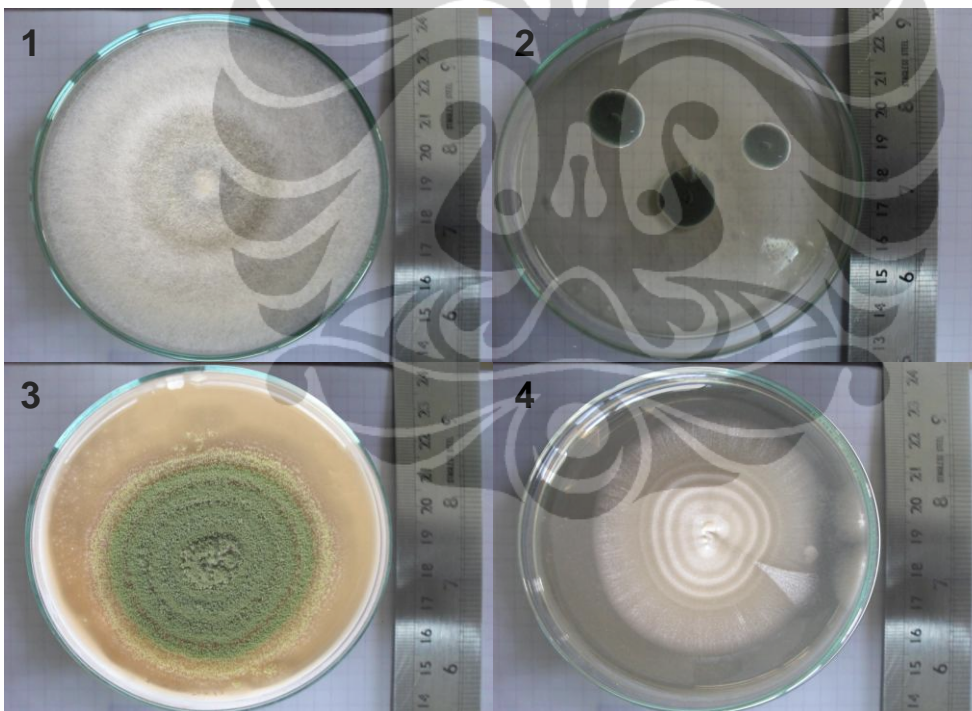
Skrining pertumbuhan fungi (Suyanto, 2001)

Skrining pertumbuhan fungi dilakukan dengan menggunakan medium Mimura dengan penambahan substrat *Palm Kernel Meal* pada inkubasi hari ke 5 dengan suhu 27--30°C. Biakan fungi berumur 5--7 hari pada medium PDA miring ditambahkan 5 ml akuades steril. Spora dikerik dengan jarum ose, kemudian dihomogenkan dengan *vortex mixer* sampai terbentuk suspensi. Sebanyak 1 ose suspensi spora dimasukkan ke 5 ml akuades steril, dihomogenkan dengan memakai *vortex mixer*. Pengenceran dilakukan sampai memperoleh satu atau beberapa spora yang tumbuh. Satu spora tersebut diinokulasikan ke dalam medium selektif Mimura. Pertumbuhan fungi dinyatakan dalam diameter (cm) koloni. Diameter koloni terbaik dari masing-masing kelompok genus digunakan sebagai inokulum untuk fermentasi *Palm Kernel Meal* selanjutnya.

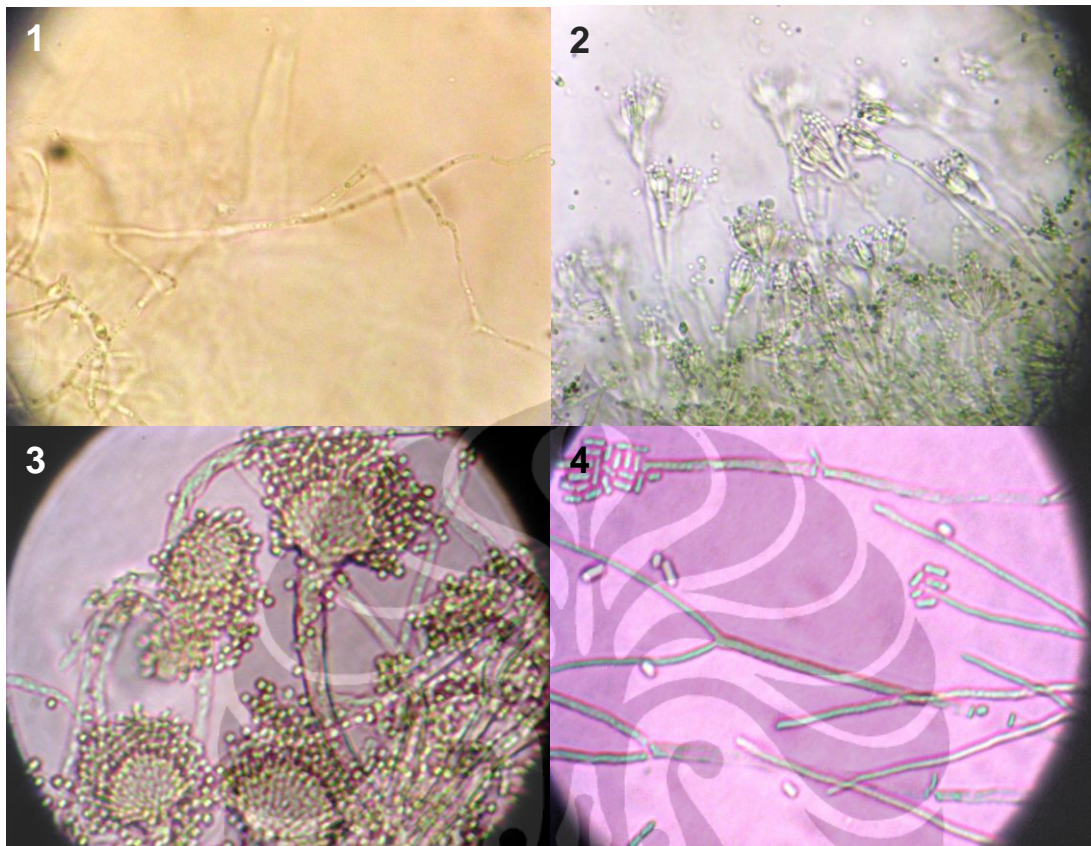
HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan identifikasi fungi hasil biokonversi *Palm Kernel Meal*.

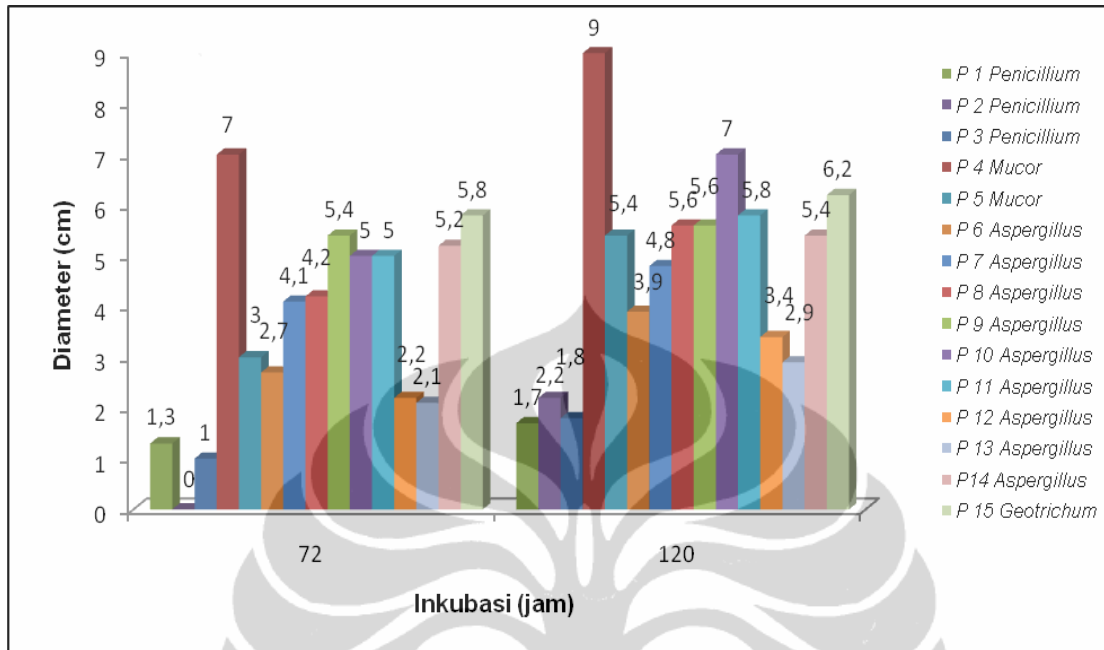
Sebanyak lima belas isolat fungi berhasil diisolasi dan diidentifikasi, dikelompokkan ke dalam 4 kelompok (*Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium* dan *Geotrichum*) diperoleh dari hasil biokonversi *Palm Kernel Meal* asal Lampung pada suhu 27--30°C. Berdasarkan morfologi koloni dan sel koloni fungi, 9 isolat termasuk dalam kelompok *Aspergillus*, 3 isolat termasuk *Penicillium*, 2 isolat termasuk dalam *Mucor*, dan 1 isolat *Geotrichum* (Gambar I.1).



Gambar I.1. Morfologi makroskopik koloni fungi yang ditumbuhkan dalam medium PDA. (1. *Mucor racemosus*; 2. *Penicillium chrysogenum*; 3. *Aspergillus flavus*; 4. *Geotrichum candidum* pada 27--30°C, selama 5 hari).



Gambar 1.2. Morfologi mikroskopik koloni fungi yang ditumbuhkan pada 27--30°C, selama 5 hari yang ditumbuhkan dalam medium PDA. (1. *Mucor racemosus* (100x); 2. *Penicillium chrysogenum* (100 x); 3. *Aspergillus flavus* (400x); 4. *Geotrichum candidum* (400x).



Gambar I.3. Diameter (cm) pertumbuhan koloni fungi pada medium selektif Mimura (suhu 27--30°C).

Gambar I.3. menunjukkan pertumbuhan fungi hasil biokonversi PKM yang ditumbuhkan kembali pada medium selektif Mimura (suhu 27--30°C). Isolat-isolat dengan kode P (6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, dan 15) ditumbuhkan pada medium Mimura dan CDA selama 7 hari pada suhu 27--30°C ada yang berwarna hijau muda, hijau tua, dan cokelat. Permukaan koloni rata. Warna sebalik kuning kehijauan, dan kuning kecokelatan. Tekstur bergranular halus atau *velvety*. Diameter koloni berkisar 1,1--9 cm selama 7 hari pada suhu 27--30°C. Gambar I.2. no.3 menunjukkan morfologi koloni kapang dengan hifa bersepta, kepala konidia ada yang berbentuk bulat maupun kolumnar. Vesikel ada yang berbentuk gada, bulat atau semi bulat

dengan diameter berkisar 11-55 μm . Metula berukuran (5—16)x(1—5) μm . Fialid berukuran (4—10)x(1—4) μm . Konidia berbentuk bulat dan semi bulat (ada ornamentasi) berdiameter 2—7 μm . Isolat-isolat tersebut sesuai dengan karakteristik *Aspergillus* (Domsch *et al.*, 1980; Samson *et al.*, 1995; Gandjar *et al.*, 1999).

Koloni berwarna putih, kuning kecokelatan, dan hitam, tumbuh cepat, dengan konidiosporanya tidak berseptata, stipe tidak bercabang, fialid tumbuh dalam vesikel uniseriate atau biseriate. Vesikel, fialid, metula dan konidia membentuk kepala konidia. *Aspergillus* umumnya mengkontaminasi berbagai substrat. Pada daerah tropik dan subtropik *Aspergillus* lebih banyak daripada *Penicillium*. Menurut Moncalvo (1997) dan Kuhn & Ghannoum (2003), kondisi iklim daerah tropis yang hangat dan kelembapan mendukung pertumbuhan kapang seperti *Aspergillus*. Habitat *Aspergillus* sangat beragam, namun pada umumnya kapang dapat tumbuh pada substrat yang mengandung sumber karbon organik (Carlile & Watkinson 1994). Genus ini punya kemampuan memproduksi mikotoksin. Selain itu juga memproduksi asam organik dan enzim yang sangat penting dalam fermentasi untuk aplikasi produk makanan dan industri. Isolat-isolat yang ditumbuhkan dalam medium CDA pada 25 °C dapat mencapai 3--7 cm selama 7 hari. Konidiospora berwarna kuning kehijauan. Kepala konidia berbentuk *radiate*. Hialin konidiosporanya lebih kasar dengan panjang mencapai 2,5 mm. Vesikel berbentuk bulat hingga lonjong, berdiameter 25—45 μm . Konidianya bulat hingga lonjong, diameter 3--6 μm , hijau pucat, *echinulate* terlihat jelas.

Identifikasi lebih lanjut dilakukan terhadap *Aspergillus* P10 (Gambar I.3.) yang memiliki diameter lebih besar dalam medium Mimura dibandingkan isolat *Aspergillus* lainnya (P 6, P 7, P 8, P 9, P 11, P 12, P 13, P 14). Isolat *Aspergillus* P10 dalam medium CDA pada suhu 25—30 °C selama 7 hari mempunyai diameter 3—5 cm. Kepala konidia berbentuk *radiate*, berwarna kuning kehijauan. Konidiospora hialin, permukaan kasar berukuran hingga 2,5 mm. Vesikel berbentuk *globose* atau *subglobose*, berdiameter 25—45 µm. Fialid tumbuh pada vesikel atau metula, (6-10)x(4,0-5,5) µm. Metula berukuran (6,5—10) x(3—5) µm. Konidia berbentuk *globose* atau *subglobose*, 3–6 µm. Pertumbuhan koloni lebih cepat pada medium MEA. Isolat *Aspergillus* P10 sesuai dengan karakteristik spesies *Aspergillus flavus* (Domsch *et al.*, 1980; Samson *et al.*, 1995).

Dua isolat (P4 dan P5) (Gambar I.3) menunjukkan karakteristik pertumbuhan koloni yang sangat cepat dan menutupi seluruh permukaan cawan petri setelah 3—5 hari diinkubasi pada medium PDA dengan suhu 27–30°C. Warna koloni putih dan selanjutnya menjadi cokelat keabu-abuan saat umur isolat lebih dari 7 hari. Warna sebalik koloni putih kekuningan. Sporangiofor bercabang (simpodial dan monopodial), ukuran sporangia beragam, tumbuh kolumella, berdinding agak kasar, bercabang, dan berdiameter 8—11 µm. Hifa putih atau berwarna. Tinggi isolat beragam mulai 2-30 mm. Dinding sporangium hancur. Warna cokelat pada sporangia berubah menjadi abu-abu setelah 7 hari inkubasi. Suhu pertumbuhan dan

sporulasi 5—30°C; optimum 20—25°C; maksimum 37 °C. Sporangium berwarna hialin dengan diameter 40--65 µm. Sporangiospora berdinding halus, berbentuk lonjong hingga semi bulat berukuran (4—13)x(4—9) µm. Hifa tidak bersepta. Kolumella berbentuk lonjong dengan dasar rata berdiameter 20—25 µm. Dua isolat ini sesuai dengan karakteristik genus *Mucor* (Domsch *et al.*, 1980; Samson *et al.*, 1995; Gandjar *et al.*, 1999).

Isolat *Mucor* P4 (Gambar I.1 dan I.2.) pada medium MEA dan PDA mempunyai warna putih pada inkubasi 7 hari dengan suhu 27–30 °C. Sporangiospora bercabang (monopodial dan simpodial). Warna sporangia hialin hingga kecokelatan sesuai waktu inkubasi, berbentuk elips (70--90 µm) hingga subglobose (5,5—8,5 (10))x(4—7 µm). Klamidospora memiliki sel aseksual dalam jumlah banyak. *Heterothallic*. Sel seksualnya berwarna merah kecokelatan, *globose* atau *subglobose*, berdiameter hingga 110 µm. Isolat *Mucor* P4 sesuai dengan spesies *Mucor racemosus* (Domsch *et al.*, 1980; Samson *et al.*, 1995).

Isolat dengan kode (P1, P2, dan P3) (Tabel I.4) berdiameter koloni 1--2,2 cm ketika ditumbuhkan menggunakan medium PDA dan CDA selama 7 hari pada suhu 27–30°C. Koloni berwarna hijau tua dengan permukaan koloni seperti berudru. Warna sebalik koloni kuning. Koloni menghasilkan tetes eksudat berwarna kuning, kadang-kadang tidak sama sekali. Hifa bersepta.

