

Hidrolisis Bungkil Inti Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) oleh Kapang *Trichoderma reesei* sebagai Pendegradasi Polisakarida Mannan

(Hydrolysis of Palm Kernel Cake (*Elaeis guineensis* Jacq) by Fungi *Trichoderma reesei* that Degrades Mannan Polysaccharides)

Achmad Jaelani^{1*}, Wiranda Gentini Piliang², Suryahadi² dan Iman Rahayu²

¹ Fakultas Pertanian Universitas Islam Kalimantan, Banjarmasin

² Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, Bogor

ABSTRACT: The research was conducted to study the growth characterization of *Trichoderma reesei*, the degradability of mannan polysaccharides from Palm Kernel Cake (PKC) with different concentrations of fungi and thickness of the PKC medium as well as, the improvement of the nutritive value of palm kernel cake. Experiment 1st was to study the growth characterization of *Trichoderma reesei* followed by the regression equation on the number of colony was $Y = -0.1745x^2 + 2.2611x - 0.4699$. Regression equation on diameter of colony was $Y = 8.3743x + 11.429$ and optimizing time was obtained on 30 hours are 102.89%. Experiment 2nd was conducted using concentrations of fungi (104, 105, and 106 CFU cc-1) and thickness of the PKC medium (1, 2, and 3 cm). This research using by a completely randomized design with factorial 3 x 3. The treatments gave significant ($P < 0.05$) differences on pH and temperature of PKC medium, ADF, NDF, crude protein, and hemicellulose. There were interaction effect on the concentrations of fungi and on the thickness of PKC medium ($P < 0.05$) on NDF, crude protein, and hemicelluloses ($P < 0.05$). Experiment 3rd was conducted using PKC and the fermentation of PKC on True Metabolizable Energy (TME), the retention of nitrogen, total sugar and mannan content. Data were analyzed using t test. *Trichoderma reesei* is able to degrade mannan polysaccharides of PKC whereby that TME and the total sugar value increased, but the nitrogen retention and mannan content decreased.

Key Words: Hydrolysis, palm kernel cake, *Trichoderma reesei*, mannan polysaccharides

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara kedua terbesar setelah Malaysia dalam menghasilkan kelapa sawit. Luas areal perkebunan kelapa sawit di Indonesia pada tahun 2005 sekitar 5.000.000 hektar dengan total produksi *crude palm oil* (CPO) sekitar 14.500.000 ton (LRPI, 2006).

Menurut Sindu (1999), rata-rata hasil ikutan minyak kelapa sawit adalah: bungkil inti sawit sekitar 0,3–0,6 ton, serat buah sekitar 1,5–3,5 ton dan lumpur minyak sawit sekitar 3–6 ton/ha tanaman/tahun. Bungkil inti sawit (*palm kernel cake/meal*) merupakan hasil ikutan pada proses pemisahan minyak inti sawit yang diperoleh secara kimiawi (*extraction*) atau dengan proses fisik (*expeller*) (Chin, 2002). Bungkil inti sawit (BIS) mengandung kadar protein lebih rendah bila dibandingkan dengan bungkil kedele dan kacang tanah yaitu sekitar 15,73–17,19% (Chong *et al.*, 1998).

Pemberian BIS pada ternak masih belum optimal karena beberapa kendala salah satunya adalah daya

cerna yang rendah akibat tingginya kandungan serat kasar yaitu berkisar 12,47–16,09 % dan sekitar 27% dari bungkil inti sawit tersusun atas hemiselosa dimana fraksi polisakarida mannan adalah yang terbanyak (Chong *et al.*, 1998).

Komponen mannan pada bungkil inti sawit merupakan komponen polisakarida dengan formasi linier berbentuk kristal yang cukup tinggi dengan ikatan β -(1-4) sulit untuk didegradasi. Berdasar hal tersebut pendegradasi mannan secara total harus mampu memecah ikatan tersebut dan merubahnya menjadi oligosakarida atau bahkan monosakarida yang mudah dicerna. Salah satu caranya adalah melalui hidrolisis mannan BIS dengan menggunakan mikroba yang benar-benar mampu mendegradasi mannan dengan menghasilkan beberapa enzim yang efektif menguraikan komponen mannan yaitu β -mannanase, α -galaktosidase dan β -xilosidase.

Berdasarkan hasil penelitian Daud dan Jarvis (1992), jumlah persentase gula sederhana dari total dinding sel bungkil inti sawit yang dideteksi dengan HPLC diperoleh mannan sebanyak 56,40%, selulosa 12% dan xylan 4%. Polisakarida mannan dan selulosa merupakan 95% dari total polisakarida bungkil inti sawit.

* Korespondensi penulis : e-mail warbor_azkia@yahoo.com

Pemilihan mikroba pendegradasi polisakarida mannan harus didasarkan pada beberapa ketentuan diantaranya tidak toksik, mudah dalam aplikasi, biaya murah, dan produksinya cukup baik. Dari beberapa ketentuan tersebut, pemilihan kapang merupakan hal yang penting. Mikroba pendegradasi polisakarida mannan telah diteliti oleh Coulombel *et al.* (1981) dengan menggunakan *Streptomyces olivochromogenes* yang ditumbuhkan pada media yang mengandung galaktomannan. Enzim yang dihasilkan mampu menghidrolisis mannan pada kopra menjadi manno-oligosakarida, mannobiosa dan mannososa. Regalado *et al.* (1995) memproduksi enzim β -mannanase hasil fermentasi solid substrat dari limbah industri kopi dengan kapang *Trichoderma reesei*, sedangkan Sabini *et al.* (2000) menggunakan substrat *Phytelephas