Konidiofor memiliki percabangan 3—5. Stipe berdinding halus memiliki cabang-cabang secara divergen berukuran (300—450) x (3,0—4,0) μm . Metula berbentuk silindris, berdinding halus, dengan fialid berjumlah 3-4. Metula berukuran (12—15) x (2--3) μm . Fialid berukuran (8—10) x (2--3) μm . Konidia berbentuk semi bulat, berwarna kehijauan, dan berdinding halus. Konidia berukuran (3—4)x(2,5—30) μm . Isolat dengan kode (P1, P2, dan P3) sesuai dengan karakteristik genus *Penicillium* (Domsch *et. al.*, 1980; Samson *et al.*, 1995; Gandjar *et al.*, 1999).

Isolat (P1, P2, P3) (Gambar I.1 dan I.2) berdasarkan hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis medium PDA dan CDA selama 7 hari pada suhu 27—30°C tersebut memiliki karakteristik yang sama. Isolat (P1, P2, P3) yang ditumbuhkan kembali pada medium CDA pada suhu 27—30 °C memiliki pertumbuhan yang cepat, diameter mencapai 4—5 cm selama 10 hari. Warna koloni pada awal pertumbuhan berwarna hijau kebiruan. Konidiospora mempunyai 2--3 percabangan, beberapa strains bercabang lebih dari 4, *mononematous*, ukuran stipe (400—1000)x(2,5—4,0) μm , berdinding halus, percabangan berbeda. Metula berukuran (8,0—15)x(2,0—2,3) μm , silindris, berdinding halus, dengan fialid 3—6. Fialid seperti tabung berukuran (7,0—10)x(2,0—2,5) μm . Konidia berbentuk subglobose hingga elips, berukuran (3,0—4,0)x(2,8—3,8) μm , hialin atau sedikit kehijauan. Koloni pada medium MEA mengalami pertumbuhan yang lebih cepat daripada medium CDA. Warna sebalik koloni sedikit kekuningan. Isolat (P1, P2, P3) ini sesuai

dengan karakteristik spesies *Penicillium chrysogenum* (Domsch *et al.*, 1980; Samson *et al.*, 1995).

Isolat dengan kode (P15) (Tabel I.4) berdiameter koloni 5,8—6,2 cm ketika ditumbuhkan menggunakan medium PDA, MEA, dan CDA selama 7 hari pada suhu 27–30°C. Koloni berwarna putih. Hifa berseptat dengan percabangan dikotomis, lebar 7—11 µm. Konidia berbentuk *barrel*, silindris, dan elips berukuran 6—12(-20)x3—6(-9) µm. Spora dihasilkan dari fragmentasi hifa (*arthroconidia*). Temperatur optimum 25--27 °C jika isolat diisolasi dari tumbuhan. Isolat dengan kode P15 sesuai dengan karakteristik spesies *Geotrichum candidum* (Domsch *et al.*, 1980; Samson *et al.*, 1995)

Hasil isolasi dari proses biokonversi *Palm Kernel Meal* terdiri dari 4 genus (*Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus*, dan *Geotrichum*). Jumlah dan variasi jenis isolat fungi tersebut dipengaruhi oleh kandungan *Palm Kernel Meal* asal Lampung yang masih mengandung banyak minyak, *Palm kernel Meal* asal Lampung merupakan hasil 1 kali pengepresan dalam pemisahan ampas dan minyak kelapa sawit, sedangkan umumnya pengepresan dilakukan 2 kali. Masa penyimpanan *Palm kernel Meal* dalam tong juga memengaruhi variasi jenis fungi. Fungi dalam tumbuh dalam substrat *Palm Kernel Meal* tersebut apabila mampu memproduksi enzim lipase. Menurut Magan & Aldred (2007), lama penyimpanan substrat memengaruhi tingkat kontaminasi, jenis dan ragam pertumbuhan fungi serta jumlah mikotoksin yang diproduksinya.

Jenis-jenis fungi yang mengeluarkan mikotoksin ketika substrat disimpan adalah *Penicillium verrucosum* (*ochratoxin*), *Aspergillus flavus* (*aflatoxins*), *Aspergillus ochraceus* (*ochratoxin*) dan beberapa spesies *Fusarium* (*fumonisin*, *trichothecenes*). Penelitian ini menggunakan *Palm Kernel Meal* dengan waktu penyimpanan selama 1 bulan setelah proses ekstraksi atau pemisahan dengan minyak sawit 1 kali sedangkan pada umumnya dilakukan sebanyak 2 kali.

Substrat *Palm Kernel Meal* dalam penelitian ini belum banyak ditumbuhi fungi. Hal ini disebabkan banyaknya kandungan lignin di dalam *Palm Kernel Meal*. Lignin yang berikatan dengan selulosa sebagai penyusun utama dinding sel membatasi degradasi fungi terhadap serat kasar *Palm Kernel Meal* (Graham & Balnave, 1995). Jenis fungi yang tumbuh memengaruhi kandungan minyak, selulosa, dan hemiselulosa dalam substrat *Palm Kernel Meal*. Fungi hanya tumbuh pada substrat *Palm Kernel Meal* apabila mempunyai enzim lipolitik, selulolitik, dan hemiselulolitik yang mampu mendegradasi kandungan minyak, selulosa, dan hemiselulosa dalam *Palm Kernel Meal* tersebut. Kandungan *Palm Kernel Meal* adalah *crude lipid* 10,4 %, *carboxymethyl cellulose* 1,5 %, dan *cellulose* 4,92% (Ng, et al., 2002).

Aspergillus merupakan genus fungi yang banyak ditemukan dalam penelitian isolasi fungi dari substrat *Palm Kernel Meal*. Konidia *Aspergillus* dapat mudah terbawa udara sehingga mampu tumbuh pada berbagai substrat. *Aspergillus* bersifat heterotrof, tumbuh cepat, dan mudah

mendegradasi bahan organik. *Aspergillus* merupakan fungi termotoleran yang mempunyai distribusi luas, mempunyai kisaran suhu pertumbuhan 12—57°C dan pH 3,7—7,8. (Raper & Fennel, 1965; Domsch et al., 1980).

A. flavus merupakan kapang saprofit penghasil mikotoksin aflatoksin. Aflatoksin, terutama B1 diketahui sangat toksik dan bersifat karsinogenik bagi manusia, mamalia, dan unggas. Faktor lingkungan seperti suhu dan kelembapan, secara langsung memengaruhi infeksi *A. flavus* dan produksi aflatoksin. Menurut Cole et al., (1989), suhu optimum untuk perkembangan *A. flavus* berkisar 25,7—31,30°C. Kontaminasi aflatoksin mulai terjadi pada suhu 26,3°C dan kandungan aflatoksin terus meningkat seiring peningkatan suhu hingga 31,2 °C. Kontaminasi aflatoksin tidak terjadi setelah melebihi 31,2 °C.

Pengeringan *Palm Kernel* setelah panen akan menurunkan infeksi *A. flavus* dan kontaminasi aflatoksin (Bartz et al., 1978; Cardona, et al., 1989). Selain itu perlakuan dengan menginokulasikan organisme yang mampu menghasilkan senyawa filoaleksin juga dapat menghambat pembentukan aflatoksin. Filoaleksin hanya terbentuk jika aktivitas air pada substrat minimum 0,95. Adanya filoaleksin, maka *A. flavus* dalam substrat akan berada pada kondisi dorman. Berdasarkan Gambar I.4, *Aspergillus* tumbuh hari ke-0 hingga hari ke-3 fermentasi. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa PKM telah terinfeksi sebelum fermentasi. Fermentasi PKM diduga memengaruhi keberadaan *A. flavus*. Persaingan mendapatkan nutrisi dengan

mikroorganisme lainnya dan peningkatan suhu substrat yang melebihi 31,3⁰C dapat menjadi faktor penghambat pertumbuhan *A. flavus*.

Mucor merupakan genus yang keberadaannya selalu ditemukan selama proses biokonversi *Palm Kernel Meal* berlangsung. Buah kelapa sawit merupakan habitat dimana *Mucor* banyak ditemukan. *Mucor* dapat diisolasi dari biji dan buah kelapa yang mengandung minyak. Sporangya banyak terdapat di udara perkebunan kelapa sawit (Turner 1982; Kavitha *et al.*, 1997; Hiol *et al.*, 2000).

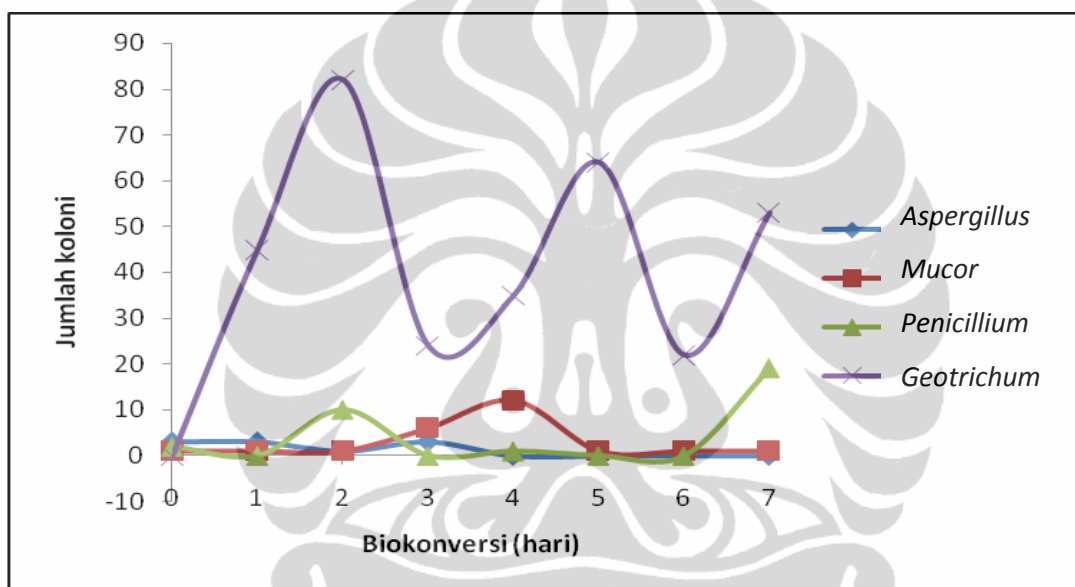
Penicillium juga banyak ditemukan dalam isolasi fungi dari proses biokonversi *Palm Kernel Meal*. Kavitha *et al.*, (1997) menyatakan *Penicillium* dapat diisolasi dari biji dan buah yang banyak mengandung minyak. Dharmaputra *et al.*, (1990) melaporkan *Penicillium citrinum* banyak ditemukan di tanah perkebunan kelapa sawit Sumatera Utara.

Fungi yang telah diuraikan tersebut di atas dapat tumbuh dalam substrat *Palm Kernel Meal* dikarenakan fungi mampu mengeluarkan enzim ke lingkungan untuk mengurai substrat *Palm Kernel Meal* yang kompleks agar memperoleh nutrisi yang diperlukan. Transportasi nutrisi ke dalam sel fungi dapat berlangsung melalui beberapa cara, antara lain melalui transportasi aktif. Adanya pertumbuhan oleh fungi pada suatu substrat dapat juga diketahui karena selain ada penambahan massa sel, proses metabolisme menyebabkan perubahan pada substrat antara lain substrat menjadi lunak,

basah-basah, timbul bau yang semula tidak tercium, timbulnya perubahan warna, atau kekeruhan pada suatu substrat cair (Gandjar *et al.*, 2006).

Dinamika fungi selama 7 hari biokonversi *Palm Kernel Meal*

Gambar 1.4. menunjukkan dinamika isolat fungi selama 7 hari Biokonversi PKM dengan suhu 27—30°C.



Gambar 1.4. Dinamika isolat fungi selama 7 hari Biokonversi PKM

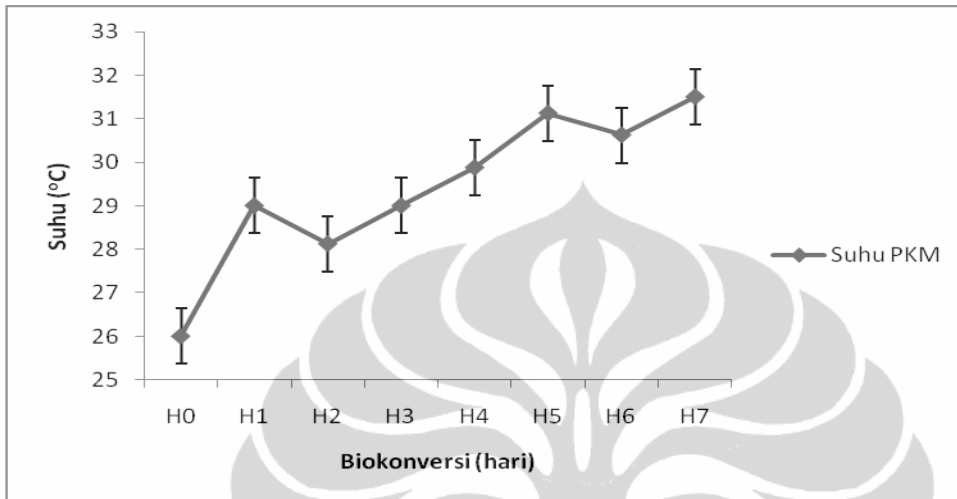
Berdasarkan Gambar 1.4. tersebut dapat diketahui bahwa genus *Mucor* telah tumbuh sejak sebelum dan setelah tujuh hari proses biokonversi berlangsung. *Aspergillus* tumbuh pada periode awal proses biokonversi berlangsung, namun setelah hari ke-3 tidak ditemukan keberadaannya. *Geotrichum* memiliki kelimpahan lebih tinggi dibandingkan genus lain. *Penicillium* mempunyai persebaran waktu pertumbuhan yang berbeda dengan isolat yang lain, yaitu sebelum biokonversi, hari ke-2, 4, dan 7 proses

biokonversi. Variasi keberagaman populasi mikroorganisme semakin menurun setelah 7 hari periode biokonversi berlangsung.

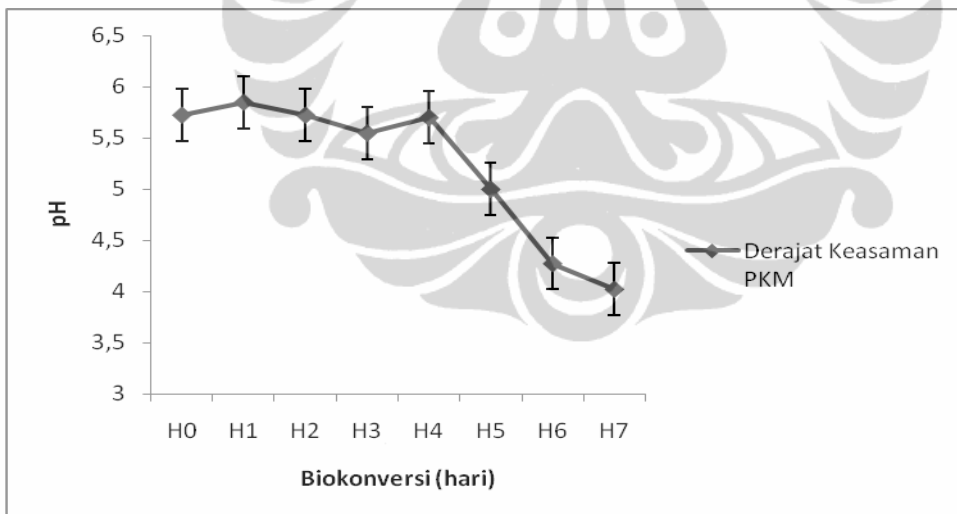
Dinamika mikroorganisme dapat diketahui dengan melihat perubahan kelimpahan dan keberagamannya per satuan waktu (Odum, 1971). Kualitas nutrisi PKM sangat dipengaruhi oleh proses biokonversi. Biokonversi merupakan tahap pemecahan molekul substrat oleh mikroorganisme aerob maupun anaerob. Mikroorganisme dalam proses biokonversi seringkali tidak diketahui jumlah dan ragamnya sebagai salah satu indikator tingkat degradasi. Hal ini menyebabkan kualitas nutrisi PKM belum optimal. Oleh karena itu diperlukan informasi jumlah dan ragam mikroorganisme selama proses biokonversi berlangsung sehingga tujuan proses biokonversi terpenuhi (Gu, 1996; Molla, 2004; Nur, 2009). Wirakusumah, (2003) menyatakan keanekaragaman sebagai ukuran integrasi komunitas biologik dengan menghitung dan mempertimbangkan jumlah populasi yang membentuknya dengan kelimpahan relatifnya.

Perubahan keberagaman populasi dapat terjadi dikarenakan faktor lingkungan dan karakteristik khas yang dimiliki oleh masing-masing mikroorganisme. Faktor lingkungan tersebut antara lain sumber daya makanan, luas habitat, temperatur, kelembapan dan pH yang dapat menjadi faktor pembatas pertumbuhan suatu mikroorganisme. Karakteristik khas suatu mikroorganisme juga mempunyai peranan yang sangat penting untuk bertahan hidup seperti: hubungan interaksi dengan organisme lain,

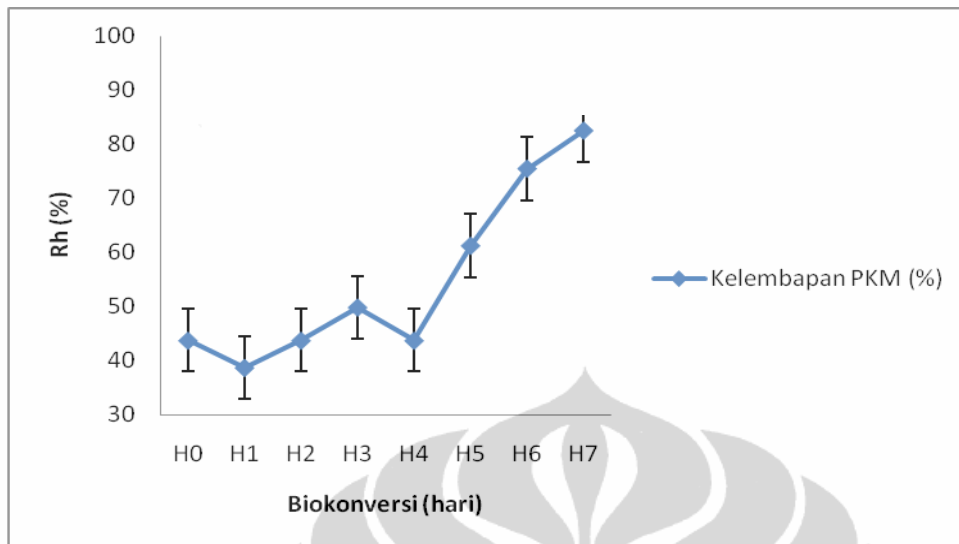
kepadatan (*densitas*), laju pertumbuhan, laju kematian, dan bentuk adaptasi terhadap perubahan lingkungan (Odum, 1971; Volchatova *et al.*, 2002).



Gambar I.5. Parameter suhu medium biokonversi *Palm Kernel Meal* dengan suhu 27 – 30°C selama 5—7 hari.



Gambar I.6. Parameter keasaman pada medium biokonversi *Palm Kernel Meal* dengan suhu 27–30°C selama 5—7 hari.



Gambar I.7. Parameter kelembapan pada medium biokonversi *Palm Kernel Meal* dengan suhu 27–30°C selama 5—7 hari.

Fungi tumbuh selama kondisi lingkungan menguntungkan bagi pertumbuhan dan pertahanannya. Perubahan fisik dan kimiawi yang ekstrim seperti suhu, pH, dan habisnya nutrisi membuat kondisi pertumbuhan spesies lain lebih menguntungkan, maka fungi yang telah teradaptasi lebih dahulu dapat habitat tersebut dapat tergantikan oleh organisme yang dapat beradaptasi dengan baik dalam kondisi yang baru itu. Dengan demikian faktor lingkungan memengaruhi dinamika fungi karena bersifat selektif terhadap keberadaan populasinya. (Pelczar & Chan, 1986; Costerton, 2004).

Fungi dapat bertahan hidup apabila dapat menyesuaikan diri dengan lingkungannya. Salah satunya adalah melakukan adaptasi fenotipik sebagai respon terhadap perubahan lingkungan. Adaptasi fenotipik dapat bermacam-macam seperti kemampuan tumbuh dalam temperatur yang luas namun

aktivitas metaboliknya tidak selalu sama pada setiap temperatur ekstrim, perubahan warna dan ukuran diameter koloni.

Keanekaragaman fungi yang tidak terlalu besar selain dikarenakan faktor lingkungan, diduga dipengaruhi oleh kandungan minyak yang terdapat dalam *Palm Kernel Meal* tersebut. *Palm Kernel Meal* asal Lampung masih memiliki kandungan minyak lebih tinggi dikarenakan proses ekstraksi minyak kelapa sawit dengan pengepresan hanya berlangsung satu kali, sedangkan pada umumnya dilakukan 2 kali proses pengepresan (Komunikasi pribadi dengan Hem, 2008). Tingginya kandungan minyak *Palm Kernel Meal* asal Lampung tersebut diduga menjadi salah satu faktor pembatas pertumbuhan fungi dalam substrat *Palm Kernel Meal*. Fungi mampu tumbuh dengan baik dalam medium *Palm Kernel Meal* apabila mempunyai enzim lipase.

Lipase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis dari triasetilgliserol menjadi diasil gliserida, monoasilgliserida atau gliserol, dan asam-asam lemak bebas (Scrimgeour 2005). Lipase bekerja di antara dua lapisan (*interfacial*), yaitu pada perbatasan campuran substrat minyak dan air. Lipase mempunyai aktivitas yang hampir mirip dengan esterase, namun keduanya berbeda. Esterase didefinisikan sebagai enzim yang bekerja pada ester asam lemak rantai pendek, seperti metil butrat atau triasetin yang kurang dihidrolisis oleh lipase, sedangkan lipase aktif terhadap substrat triasilgliserida rantai panjang. Aktivitas lipase lebih meningkat dibandingkan

esterase ketika substrat diemulsikan terlebih dahulu (Jaeger & Reetz 1998; Chahinian *et al.*, 2002).

Simbiosis di antara spesies memengaruhi dinamika fungi dalam proses biokonversi *Palm Kernel Meal*. Simbiosis bersifat netralisme jika diantara spesies yang tumbuh dalam lingkungan yang sama tidak terpengaruh satu sama lain. Simbiosis mutualisme terjadi apabila antara spesies yang berasosiasi memperoleh keuntungan. Komensalisme merupakan tipe simbiosis dimana satu spesies memperoleh keuntungan seperti dapat tumbuh lebih cepat sedangkan anggota yang lain tidak terpengaruh. Antagonisme, kompetisi, atau parasitisme merupakan tipe simbiosis yang menghambat salah satu spesies asosiasi, sedangkan spesies yang lain mendapatkan keuntungan (Holzapfel, 2000).

Dinamika fungi ditentukan pula oleh jumlah spesies (*species richness*). Jumlah spesies fungi dalam komunitas pada umumnya sangat beragam, namun demikian pada beberapa habitat fungi seperti gunung berapi dan dasar laut relatif kecil. Menurut Wirakusumah (2003), angka kekayaan spesies ditentukan oleh luas dan lokasi tempat komunitas berada. Penelitian ini menggunakan wadah plastik berbentuk persegi panjang berukuran 28 x 20 x 20 cm dengan substrat *Palm Kernel Meal* sebanyak 1 kg per wadah. Luas area wadah fermentasi tersebut secara langsung turut membatasi luas daerah pertumbuhan masing-masing fungi yang tumbuh.

Skrining fungi pendegradasi serat kasar *Palm Kernel Meal*.

Skrining pertumbuhan fungi menggunakan medium selektif Mimura pada suhu 27–30°C, inkubasi selama 3–5 hari sesuai waktu pertumbuhan maksimum fungi (Tabel I.2.).

Tabel I.2. Diameter koloni fungi (cm) pada medium selektif Mimura dengan suhu 27--30°C selama 5—7 hari.

No	Isolat	Genus	Jam	
			72	120
1	P 1	<i>Penicillium</i>	1,3	1,7
2	P 2	<i>Penicillium</i>	1,0	1,8
3	P 3	<i>Penicillium</i>	1,3	2,2
4	P 4	<i>Mucor</i>	7,0	9,0
5	P 5	<i>Mucor</i>	3	5,4
6	P 6	<i>Aspergillus</i>	2,7	3,9
7	P 7	<i>Aspergillus</i>	4,1	4,8
8	P 8	<i>Aspergillus</i>	4,2	5,6
9	P 9	<i>Aspergillus</i>	5,4	5,6
10	P 10	<i>Aspergillus</i>	5,0	7,0
11	P 11	<i>Aspergillus</i>	5,0	5,8
12	P 12	<i>Aspergillus</i>	2,2	3,4
15	P 13	<i>Aspergillus</i>	2,1	2,9
16	P14	<i>Aspergillus</i>	5,2	5,4
17	P 15	<i>Geotrichum</i>	5,8	6,2

Berdasarkan kisaran diameter pertumbuhan koloni fungi pada tabel I.2, maka *Mucor* merupakan fungi yang pertumbuhannya paling cepat. Genus *Mucor* memiliki diameter terbesar 9 cm selama 5 hari inkubasi dengan suhu 27–30°C. Genus *Aspergillus* mempunyai diameter terbesar 7 cm, *Geotrichum* 6,2 cm, dan *Penicillium* 1,8 cm.

Tabel I.2. menunjukkan hasil seleksi fungi pendegradasi serat kasar *Palm Kernel Meal*. Medium selektif yang digunakan dalam penelitian ini tidak menggunakan media yang mengandung selulosa, hemiselulosa, CMC, *solka floc*, *avicel*, dan *sigmacell* murni melainkan media yang mengandung serbuk *Palm Kernel Meal* karena medium tersebut hanya akan menyeleksi fungi yang mampu mendegradasi selulosa dan hemiselulosa murni (Hartree *et al.*, 1988; Lynd *et al.*, 2002).

Genus *Mucor* menunjukkan diameter 1—9 cm pada inkubasi 3—5 hari dengan suhu 27– 30°C. Hasil tersebut menunjukkan sifat pertumbuhan koloni genus *Mucor* yang sangat cepat dengan suhu maksimum pertumbuhan miselium pada suhu ruang berkisar 27—30°C. Suhu 30°C merupakan suhu optimum pertumbuhan sebagian besar kapang lignoselulolitik (Peiji *et al.*, 1997; Soetjiharto., 1997; Kader *et al.*, 1999). Diameter jenis *Mucor* yang besar menunjukkan bahwa kapang ini mampu tumbuh pada medium yang mengandung selulosa dan hemiselulosa dalam jumlah besar meskipun kemampuan memproduksi selulosa dan hemiselulosa kecil (Peiji *et al.*, 1997). Sifat pertumbuhan koloni *Mucor* sangat cepat sehingga mampu menutupi

cawan petri 3—5 hari (20 °C). *Cunninghamella elegans* mampu mendekomposisi berbagai bentuk selulosa secara efisien dan *Mucor hiemalis* serta *Mucor racemosus* mampu menggunakan hemiselulosa sebagai sumber karbon (Domsch *et al.*, 1980).



Kesimpulan

1. Hasil isolasi fungi dari substrat *Palm Kernel Meal* terdiri dari 15 isolat yang dikelompokkan dalam 4 kelompok fungi (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Geotrichum*).
2. *Mucor* memiliki persentase frekuensi distribusi fungi tertinggi selama 7 hari proses biokonversi yaitu 100%.
3. Berdasarkan hasil skrining pertumbuhan masing-masing kelompok fungi, 4 isolat (P3, P4, P10, P15) terpilih sebagai inokulan untuk fermentasi *Palm Kernel Meal* selanjutnya.
4. Hasil identifikasi mikroskopik menunjukkan P3 (*Penicillium chrysogenum*), P4 (*Mucor racemosus*), P10 (*Aspergillus flavus*), dan P15 (*Geotrichum candidum*).
5. *Mucor racemosus* pada medium Mimura mempunyai diameter koloni lebih luas di antara isolat yang lain yaitu berukuran lebih dari 9 cm.

DAFTAR ACUAN

- Agunbiade, J. A., J. Wiseman & D. J. A. Cole. 1999. Energy and nutrient use of palm kernel meal, palm kernel meal and palm kernel oil in diets for growing pigs. *Animal Feed Science and Technology* **80**: 165—181.
- Akubuo, C. O & B. E. Eje. 2002. Palm kernel and shell separator biosystem. *Biosystems Engineering* **81**(2):193—199.
- Bartz, J. A., A. J. Norden, J. C. LaPrade & T.J. Demuykn. 1978. Seed tolerance in peanut to members of the *Aspergillus flavus* group fungi. *Peanut Science* **2**: 53—56.
- Cardon, T. D., S. G. Ilangantileke & A. Noomhorm. 1989. Aflatoxin research on grain in Asia: Its problems and possible solution. *Proceedings of the 12th ASEAN Seminar on Grain Postharvest Technology AGPP, Bangkok*: 378—394.
- Carlile, M.J & S.C. Watkinson. 1994. *The fungi*. Academic Press Ltd., London: xiii + 482 hlm.
- Chahinian, H., L.Nini, E. Boitard, J.P. Dubes, L.C. Cormeau & L. Sarda. 2002. Distinction between esterases and lipase: a kinetic study with vinyl esters & TAG. *Lipids* **37**(7): 653—662.
- Cole, R. J., T.H. Sanders, J.W. Dorner & P.D. Blankkenschap. 1989. *Environmental condition required to induce preharvest aflatoxin contamination of groundnut. Summary of six year's research Dalam: Mcdonald & V.K. Mehan (Eds.). Aspergillus flavus & Aflatoxin Contamination of Groundnut*. ICRISAT, India: 279—287.
- Costerton, B. 2004. Microbial ecology comes of age and joins the general ecology community. *Proceedings of the National Academy of Science* **101**(49):16983—16984.
- Dharmaputra, O. S., H. S. S. Tjitrosomo & A. L. Abadi. 1990. Antagonistic effect of four fungal isolates to *Ganoderma boninense*, the causal agent of basal stem rot of oil palm. *Biotropika* (3): 1—3. 22 November 2009, pk. 6.30 WIB.

- Departemen Perindustrian. 2007. Gambaran sekilas industri minyak kelapa sawit: 7—10. www.depperin.go.id. 10 Desember 2008, pk.23.32 WIB.
- Domsch, K. H., W. Gams & T. H. Anderson. 1980. *Compendium of soil fungi vol. 1*. Academic Press, London: vii + 859 hlm.
- Ezieshi, E. V & J. M. Olomu. 2007. Nutritional evaluation of palm kernel meal types: 1. Proximate composition and metabolizable energy values. *African Journal of Biotechnology* **6** (21): 2484—2486.
- Foreign Agricultural Service. 2008. *Oilseeds: World markets and trade*. United Stated Department of Agriculture, Minneapolis: 1—8.
- Gandjar, I., A. Oetari & W. Sjamsuridzal. 2006. *Mikologi dasar dan terapan*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta: xi + 234 hlm.
- Gandjar, I., R. A. Samson, K. van-den Tweel-Vermeulen, A. Oetari & I. Santoso. 1999. *Pengenalan kapang tropik umum*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta: xiv + 136 hlm.
- Graham, H & D. Balnave. 1995. Dietary enzymes for increasing energy availability. Dalam Wallace, R. J & A. Chesson (eds). 1995. *Biotechnology in animal feeds and animal feeding*. VCH, Weinheim: 295—309.
- Gu, J. D., T. Ford, K. Thorp & R. Mitchell. 1996. Microbial growth on fiber reinforced composite materials. *Elsevier Science* **3**: 197—204.
- Hartree, M. M, C. M. Hogan & J.N. Saddler. 1988. Influence of growth substrate on production of cellulose enzymes by *Trichoderma harzianum* E58. *Biotechnology & Bioengineering* **31**: 725—729.
- Hem, S., S. Toure, C. Sagbla & M. Legendre. 2008. Bioconversion of palm kernel meal for aquaculture: experiences from the forest region (Republic of Guinea). *African Journal of Biotechnology* **7**(8): 1192—1198.
- Hem, S. 2008. Komunikasi pribadi.
- Hiol, A, M. D. Jonzo, N. Rugani, D. Druet, L. C. Corneau & L. Sarda. 2000. Purification and characterization of an extracellular lipase thermophilic *Rhizopus oryzae* strain isolate. *Enzyme and Microbial Technology* **26**(5): 421—430.

- Holzappel, W.H. 2000. Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. *International Journal of Food Microbiology* **75**: 197—212.
- Jaeger, K. & M.T. Reetz. 1998. Microbial lipases from versatile tools for biotechnology. *Tibtech* **16**: 396—403.
- Kader, A. J., O. Omar, & L. S. Feng. 1999. Isolation of cellulolytic fungi from the Bario Highlands Sarawak. *Arbec*: 1—3.
<http://www/arbec.com.my/pdf/art12sepoct99.pdf>, 22 November 2009, pk. 6.53 WIB.
- Kavitha, N. S., A. Hilda, S. Gopinath & K. Latha. 1997. Hydrolysis of oils and marine environmental ethics. *Proceedings of the international bioethics workshop in Madras*: 1—4.
<http://www.biol.tsukuba.ac.jp/macer/index.html>, 22 November, pk. 07.02 WIB.
- Klich, M. A. 2002. *Identification of common Aspergillus species*. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht: vi + 116 hlm.
- Kuhn, D.M & M.A. Ghannoum. 2003. Indoor mold, toxigenic fungi, and *Stachybotrys chartarum*: Infectious disease perspective. *Clinical Microbiology Reviews* **16**(1): 144—172.
- Lynd, L. R., P. J. Weimer, W.H. Van Zyl & I. S. Pretorius. 2002. Microbial cellulose utilization : fundamentals and biotechnology. *Microbial & Molecular Reviews* **66**(3): 506—577.
<Http://imb.usal.es/castellano/personals/rss/lyndcellulose2002.pdf>, 22 November 2009, pk. 07.14 WIB.
- Magan, N & D. Aldred. 2007. Post-harvest control strategies: minimizing mycotoxins in the food chain. *International journal of food microbiology* **119**(1): 131—139.
- Molla, A. H., A. F. Razi, M. M. Hanafi & M.D. Z. Alam. 2004. Optimization of process factors for solid-state bioconversion of domestic wastewater sludge. *Department Of Chemical And Environmental Engineering, Faculty Of Engineering, Universiti Putra Malaysia* **53**(1): 49—55.
- Moncalvo, J. M. 1997. *Evaluation of fungi biological diversity in the tropics: Systematics perspective*. Dalam: Janardhanan, K.K., C. Rajendran, K.

- Natarajan & D.L. Hawksworth (eds). 1997. *Tropical mycology*. Science Publications Inc., Enfield: 1–26.
- Ng, W. K. 2003. The potential use of palm kernel meal in aquaculture feeds. *Aquaculture Asia* **8**(1): 38—29.
- Nur, H. S. 2009. Sukses mikroba dan aspek biokimiawi fermentasi mandai dengan kadar garam rendah. *Makara Sains* **13**(1): 13—16.
- Odum, E.P. 1971. *Fundamentals of ecology*. W.B. Saunders Company, Philadelphia: xvi + 574 hlm.
- Pelczar, M.J & E.C.S. Chan, 1986. *Dasar-dasar mikrobiologi I*. Terj. Dari Elements of microbiology, oleh Hadioetomo, R.S., T. Imas, S.S. Tjitrosomo & S.L. Angka. UI-Press, Jakarta: vii + 443 hlm.
- Peiji, G., Q. Yindo, Z. Xin, Z. Mingtian & D. Yongcheng. 1997. Screening microbial strain for improving the nutritional value of wheat and corn straws as animal feed. *Enzyme Microbial Technology* **20**: 581—584.
- Perez, R. 1997. *Feeding pigs in the tropics--Chapter 4 African oil palm*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome: 132. www.fao.org/ag/aga/AGAP/FRG/APH132/chap4.htm. 22 November 2009, pk. 07.24 WIB.
- Rapper, K.B & D.I. Fennell. 1965. *The genus Aspergillus*. The Williams & Wilkins Company, Baltimore: ix + 686 hlm.
- Rochima, E. 2005. The dynamics of the number of bacteria during fermentation during salted fish jambal roti processing. *Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran*: 1—8.
- Samson, R. A., E. S. Hoekstra, J. C. Frisvad & O. C. Filtenborg. 1995. *Introduction to food-borne fungi*. 4th ed. Centralbureau voor Schimmelcultures, Delft: 322 hlm.
- Scrimgeour, C. 2005. *Chemistry of fatty acids*. Bailey's Industrial Oil and Fat Product Media Wiley, New York: 42 hlm.
- Sinurat, A. P. 2003. Pemanfaatan lumpur sawit untuk bahan unggas. *Buletin Ilmu Peternakan Indonesia (Wartazoa)* **13**(2): 39—46.

- Soetjiharto, M. 1997. Isolasi jamur tanah pendegradasi lignoselulosa dan aplikasinya dalam memperbaiki nilai nutrisi pakan berserat. *Skripsi*. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, Bogor: xi + 53 hlm.
- Suyanto, 2001. Solid state fermentation of tropical biomass by filamentous fungi. *Thesis*. Yamanashi University. Yamanashi: iii + 71 hlm.
- Turner. 1982. Oil palm diseases in South-east Asia and South Pacific *dalam* Corley, R. H. V., J.J. Hardon & B. J. Wood (eds.). 1982. *Oil Palm Research*. Elsevier Scientific Publishing Co., New York: xix + 532 hlm.
- Volchatova, I. V., L. A. Belovezhets & S. A. Medvedeva. 2002. Microbiological and biochemical investigation of succession in lignin-containing compost piles. *Microbiology* **71**(4): 467—470.
- Wirakusumah, S. 2003. *Dasar-dasar ekologi menopang pengetahuan ilmu-ilmu lingkungan*. UI-Press, Depok: xiv + 153 hlm.



Gambar 1.8. *Palm Kernel Meal*



Gambar 1.9. Biokonversi *Palm Kernel Meal*

Tabel 1.3. Dinamika isolat fungi selama 7 hari biokonversi PKM

No	Kelompok	Biokonversi (hari)							
		H ₀	H ₁	H ₂	H ₃	H ₄	H ₅	H ₆	H ₇
1	<i>Aspergillus</i>	3	3	1	3	-	-	-	-
2	<i>Mucor</i>	1	1	1	6	12	1	1	1
3	<i>Penicillium</i>	2	-	10	-	1	-	-	19
4	<i>Geotrichum</i>	-	45	82	24	35	64	22	53

Tabel I.4. Kisaran diameter (cm) koloni fungi pada medium selektif Mimura dengan suhu 27—30°C selama 5—7 hari.

No	Kelompok	Diameter (cm)
1.	<i>Aspergillus</i>	3--7
2.	<i>Mucor</i>	3--9
3.	<i>Penicillium</i>	1—2,2
4.	<i>Geotrichum</i>	5,8—6,2

Tabel I.5. Kisaran suhu ($^{\circ}\text{C}$) dan kelembapan (%) lingkungan biokonversi *Palm Kernel Meal*.

Biokonversi (hari)	suhu ($^{\circ}\text{C}$)	kelembapan(%)
H0	30,6	52
H1	29,7	45
H2	29,3	50
H3	29,6	48
H4	30,7	56
H5	30,5	56
H6	30,1	52
H7	30,7	54

Makalah II

FERMENTASI *PALM KERNEL MEAL* OLEH FUNGI INDIGENOS TERPILIH

Dwi Pangestu

dwi_pang@yahoo.com

ABSTRACT

The research purpose was to evaluate the effect of fungi on Palm Kernel Meal (PKM) fermentation process using four isolates: *Aspergillus flavus*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium chrysogenum*, and *Mucor racemosus*, on the changes of chemical compositions of the substrate. The isolates were incubated on Potato Dextrose Agar (PDA) for five days at 27--30°C. Proximate analysis shown after 7 days fermentation, using the fungus *Aspergillus flavus* increased (1,04%), *Geotrichum candidum* (2,22%), *Penicillium chrysogenum* (2,45%) and *Mucor racemosus* (4,79%). Upgrading crude fiber content of Palm Kernel Meal without inoculant was (6,24%), with inoculant *Geotrichum candidum* (1,93%), *Aspergillus flavus* (3,03%), *Mucor racemosus* (4,32%), and *Penicillium chrysogenum* (14,11%).

Key Words: Fermentation, indigenous fungi, nutrient composition, palm kernel meal

PENDAHULUAN

Palm Kernel Meal merupakan limbah organik industri minyak kelapa sawit di perkebunan Indonesia. Limbah organik tersebut belum termanfaatkan secara maksimal sehingga jumlahnya setiap tahun semakin bertambah. Akuakultur merupakan salah satu bidang dalam industri perikanan yang menggunakan *Palm Kernel Meal* untuk mengkultur larva *Hermetia illucens* L. sebagai salah satu alternatif solusi pengganti tepung ikan. Namun demikian, tingginya kandungan serat kasar menurunkan

kemampuan daya cerna larva *Hermetia illucens* L. terhadap *Palm Kernel Meal*.

Tabel II.1. Komposisi proksimat *Copra Meal*, *Palm Kernel Meal* dan produk fermentasinya (%) (Dairo & Fasuyi, 2007)

Parameter	<i>Copra Meal</i>	<i>Copra Meal</i> terfermentasi	<i>Palm Kernel Meal</i>	<i>Palm Kernel Meal</i> terfermentasi
Protein kasar	19.63	23.11	20.04	23.42
Serat kasar	16.00	11.63	15.47	12.44
Abu	7.01	8.54	7.56	8.33
Kadar kering	87.85	90.82	91.80	91.83
Energi metabolisme (MJ kg ⁻¹)	12.55	10.77	11.69	11.12

Tabel II.2. Komposisi asam amino *Palm Kernel Meal* (PKM) dan *Copra Meal* (CM) yang terfermentasi dan yang tidak terfermentasi (16 n/g) (Dairo & Fasuyi, 2007)

Asam amino	PKM tidak terfermentasi	CM tidak terfermentasi	PKM terfermentasi	CM terfermentasi
Protein kasar N x 6.25 (%)	18.71	20.93	23.04	23.11
Arginin	2.38	1.97	2.41	1.99
Sistein	0.22	0.25	0.27	0.30
Histidin	0.30	0.40	0.33	0.39
Aspartat	1.63	1.62	1.63	1.63
Glutamat	3.43	3.58	3.54	3.69
Treonin	0.59	0.66	0.60	0.67

Tirosin	0.45	0.46	0.46	0.44
Valin	0.79	0.90	0.82	0.84
Lisin	0.60	0.47	0.81	0.54
Isoleusin	0.59	0.60	0.63	0.63
Metionin	0.33	0.36	0.45	0.48
Fenilalanin	0.72	0.79	0.77	0.85
Prolin	0.59	0.70	0.62	0.77
Serin	0.76	0.90	0.79	0.95
Glisin	0.84	0.89	0.88	0.91
Alanin	0.80	0.81	0.82	0.84

Biokonversi merupakan salah satu cara untuk meningkatkan nilai kegunaan *Palm Kernel Meal*. Hem *et al.*, (2008) mendefinisikan biokonversi sebagai pemanfaatan suatu bahan organik seperti sisa-sisa hewan atau tumbuhan yang digunakan untuk menghasilkan sumber energi melalui proses biologi atau melibatkan agen, seperti mikroorganisme atau enzim. Konsep biokonversi telah dilakukan oleh *Institut de Recherche pour le Developpement* (IRD) pertama kali untuk program pengembangan akuakultur di Republik Guinea.

Pengelolaan limbah *Palm Kernel Meal* dalam memproduksi larva *Hermetia illucens* L. sangat sederhana, tidak memerlukan teknologi tinggi, serta tidak memerlukan biaya operasional yang besar (Hem *et al.*, 2008). Biokonversi *Palm Kernel Meal* menjadi pakan larva *Hermetia illucens* L.

diawali dengan cara fermentasi. Menurut Gandjar *et al.*, (2006), fermentasi merupakan proses penguraian senyawa kompleks organik menjadi senyawa yang lebih sederhana oleh mikroorganisme, proses penguraian dapat terjadi dalam lingkungan aerob atau anaerob. Fermentasi merupakan sarana pertumbuhan yang baik untuk menumbuhkan larva *Hermetia illucens* L. atau lebih dikenal dengan *Black Soldier Fly* (Newton, *et al.*, 2005). Hem *et al.*, (2008) menjelaskan bahwa fermentasi *Palm Kernel Meal* untuk biokonversi pakan maggot bertujuan untuk meningkatkan daya cerna dan nafsu makan larva *Hermetia illucens* L. Larva *Hermetia illucens* L. tersebut kemudian akan dijadikan pakan ikan dengan kandungan protein memadai.

Selama fermentasi berlangsung, ada peran mikroorganisme dalam menguraikan *Palm Kernel Meal*. Mikroorganisme merupakan agen yang sangat berperan penting dalam merombak senyawa-senyawa organik pada *Palm Kernel Meal*. Lim *et al.*, (2001) melaporkan bahwa hanya ruminansia yang dapat menguraikan *Palm Kernel Meal* di dalam saluran pencernaannya secara maksimal dengan bantuan mikroorganisme (fungi dan bakteri), karena enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme tersebut dapat menghidrolisis dinding selulosa *Palm Kernel Meal*. Choct (2001) melaporkan bahwa mikroorganisme (fungi dan bakteri) memiliki enzim yang sangat kompleks sehingga menjadi kunci utama untuk melakukan biodegradasi dalam menguraikan *Palm Kernel Meal*. Beberapa mikroorganisme telah digunakan untuk membantu proses fermentasi substrat padat ini.

Purwadaria (2003) menggunakan *Aspergillus oryzae* GS-66 untuk mengetahui aktivitas fitase serta kadar P total dan terlarut selama proses fermentasi *sludge* kelapa sawit kering dan dedak padi. Sukara (1988) menggunakan *Rhizopus oligosporus* dalam proses fermentasi substrat padat untuk pembuatan tempe sedangkan Henkel (2005) menggunakan *Rhizopus* sp. pendegradasi selulosa untuk menghasilkan minuman berfermentasi. Adapun penelitian-penelitian yang telah dilakukan mengenai pengolahan bungkil inti sawit (BIS), antara lain fermentasi dilakukan oleh jamur *Marasmius* sp. sedangkan fermentasi serat sawit dan jerami padi dilakukan oleh fungi *Ganoderma lucidum* untuk meningkatkan efisiensi dan ketersediaan pakan ruminansia.

Penelitian bertujuan mengetahui kandungan serat kasar dan protein kasar substrat *Palm Kernel Meal* yang terfermentasi oleh fungi indigenos terpilih.

LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium *Institut de recherche pour le developpement* (IRD), Balai Riset Budidaya Ikan Hias Departemen Kelautan dan Perikanan, Jl. Perikanan No. 13 Pancoran Mas, Depok dan di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, pada bulan April--Oktober 2009.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Potato Dextrose Agar* (PDA), Tetrasiklin (Sigma), Asam Sulfat dan Natrium Hidroksida (Sigma), Laktofenol, *Metyl Blue*, *Metyl Red*, dan Etanol teknis. Substrat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Palm Kernel Meal* asal Lampung.

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah wadah plastik berbentuk persegi panjang berukuran 28 x 20 x 20 cm, penggiling tepung, mikroskop, timbangan analitik, pH meter [Thermo], *vortex* [Bio-Rad], *magnetic stirrer* [Ika[®]RH-KT/C], *microwave oven* [General Electric], transfer box, kamera digital [Nikon], *deep freezer* -80°C [Angelantoni Scientifica], autoklaf [Mediclav 2000 AS], mesin pembuat es [Hoshizaki & NordCap], alat analisis proksimat (Buchi 321 dan Velp Scientificita DK), oven [Bicasa Termostatica], lemari pendingin [LG & Toshiba].

Mikroorganisme : Isolat *Mucor racemosus*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus flavus*, dan *Geotrichum candidum* yang diisolasi dari *Palm Kernel Meal* asal Lampung.

Cara Kerja

Pembuatan Inokulum

Isolat kapang berumur 5 hari (*M. racemosus*, *P. chrysogenum*, *A. flavus*, dan *G. candidum*) ditumbuhkan pada medium PDA miring pada suhu 27—30°C. Akuades steril sebanyak 5 ml ditambahkan ke kultur miring. Spora biakan dikerik menggunakan jarum ose sampai terbentuk suspensi, kemudian dihomogenkan memakai *vortex mixer*. Suspensi kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 100 ml steril. Penghitungan jumlah spora per ml suspensi dilakukan dengan penghitungan *colony form unit* (cfu). Inokulum dengan jumlah spora $(3,47—6,40) \times 10^5$ dimasukkan ke dalam substrat PKM dan diinkubasi selama 5 hari pada suhu 27--30°C untuk dijadikan starter.

Pembuatan medium fermentasi

Komposisi medium fermentasi yang digunakan adalah *Palm Kernel Meal* masing-masing sebanyak 10 g, 4 ml larutan mineral dan 0,6 g ammonium nitrat yang dilarutkan dalam 35 ml akuades. Selanjutnya dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 ml ditutup dengan kapas dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C, 2 atm selama 15 menit. Setelah sterilisasi dilakukan pengaturan pH menjadi 5,0 dengan penambahan HCl atau NaOH (Suyanto 2001).

Fermentasi

Fermentasi dilakukan selama 7 hari. Medium fermentasi yang telah ditambahkan akuades steril (1:2) didinginkan, kemudian starter diinokulasikan dengan konsentrasi 10 % (b/b). Medium yang telah diinokulasi diinkubasikan pada suhu 27--30⁰C. Selama masa inkubasi setiap hari dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan fungi. Pengambilan sampel dilakukan pada hari ke-0, dan 7 untuk serat kasar sedangkan protein kasar hari ke-0, 7 dan 21. Substrat dimasukkan dalam plastik dan disimpan pada suhu -20 ⁰C.

Analisis Proksimat (Hart & Fisher, 1971)

Analisis proksimat yang dilakukan meliputi uji protein kasar, serat kasar, kadar kering, dan kadar abu pada sampel hari ke-0 dan ke-7.

Uji protein kasar

Oksidasi

Sampel uji ditimbang $\pm 0,1$ g, dimasukkan dalam tabung Kjeldahl, ditambahkan 3 buah batu didih pada tiap-tiap tabung, $\frac{1}{2}$ tablet Kjeldahl, dan 10 ml larutan H₂SO₄ 96%, dilakukan proses oksidasi selama 60 menit pada suhu 375⁰C, setelah proses selesai, sampel diangkat dan dinginkan.

Destilasi

H₂O (30 ml) dan NaOH (20 ml) ditambahkan ke dalam hasil oksidasi (penambahan NaOH ke dalam tabung kjeldahl maksimal 100 ml, saat penambahan NaOH larutan harus sampai berwarna gelap/kecoklatan). Larutan asam borat, air, dan etanol (*metyl blue* 0,1%, *metyl red* 1%) ditambahkan ke dalam Erlenmeyer sebagai wadah penampung hasil destilasi. Destilasi dilakukan selama ± 5 menit sampai volume gelas ukur ± 80 ml, setelah destilasi selesai dilanjutkan dengan proses titrasi.

Titration

Titration dilakukan dengan 1/25 M larutan H₂SO₄. Larutan H₂SO₄ ditambahkan, dan dihentikan apabila larutan hasil destilasi berubah warna (hijau menjadi ungu), volume H₂SO₄ yang ditambahkan dicatat.

Rumus hitung protein kasar:

$$VST \text{ (mg N/mL acid)} = 5 / (VS-VB)$$

$$\text{Protein Kasar (\%)} = \frac{(VA-VB) \times 6.25 \times VST}{MS}$$

Keterangan:

VA = Volume sampel

VB = Volume blanko

VS = Volume standard

MS = Massa sampel

Uji serat kasar (*crude fiber*)

Sampel uji (bobot sampel) yang sudah dikeringkan dan digiling ditimbang 0,5--1,0 g. Selanjutnya dilakukan pengasaman, netralisasi, filtrasi, pengeringan, dan pembakaran.

Pengasaman

Akuades sebanyak 200 ml dan 6,8 ml H₂SO₄ 40% ditambahkan (konsentrasi akhir 1,25%) ke dalam beaker glass 1000 ml, ditambahkan 2 tetes 1-octanol (*antifoaming agent*). *Beaker glass* diletakkan dan dirangkaikan alat pada *crude fiber system*. Termostat dihidupkan hingga level ke-3 (suhu maksimum), ditunggu hingga mendidih. Setelah mendidih, diturunkan termostat menjadi level ke-2, tujuannya untuk menjaga agar suhu tidak terlalu panas (tetap stabil sesuai dengan panas yang diinginkan). Sampel dimasukkan dan dibiarkan mendidih selama kurang lebih 30 menit.

Netralisasi

NaOH 40% ditambahkan sebanyak 6,8 ml untuk menetralkan larutan menjadi pH 7. Level termostat diturunkan hingga ke-1 agar larutan tetap hangat selama proses filtrasi berlangsung.

Proses filtrasi

Larutan ekstrak PKM dituangkan ke dalam *tube* sentrifus. Berat *tube* diseimbangkan dan diputar pada 2000 rpm selama 1 menit. Supernatan dituangkan pada filter funnel (no.1). Sentrifus diteruskan hingga larutan dalam *beaker glass* habis. Tabung sentrifus dibilas dengan 30 ml air hangat,

dilakukan sebanyak dua kali. Sisa ekstrak PKM yang menempel dituangkan ke dalam tabung sentrifus pada bilasan terakhir.

Pengeringan

Filter funnel (no.1) yang mengandung ekstrak PKM diambil dan dicuci bagian bawah filter untuk membuang semua sisa supernatan, filter funnel yang berisi ekstrak PKM dimasukkan ke dalam oven yang bersuhu 105 °C selama 12 jam.

Pembakaran

Filter funnel yang mengandung ekstrak PKM kering dipindahkan dari oven ke dalam desikator. Filter funnel tersebut yang mengandung ekstrak kering (bobot kering) ditimbang, kemudian dimasukkan dalam tanur (*furnace*) yang bersuhu 500 °C. selama 4 jam. Filter funnel yang mengandung ekstrak abu dipindahkan dari *furnace* ke dalam desikator, filter funnel yang mengandung ekstrak abu (bobot abu) ditimbang.

Rumus hitung serat kasar:

$$\text{Crude fiber / Serat kasar} = \frac{BKr - BA}{BS} \times 100$$

Keterangan :

BKr : bobot kering sampel (g)
BA : bobot abu (g)
BS : bobot sampel (g)

Uji kadar kering (*dry matters*)

Sebanyak 0,5 g sampel ditimbang dalam aluminium foil (yang sudah diketahui beratnya), dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 12 jam dimasukkan dalam desikator selama ± 10 menit, setelah beratnya stabil dilakukan penimbangan. Prosedur dilakukan sebanyak tiga kali ulangan.

Kadar sampel kering dihitung menggunakan rumus :

Rumus hitung kadar kering:

$$\% \text{ DM} = \frac{BO - BK}{BI - BK} \times 100 \%$$

Keterangan :

DM (*dry matter*) : kadar kering (%)

BK : bobot aluminium foil kosong (g)

BI : bobot aluminium foil yang berisi sampel (g)

BO : bobot aluminium foil berisi sampel setelah dioven (g)

Uji kadar abu (*ash*)

Sebanyak 0,5 g sampel ditimbang lalu dimasukkan ke dalam aluminium foil (yang sudah diketahui beratnya), dikeringkan ke dalam oven pada suhu ± 105° C selama 12 jam, dimasukkan dalam desikator selama ± 10 menit, setelah beratnya stabil dilakukan penimbangan. Sampel yang sudah dikeringkan (bobot kering) dimasukkan ke dalam pembakar *furnace* pada suhu 500 °C selama 4 jam, dikeluarkan sampel dan disimpan dalam

desikator selama ± 15 menit. Penimbangan dilakukan setelah berat sampel stabil, dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Sampel dihitung sebagai bobot abu dengan menggunakan rumus :

Rumus hitung kadar abu (*ash*):

$$\% \text{ Ash} = \frac{BKr - BK}{BA - BK} \times 100 \%$$

Keterangan :

Abu : kadar abu (%)

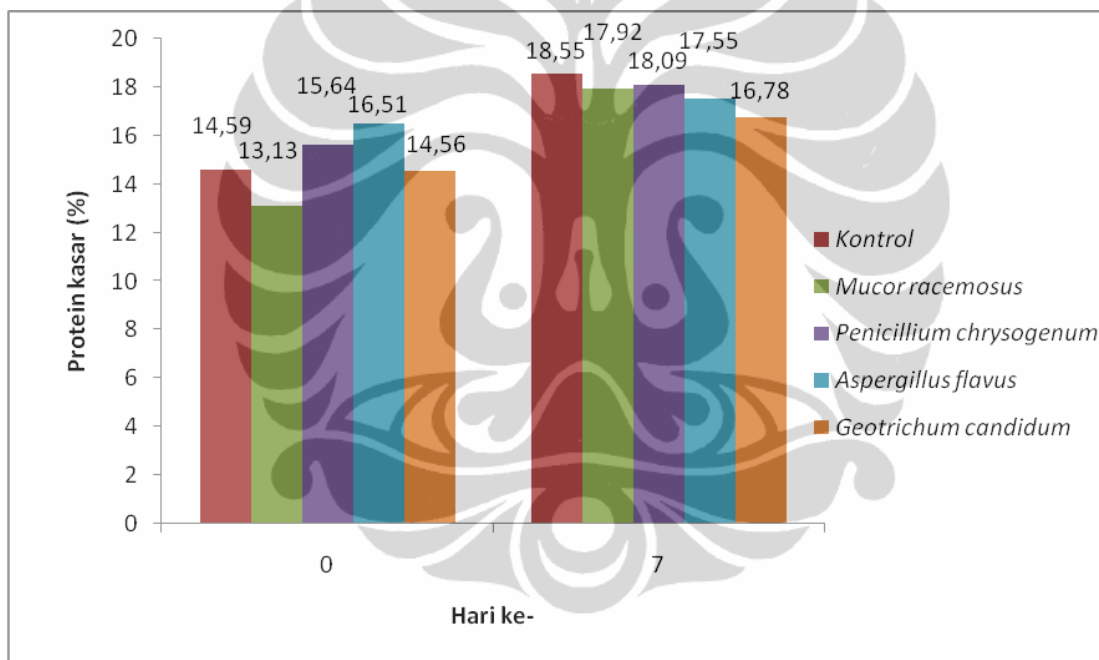
BK : bobot aluminium foil kosong (g)

BKr : bobot sampel setelah di oven (g)

BA : bobot abu setelah dimasukkan ke dalam tanur (g)

HASIL DAN PEMBAHASAN

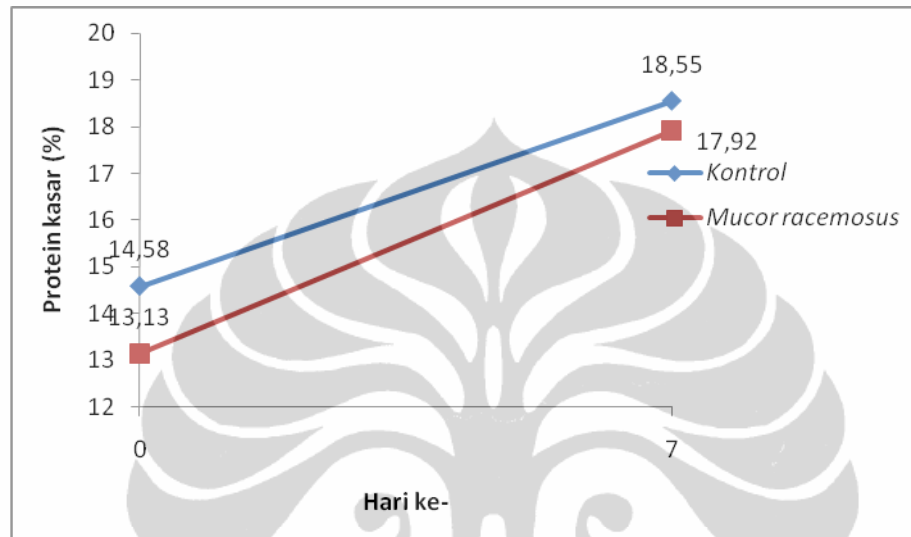
Fungi yang digunakan dalam penelitian berdasarkan skrining pertumbuhan dan dinamika fungi selama proses biokonversi *Palm Kernel Meal* adalah *M. racemosus*, *P. chrysogenum*, *A. flavus*, dan *G. candidum*. Gambar II.1. menunjukkan hasil kandungan protein kasar hasil fermentasi *Palm Kernel Meal* oleh *M. racemosus*, *P. chrysogenum*, *A. flavus*, dan *G. candidum*.



Gambar II.1. Persentase protein kasar *Palm Kernel Meal* sebelum dan setelah 7 hari fermentasi oleh kapang indigenos terpilih pada suhu 27—30 °C.

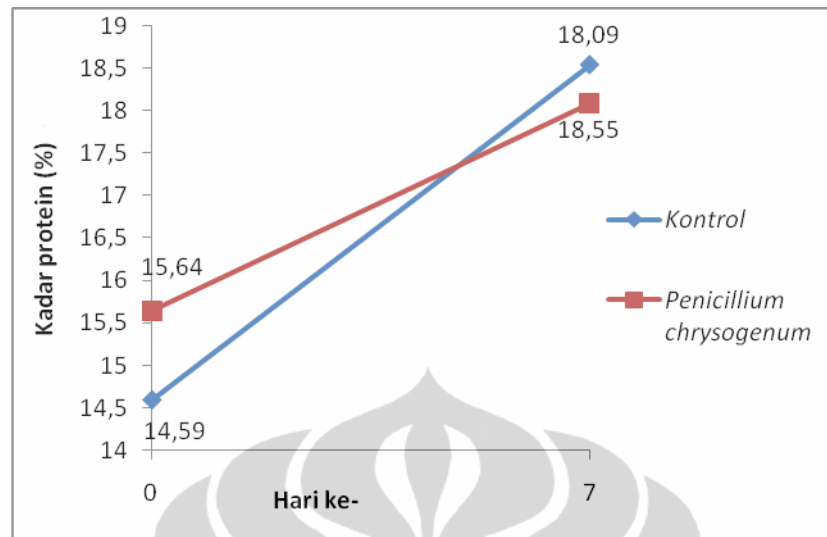
Gambar II.1. menunjukkan penambahan inokulum fungi indigenos memengaruhi kandungan protein kasar *Palm Kernel Meal*. Setelah 7 hari

fermentasi, perlakuan kontrol mengalami peningkatan sebesar 3,96 %, *M. racemosus* sebesar 4,79 %, *P. chrysogenum* sebesar 2,45 %, *G. candidum* 2,22%, dan *A. flavus* sebesar 1,04%.

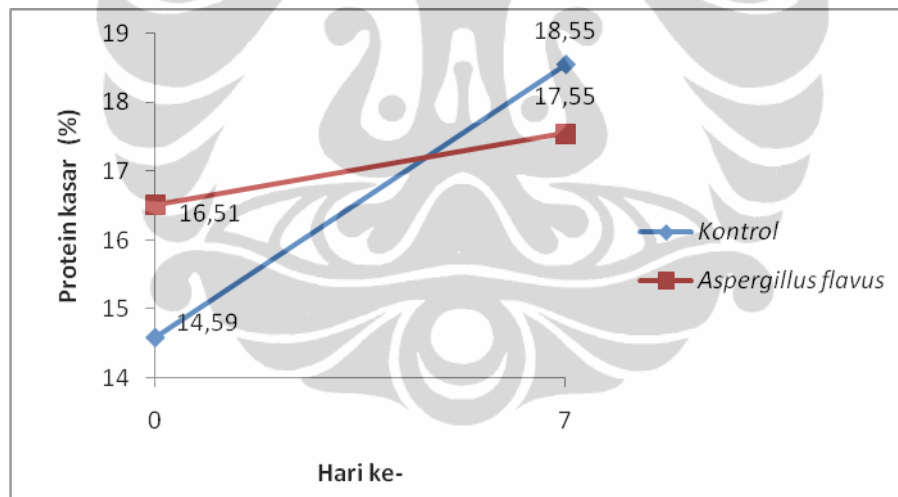


Gambar II.2. Persentase protein kasar *Palm Kernel Meal* yang di fermentasi *Mucor racemosus* pada suhu 27—30 °C.

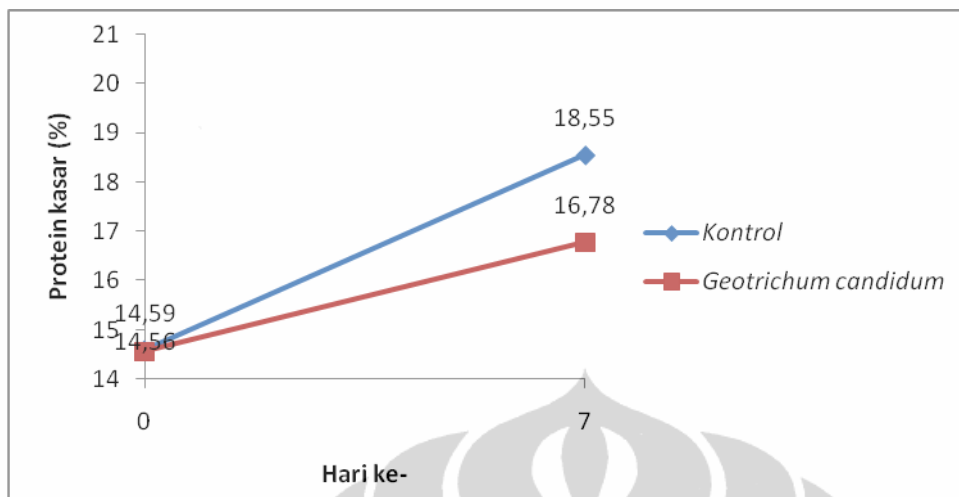
Gambar II.2. menunjukkan grafik laju produksi protein kasar *Palm Kernel Meal* yang difermentasikan oleh *M. racemosus*. Sebelum fermentasi, kandungan protein kasar *Palm Kernel Meal* sebesar 14,58 %, kemudian hari ke-7 fermentasi mengalami peningkatan menjadi 17,92%. Peningkatan protein kasar oleh *M. Racemosus* sebesar 4,79% lebih tinggi dari kontrol 3,96%.



Gambar II.3. Persentase protein kasar *Palm Kernel Meal* yang di fermentasi *Penicillium chrysogenum* pada suhu 27—30 °C.



Gambar. II.4. Persentase protein kasar *Palm Kernel Meal* yang di fermentasi oleh *Aspergillus flavus* pada suhu 27—30 °C.



Gambar. II.5. Persentase protein kasar *Palm Kernel Meal* yang di fermentasi oleh *Geotrichum candidum* pada suhu 27—30 °C.

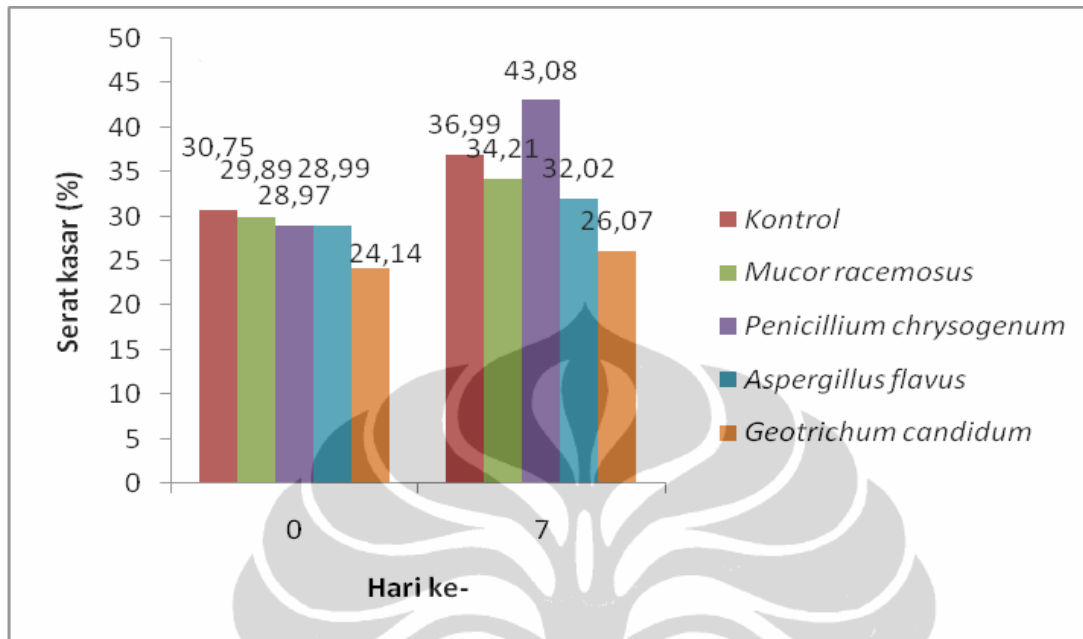
Gambar II.3, II.4, dan II.5 menunjukkan terjadinya peningkatan kandungan protein kasar *Palm Kernel Meal* yang difermentasi selama 21 hari oleh *P. chrysogenum*, *A. flavus*, dan *G. candidum*. Peningkatan kandungan protein kasar oleh *P. chrysogenum* dari 15,64% menjadi 18,09% (gambar II.3.). Gambar II.4. menunjukkan kandungan protein kasar *Palm Kernel Meal* yang dalam fermentasinya diinokulasikan *A. flavus*. Kandungan protein kasar *Palm Kernel Meal* sebelum diinokulasikan *A. flavus* sebesar 16,51 %; sedangkan setelah 7 hari fermentasi menjadi 17,55%. Gambar II.5. menunjukkan peningkatan kandungan protein kasar *G. candidum* dari 14,56% menjadi 16,78%.

Peningkatan kandungan protein kasar dalam kandungan nutrisi *Palm Kernel Meal* setelah 21 hari fermentasi disebabkan oleh karena pertumbuhan mikroorganisme dan senyawa yang diproduksinya. Tillman *et al.*, (1984)

menyatakan bahwa penambahan larutan mineral, amonium nitrat, dan inokulum memengaruhi peningkatan protein kasar. Protein kasar mengandung N total yang berasal dari N protein, asam amino, amonium nitrat, glikosida yang mengandung N, glikolipid, vitamin B, dan asam nukleat. Pernyataan ini didukung oleh Bintang *et al.*, (2000) yang melaporkan bahwa peningkatan protein terjadi karena pertumbuhan fungi selama proses fermentasi berlangsung. Enzim proteolitik yang dimiliki masing-masing kapang diduga juga memengaruhi peningkatan protein tersebut.

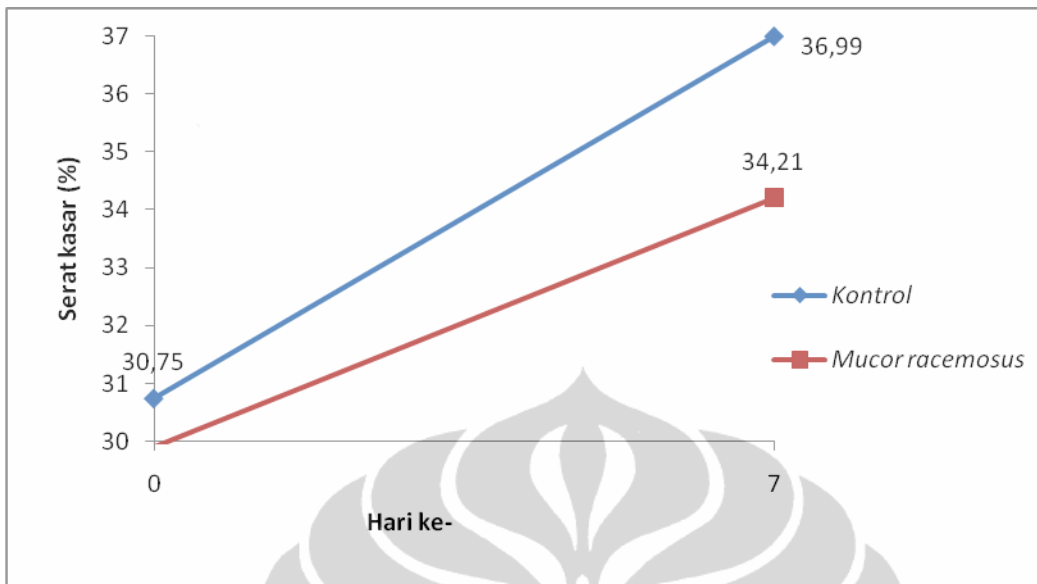
Pasaribu *et al.*, (1998) juga menyatakan bahwa peningkatan protein juga bisa disebabkan oleh perubahan N anorganik menjadi protein sel. Bilgrami & Verma (1994) melaporkan asam organik, asam amino, gula, protein, dan asam nukleat terdapat dalam spora fungi. *Aspergillus* mampu meningkatkan kandungan protein ketika konidianya melakukan germinasi (Bilgrami & Verma 1994; Raimbault, 1998; Hutagulung 2003).

Gambar II.1. dan II.2 menunjukkan hasil penurunan protein kasar oleh perlakuan *M. racemosus* setelah 7 hari proses fermentasi *Palm Kernel Meal*. Menurut Mitchell *et al.*, (1999), penurunan tersebut dapat terjadi dikarenakan kandungan N dalam dinding sel fungi tidak terhitung dalam analisis N metode Kjeldahl. Setelah 7 hari proses fermentasi, kapang mengalami fase pertumbuhan stasioner sehingga metabolismenya mengalami penurunan (Boyle & Kropp 1992; Noviati 2002).

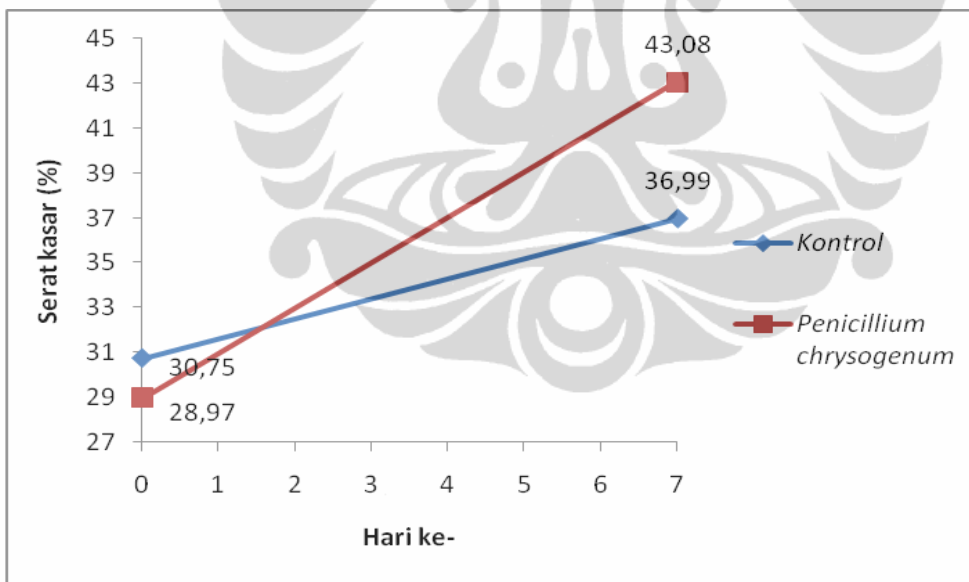


Gambar II.6. Persentase serat kasar *Palm Kernel Meal* sebelum dan setelah 7 hari fermentasi oleh fungi indigenos terpilih, suhu 27—30 °C.

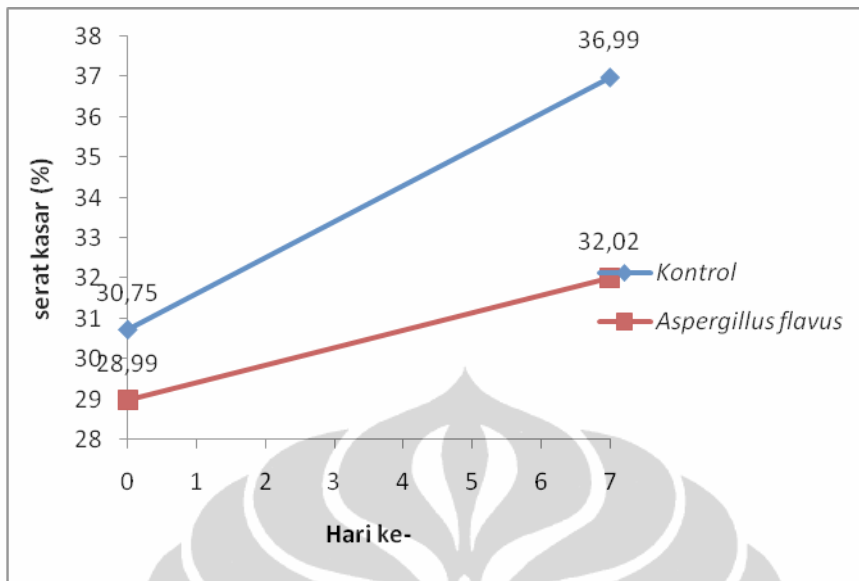
Gambar II.6. menunjukkan pengaruh fungi indigenos terhadap komposisi serat kasar *Palm Kernel Meal*. Persentase peningkatan serat kasar tanpa inokulan (kontrol) sebesar 6,24 %; perlakuan dengan inokulasi *M. racemosus* sebesar 4,32%; perlakuan dengan inokulasi *P. chrysogenum* sebesar 14,11%; perlakuan dengan inokulasi *A. flavus* sebesar 3,03%, dan *G. candidum* sebesar 1,93%.



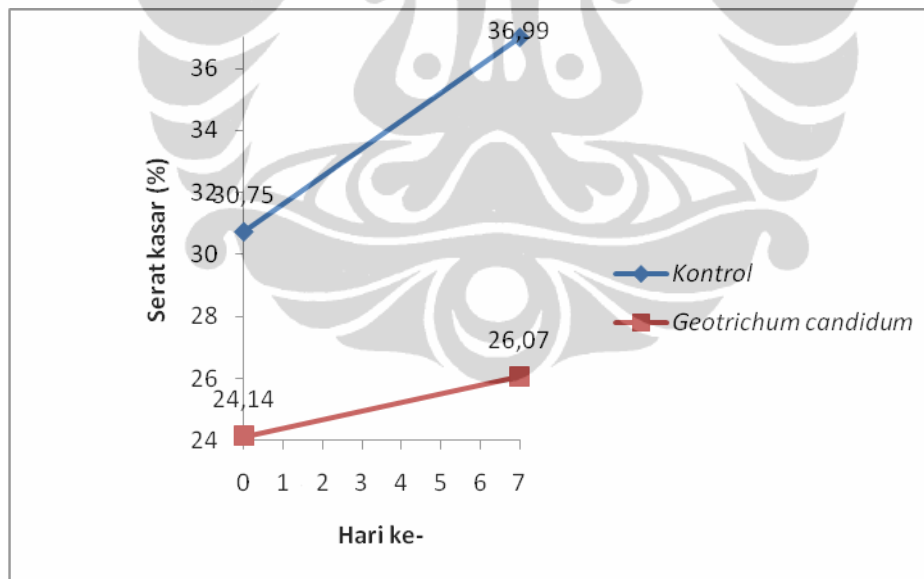
Gambar II.7. Persentase serat kasar *Palm Kernel Meal* yang di fermentasi oleh *Mucor racemosus* pada suhu 27—30 °C.



Gambar II.8. Persentase serat kasar *Palm Kernel Meal* yang di fermentasi oleh *Penicillium chrysogenum* pada suhu 27—30 °C.



Gambar II.9. Persentase serat kasar *Palm Kernel Meal* yang di fermentasi oleh *Aspergillus flavus* pada suhu 27—30 °C.



Gambar II.10 Persentase serat kasar *Palm Kernel Meal* yang di fermentasi oleh *Geotrichum candidum* pada suhu 27—30 °C.

Hasil yang diperoleh melalui Gambar II.6, II.7, II.8, dan II.9 menunjukkan adanya perbedaan serat kasar *Palm Kernel Meal* yang difermentasi oleh fungi indigenos dengan kontrol. Hasil kandungan serat kasar *Palm Kernel Meal* yang diinokulasikan *M. racemosus*, *A. flavus*, dan *G. candidum* peningkatannya lebih rendah dibandingkan tanpa inokulan (kontrol).

Serat kasar terdiri dari komponen kimiawi selulosa, hemiselulosa dan lignin (Robinson, 1999). Kandungan lignin dalam komposisi serat kasar umumnya terikat dengan matriks polisakarida lain dan menyebabkan pengerasan dinding sel sehingga mencegah degradasi biokimia dan kerusakan fisik dinding sel (Knudsen, 1997). Persentase kandungan selulosa, hemiselulosa, dan lignin *Palm Kernel Meal* yang diberi perlakuan menunjukkan hasil yang lebih rendah dibandingkan kontrol setelah 7 hari fermentasi ditunjukkan oleh Gambar II.6 dan II.8. Perlakuan tanpa inokulan menunjukkan peningkatan persentase kandungan serat kasar sebesar 6,24%, perlakuan berupa inokulan *M. racemosus* sebesar 4,32%, perlakuan dengan inokulan *A. flavus* sebesar 3,03%, dan perlakuan dengan inokulan *G. candidum* sebesar 1,93%. Persentase yang lebih rendah tersebut disebabkan adanya pengaruh *M. racemosus*, *A. flavus*, dan *G. candidum*.

A. flavus, *M. racemosus* dan *G. candidum* mempunyai kemampuan mendegradasi serat kasar lebih tinggi dibandingkan *P. chrysogenum*. Witkowska & Piegza (2006) melaporkan *G. candidum* memiliki kemampuan

memproduksi selulosa dan silanase. Hal ini terlihat dengan peningkatan aktivitas selulase dan silanase melalui serangkaian pengujian menggunakan medium mineral yang ditambahkan sumber karbon dari bubur gula bit, gandum, CMC, dan glukosa.

Fungi dari genus *Aspergillus* telah banyak digunakan untuk mendegradasi serat kasar (lignoselulosa) substrat jerami padi, serat sawit, meningkatkan jerami padi dan meningkatkan nutrisi jerami padi (Syafii 1995; Suhartati *et al.*, 1998). Salah satu contoh spesies *Aspergillus* dan *Mucor* yang digunakan untuk mendegradasi serat kasar lignoselulosa adalah *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *A. oryzae* dan *Mucor* sp. (Schlegel, 1986 ; Graham & Balnave, 1995; Purwadaria *et al.*, 1997).

Berbeda dengan *M. racemosus*, *A. flavus*, dan *G. candidum*, persentase serat kasar yang diperoleh dari hasil fermentasi *Palm Kernel Meal* dengan inokulan berupa *P. chrysogenum* mengalami peningkatan. Berdasarkan hasil tersebut (Gambar II.7), kemampuan *P. chrysogenum* dalam mendegradasi lignin, selulosa dan hemiselulosa lebih rendah dibandingkan *M. racemosus*, *A. flavus* dan *G. candidum*. Perubahan kandungan serat kasar terjadi karena komponen *Palm Kernel Meal* mengalami perubahan struktur dan komposisi kimia. Struktur kimia selulosa berbentuk kristal yang lebih banyak dalam substrat *Palm Kernel Meal* daripada berbentuk amorf diduga memengaruhi kemampuan degradasi *P. chrysogenum*.

Kemampuan fungi indigenos *P. chrysogenum* dalam menghasilkan enzim ligninase, selulase, hemiselulase dan lipase memengaruhi aktivitas *P. chrysogenum* dalam memperbaiki nilai nutrisi *Palm Kernel Meal*. Substrat *Palm Kernel Meal* asal Lampung yang digunakan dalam penelitian ini masih mengandung minyak yang lebih tinggi dibandingkan *Palm Kernel Meal* pada umumnya dikarenakan proses pengepresan minyak sawit yang berlangsung hanya satu kali (Komunikasi pribadi dengan Hem, 2009). Komposisi kimiawi serat kasar akan menghambat penggunaan substrat untuk pertumbuhan fungi apabila tidak memiliki enzim yang diperlukan.

Enzim yang digunakan fungi dalam proses fermentasi *Palm Kernel Meal* juga berpengaruh terhadap perbaikan nilai nutrisi *Palm Kernel Meal* sebagai pakan organisme lain. Apabila enzim yang bekerja dengan cara memotong rantai polisakarida secara teratur dari *non-reducing* gula sehingga terbentuk monomer-monomer gula, maka akan menghasilkan gula-gula monomer yang dapat langsung digunakan oleh fungi untuk pertumbuhannya. Hal ini membuat rantai polisakarida yang tersisa menjadi sulit untuk didegradasi di dalam rumen organisme lain. Sebaliknya apabila fungi menghasilkan enzim *endo* (dapat memecah ikatan polisakarida secara acak), maka akan menghasilkan gula-gula oligomer dan monomer. Gula-gula monomer dapat digunakan langsung oleh fungi untuk pertumbuhan akan tetapi gula-gula oligomer harus dipecah terlebih dahulu karena tidak dapat digunakan langsung oleh fungi untuk pertumbuhannya (Soetjiharto, 1997).

Fungi menggunakan hasil fermentasi substrat *Palm Kernel Meal* sebagai sumber energi (Gandjar *et al.*, 2006). Pemanfaatan hasil fermentasi substrat *Palm Kernel Meal* masing-masing fungi persentasenya berbeda. Fungi memanfaatkan hasil fermentasi dengan melakukan penetrasi substrat jika ada kombinasi antara pertumbuhan hifa dan produksi enzim hidrolitik. Kompleksitas enzim lignoselulolitik, Hemiselulase, dan pektinase yang dihasilkan fungi berbeda-beda. Enzim-enzim tersebut memudahkan penetrasi fungi dalam memanfaatkan nutrisi di partikel substrat (Mitchell *et al.*, 1992; Tengerdy, 1992). Witkowska & Piegza (2006) melaporkan *Geotrichum candidum* memiliki kemampuan memproduksi kompleks enzim selulosa dan silanase. Hal ini terlihat dengan peningkatan aktivitas selulose dan silanase melalui serangkaian pengujian menggunakan medium mineral yang ditambahkan sumber karbon dari bubur gula bit, gandum, CMC, dan glukosa.

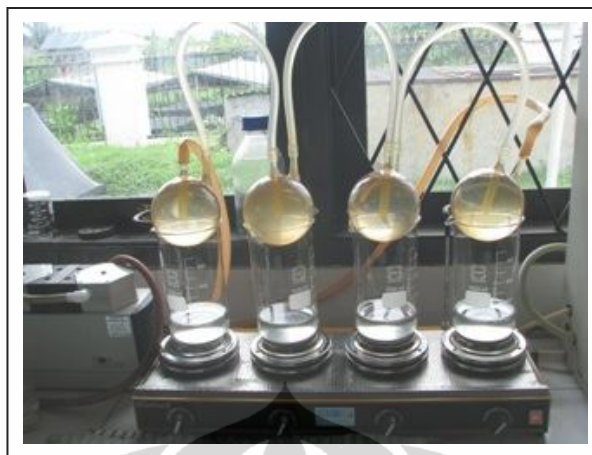
Tabel II.3. Kisaran suhu dan kelembapan lingkungan biokonversi *Palm Kernel Meal*.

Fermentasi (hari)	Suhu (°C)	Kelembapan (%)
H0	30,6	52
H1	29,7	45
H2	29,3	50
H3	29,6	48
H4	30,7	56
H5	30,5	56
H6	30,1	52
H7	30,7	54

Fermentasi *Palm Kernel Meal* sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Suhu dan kelembapan merupakan faktor lingkungan yang memengaruhi pertumbuhan isolat fungi. Pertumbuhan fungi dalam fermentasi substrat padat memproduksi panas, sehingga meningkatkan suhu substrat tersebut (Blanco *et al.*, 1990). Suhu fermentasi terbaik untuk fungi berkisar 20—30°C dengan pH optimum 5.0 (Zadrazil, 1995; Irawadi, 1999; Costerton, 2004). Regulasi suhu secara langsung berhubungan dengan aerasi dan kelembapan dalam substrat fermentasi (Gervais & Molin, 2003). Aerasi dalam fermentasi substrat padat memiliki dua fungsi yaitu sebagai penyuplai oksigen untuk metabolisme aerobik dan mengeluarkan CO₂, panas, uap air, dan komponen volatil yang diproduksi selama metabolisme berlangsung (Chahal, 1968; Tabak & Cooke, 1983).

KESIMPULAN

1. Peningkatan protein kasar setelah 7 hari fermentasi dengan inokulan *P. chrysogenum* sebesar 2,45 %, *G. candidum* sebesar 2,22%, *A. flavus* sebesar 1,04%, dan *M. racemosus* sebesar 4,79 %.
2. Peningkatan serat kasar perlakuan berupa inokulan *G. candidum* sebesar 1,93%, *A. flavus* sebesar 3,03%, *M. racemosus* sebesar 4,32%, dan *P. chrysogenum* sebesar 14,11%.
3. Persentase hasil analisis nutrisi *Palm Kernel Meal* dipengaruhi oleh komponen struktur kimiawi substrat, jumlah dan jenis fungi, kompleksitas produksi enzim, suhu, aerasi serta kelembapan lingkungan.



Gambar II.10. Uji serat kasar *Palm Kernel Meal*.



Gambar II.11. Uji protein kasar *Palm Kernel Meal*.

Tabel II.4 Persentase kandungan serat kasar *Palm Kernel Meal* hasil fermentasi suhu 27—30 °C.

Sampel Hari Ke-	Serat Kasar <i>Palm Kernel Meal</i> (%)				
	Kontrol	<i>M. racemosus</i>	<i>P. chrysogenum</i>	<i>A. flavus</i>	<i>G. candidum</i>
0	30,75	29,89	28,97	28,99	24,14
7	36,99	34,21	43,08	32,02	26,07

Tabel II.5. Kandungan protein *Palm Kernel Meal* hasil fermentasi suhu 27—30 °C.

Biokonversi (hari)	Protein <i>Palm Kernel Meal</i> (%)				
	Kontrol	<i>M.racemosus</i>	<i>P.chrysogenum</i>	<i>A. flavus</i>	<i>G. candidum</i>
0	14,59	13,13	15,64	16,51	14,56
7	18,55	17,92	18,09	17,55	16,78

Tabel II.6. Persentase kelembapan *Palm Kernel Meal* hasil fermentasi suhu 27—30°C.

Sampel	Hari ke-	
	HO	H7
Kontrol	67,55	70,62
<i>M. racemosus</i>	69,06	69,00
<i>P. chrysogenum</i>	63,19	69,85
<i>A. flavus</i>	65,58	65,74
<i>G. candidum</i>	68,83	65,77

Tabel II.7. Persentase kadar abu *Palm Kernel Meal* hasil fermentasi pada suhu 27—30 °C.

Sampel	Biokonversi (hari)	
	HO	H7
Kontrol	3,92	4,50
<i>M. racemosus</i>	4,00	5,88
<i>P. chrysogenum</i>	3,98	6,40
<i>A. flavus</i>	3,02	5,60
<i>G. candidum</i>	3,95	6,10

Tabel II.8. Hasil penghitungan jumlah spora per ml suspensi masing-masing isolat fungi yang digunakan pada awal fermentasi PKM.

No	Isolat	Jumlah spora per ml suspensi ($\times 10^5$ cfu/ml)
1.	<i>A. flavus</i>	4,50
2.	<i>P. chrysogenum</i>	5,40
3.	<i>M. racemosus</i>	4,60
4.	<i>G. candidum</i>	5,00

DAFTAR ACUAN

- Bilgrami, K.S & R.N. Verna. 1994. *Physiology of fungi*. 2nd ed. Vikas Publishing House PVT Ltd., New Delhi: x + 507 hlm.
- Bintang, I.A.K., A.P. Sinurat, T. Puwadaria & T. Pasaribu. 2000. Nutritive value of palm oil sludge fermentation by some incubation process. *Jurnal Ilmu Ternak & Veteriner* **5**(1): 7—11.
- Blanco, P.G., G. S. Castaneda & G. V. Gonzalez. 1990. Protein enrichment of sugar cane by-products using solid state cultures of *Aspergillus terreus*. *Journal of Fermentation and Bioengineering*: 351—354.
- Boyle, C.D & B.R. Kropp. 1992. Development and comparison of methods for measuring growth of filamentous fungi on wood. *Canadian Journal of Microbiology* **38**: 1053—1060.
- Chahal, D.S. 1968. Growth characteristics of microorganisms in solid state fermentation for upgrading of protein values of lignocelluloses and cellulases production. *American Chemistry Society Symposium Series* **207**: 421—442.
- Choct, M. 2001. Nutritional Constraints to Alternatives Ingredients. *African Journal of Biotechnology* **11**(9): 9.
- Costerton, B. 2004. Microbial ecology comes of age and joins the general ecology community. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **101**(49): 16983—16984.
- Dairo, F.A.S & A. O. Fasuyi. 2007. Evaluation of fermented palm kernel meal and fermented copra meal proteins as substitute for soybean meal protein in laying hens diets. *Journal of Central European Agriculture* **9**(1): 35—44.
- Doelle, H.W., D. A. Mitchell & C.E. Carlos. 1992. *Solid substrate cultivation*. Elsevier Applied Science, London: xi + 466 hlm.
- Ezieshi, E. V & J. M. Olomu. 2007. Nutritional evaluation of palm kernel meal types: 1. Proximate composition and metabolizable energy values. *African Journal of Biotechnology* **6**(21): 2484—2486.

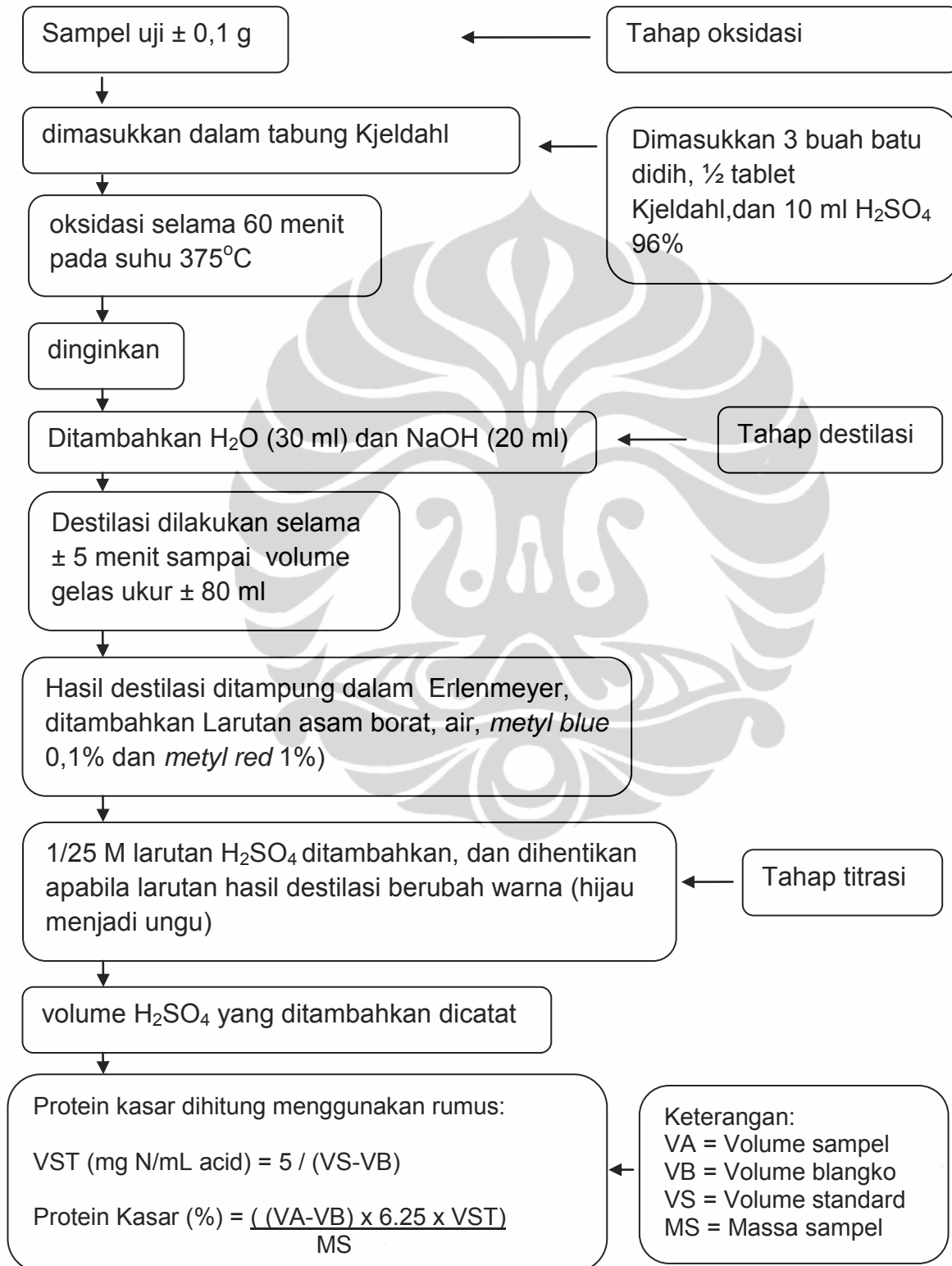
- Gandjar, I., A. Oetari & W. Sjamsuridzal. 2006. *Mikologi dasar dan terapan*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta: xi + 234 hlm.
- Gervais, P & P. Molin. 2003. The role of water in solid-state fermentation *Biochemical Engineering Journal* **13**: 85—101.
- Graham, H & D. Balnave. 1995. Dietary enzymes for encreasing energy availability. *Dalam* Wallace, R. J & A. Chesson (eds). 1995. *Biotechnology in animal feeds and animal feeding*. VCH, Weinheim: 295—309.
- Hart, F. L & H. J. Fisher. 1971. *Modern Food Analyses*. New York, Springer-Verlag: xi + 519 hlm.
- Hem, S., S. Toure, C. Sagbla & M. Legendre. 2008. Bioconversion of palm kernel meal for aquaculture: experiences from the forest region (Republic of Guinea). *African Journal of Biotechnology* **7**(8): 1192--1198.
- Henkel, T. W. 2005. Parakari an indigenous fermented beverage using amyolytic *Rhizopus* in Guyana. *Mycologia* **97**(1): 1--11.
- Hutagulung, R.I. 2003. Use of carbohydrate residues in Malaysia. <http://www.unu.edu/unupress/unubodes/80362e/80362e06.htm>, 22 November , pk.08.00 WIB.
- Irawadi, T. 1999. Kajian hidrolisis enzimatik limbah lignoselulosa dari industri pertanian. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian* **8**(3): 124—134.
- Knudsen, K.E.B. 1997. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Animal Feed Science Technology* **67**: 319—338.
- Lim, H. A., W.K. Ng, S.L. Lim & C.O. Ibrahim. 2001. Contamination of palm kernel meal with *Aspergillus flavus* affects its nutritive value in pelleted feed for tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Aquaculture Research* **32**: 895--905.
- Mitchell, D.A., D.M. Stuart & R.D. Tanner. 1999. Solid state fermentation microbial growth kinetics. *Dalam*: Flickinger, M.C & S.W. Drew (ed.). 1999. *Encyclopedia of bioprocess technology fermentation, biocatalysis, bioseparation*. John Wiley and Sons Inc., New York: 2407—2429.

- Newton, G. L., D. C. Sheppard, D. W. Watson, G. J. Burtle, C. R. Dove, J. K. Tomberlin & E. E. Thelen. 2005. The Black Soldier Fly, *Hermetia illucens*, as a manure management/resource recovery tool. State of the Science, Animal Manure and Waste Management: 5--7.
http://www.cals.ncsu.edu/waste_mgt/natlcenter/sanantonio/Newton.pdf
22 November 2009 pk. 07.52 WIB.
- Noviati, A. 2002. Fermentasi bahan pakan limbah industri pertanian dengan menggunakan *Trichoderma harzianum*. Skripsi. Jurusan Ilmu & Makanan Ternak, Fak. Peternakan IPB, Bogor: x + 67 hlm.
- Pasaribu, T., A.P. Sinurat, T. Purwadaria, Supriyati, J. Rosida & H. Hamid. 1998. Peningkatan nilai gizi lumpur sawit melalui proses fermentasi: pengaruh jenis kapang, suhu, dan lama proses enzimatis. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 3(4): 237—242.
- Purwadaria, T., R. Irayati, A. P. Simurat & I. W. R. Susana. 2007. The activity of phytase and phosphorus content of fermented dry palm oil mill effluent (POME) and rice bran with *Aspergillus oryzae* GS-66. *Journal Bioteknologi Pertanian* 8(2): 46--51.
- Raimbault, M. 1998. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. *Electronical Journal of Biotechnology*: 1--6.
<http://www.ejbiotechnology.info/content/vol1/issue3/full9/bib.html>. 22 November 2009 pk. 07.36 WIB.
- Robinson, P.H. 1999. Neutral Detergent Fiber (NDF) and its role in alfalfa analysis. Proceedings 29th California Alfalfa Symposium: 1--8.
<http://www.animalscience.vedaus.edu/livestockdairynutrition/articles/fulltext/pd/web200001.pdf>. 22 November 2009 pk. 08.50 WIB.
- Schlegel, H.G. 1986. *General Microbiology*. 6th ed. Cambridge University Press, Cambridge: xix + 587 hlm.
- Soetjiharto, M. 1997. Isolasi jamur tanah pendegradasi lignoselulosa dan aplikasinya dalam memperbaiki nilai nutrisi pakan berserat. Skripsi. Program Sarjana Fakultas Peternakan IPB, Bogor: xi +53 hlm.

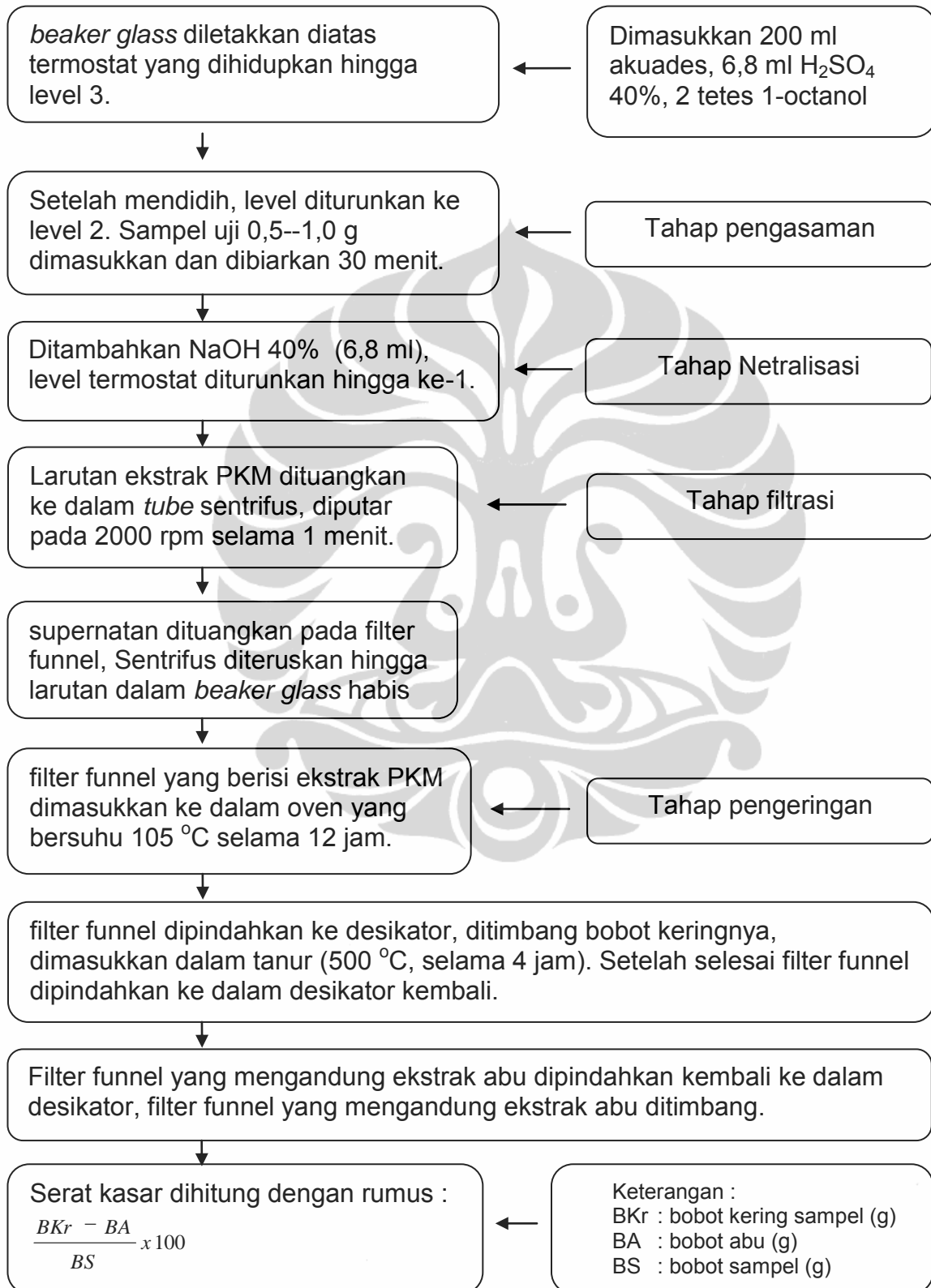
- Suhartati, F.M., M. Bata & P. Yuwono. 1998. Upaya peningkatan kualitas serat sawit sebagai pakan ruminansia melalui proses fermentasi dengan *Aspergillus oryzae* dan kemungkinannya sebagai pengganti rumput. *Laporan penelitian*. Fak. Peternakan Unsoed, Purwokerto: viii + 51 hlm.
- Sukara, E & H. W. Doelle. 1988. Cassava starch fermentation pattern of *Rhizopus oligosporus*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* **4**(4): 463—471.
- Suyanto, 2001. Solid state fermentation of tropical biomass by filamentous fungi. *Thesis*. Yamanashi University, Yamanashi: iii + 71 hlm.
- Tabak, H.H. & W.M. Cooke. 1983. The effects of gaseous environment on the growth and metabolism of fungi. *Botanical Review* **34**: 126—252.
- Tengerdy, R.P. 1992. *Solid state cultivation of lignocellulose*. Dalam: Doelle, H.W., D.A. Mitchell & C.E. Carlos. *Solid substrate cultivation*. Elsevier Applied Science, London: 269—282.
- Tilman, A.D., H. Hartadi, S. Reksohadiprojo, S. Prawiro Kusumo & S. Lebdosukojo. 1984. *Ilmu Makanan Ternak Dasar*. Gadjah Mada University Press: xi + 422 hlm.
- Warburton K., P. Dart, V. Hallman & M. Taylor. 2001. *Performance comparison of earthworms and soldier fly larvae in the processing of sewage sludge*, In: (AWTT) AWTT (Ed.), *Scheme Project 1003-01-001*. Departement of Zoology University of Queensland, Queensland: 1--11.
- Witkowska, D & M. Piegza. 2006. Capability of *geotrichum candidum* yeasts for cellulases and xylanases biosynthesis. *Electronic journal of polish agricultural universities* **9**(4): 41.
- Zadrazil, F., A.K. Puniya, & K. Singh. 1995. *Biological upgrading of feed and feed components*. Dalam: Wallace, R.J. & A. Chesson. 1995. *Biotechnology in animal feed and animal feeding*. VCH, Weinheim: 55—69.



Lampiran 1. Skema uji protein kasar



Lampiran 2. Skema uji serat kasar



DISKUSI PARIPURNA

Isolasi, Identifikasi, Dinamika dan Skrining Pertumbuhan Fungi dari Biokonversi *Palm Kernel Meal*.

Fungi merupakan kelompok mikroorganisme yang berperan besar dalam proses penguraian susunan makromolekul PKM. Kelompok fungi mampu memproduksi enzim yang dapat mendegradasi selulosa, lignin, dan hemiselulosa menjadi senyawa yang lebih sederhana.

Isolasi dan identifikasi fungi menggunakan medium *Potato dextrose Agar* (PDA). Identifikasi fungi menggunakan medium *Potato dextrose Agar* (PDA), *Malt Extract Agar* (MEA), dan *Czapek Dox Agar* (PDA). Skrining pertumbuhan fungi menggunakan medium selektif Mimura mengandung serbuk *Palm Kernel Meal*.

Lima belas isolat fungi berhasil diisolasi dan diidentifikasi, terdiri dari 4 kelompok (*Aspergillus*, *Penicilium*, *Mucor* dan *Geotrichum*) diperoleh dari hasil biokonversi *Palm Kernel Meal* asal Lampung pada suhu 27–30°C. Berdasarkan hasil skrining pertumbuhan masing-masing kelompok fungi, diperoleh 4 isolat terpilih (P3, P4, P10 dan P15) untuk digunakan sebagai inokulan dalam fermentasi *Palm Kernel Meal* selanjutnya. Hasil identifikasi mikroskopik menunjukkan P3 (*Penicilium chrysogenum*), P4 (*Mucor racemosus*), P10 (*Aspergillus flavus*) dan P15 (*Geotrichum candidum*).

Fermentasi *Palm Kernel Meal* oleh Fungi Indigenos Terpilih

Peningkatan protein kasar dengan perlakuan *P. chrysogenum* sebesar 12,09 %, *G. candidum* sebesar 5,90%, *A. flavus* sebesar 1,33%, sedangkan penurunan protein kasar oleh perlakuan *M. racemosus* sebesar 0,29 %.

Peningkatan serat kasar perlakuan berupa inokulan *G. candidum* sebesar 1,93%, *A. flavus* sebesar 3,03%, *M. racemosus* sebesar 4,32%, dan *P. chrysogenum* sebesar 14,11%. Peningkatan serat kasar ini lebih rendah dari *Palm Kernel Meal* tanpa penambahan inokulan sebesar 6,24%.

Persentase hasil protein kasar yang diperoleh merupakan nilai N total yang berasal dari N protein, asam amino, amonium nitrat, glikosida yang mengandung N, glikolipid, vitamin B, dan asam nukleat. Pertumbuhan fungi dalam substrat memengaruhi hasil kandungan protein kasar karena spora fungi mengandung asam organik, asam amino, asam nukleat dan N anorganik yang dapat berubah menjadi protein sel. Fungi mampu meningkatkan kandungan protein ketika melakukan germinasi (Bilgrami & Verma, 1994; Pasaribu *et al.*, 1998; Raimbault, 1998).

Perbedaan persentase serat kasar oleh masing-masing fungi dikarenakan faktor komponen substrat dan jenis fungi yang digunakan. Setiap substrat memiliki komponen serat kimiawi selulosa, hemiselulosa dan lignin yang berbeda (Robinson, 1999). Komponen serat tersebut umumnya terikat dengan matriks polisakarida lain sehingga mencegah degradasi biokimia dan kerusakan substrat (Knudsen, 1997). Fungi mampu

mendegradasi komponen kimiawi tersebut jika terdapat kombinasi antara pertumbuhan hifa dan produksi enzim (Mitchell *et al.*, 1999). Pertumbuhan hifa meningkatkan pencapaian nutrisi di partikel substrat sedangkan produksi enzim memengaruhi kemampuan fungi dalam mendegradasi nutrisi substrat menjadi bentuk yang lebih sederhana. Tenggerdy (1992) menyatakan variasi kompleks enzim lignoselolitik yang dihasilkan fungi berbeda. Hemiselulase, pektinase, selulase, dan ligninase merupakan enzim-enzim utama pendegradasi substrat dan tiap grup utama tersebut terdiri dari beberapa enzim berbeda.

Fungi memproduksi enzim yang bekerja secara *ekso* dan *endo* dalam proses fermentasi substrat untuk memudahkan pemanfaatan nutrisi di partikel substrat. Enzim yang bekerja secara *ekso* memotong rantai polisakarida secara teratur dari *non-reducing* gula menjadi monomer-monomer gula yang dapat langsung digunakan oleh fungi untuk pertumbuhannya. Enzim yang bekerja secara *endo* akan memecah ikatan polisakarida secara acak sehingga menghasilkan gula-gula oligomer dan monomer (Mitchell *et al.*, 1992; Soetjiharto, 1997).

Persentase hasil nutrisi *Palm Kernel Meal* juga dipengaruhi oleh struktur kimiawi selulosa substrat. Struktur selulosa *Palm Kernel Meal* berbentuk amorf lebih mudah terdegradasi dibandingkan selulosa berbentuk kristal. Tingginya kandungan minyak dalam *Palm Kernel Meal* asal Lampung juga memengaruhi kemampuan degradasi substrat oleh fungi apabila tidak

memiliki enzim lipase. Faktor lainnya yaitu terjadinya peningkatan suhu di dalam substrat yang berkorelasi terhadap perubahan kondisi aerasi dan aktivitas air sehingga dapat menghambat fase pertumbuhan optimal fungi.

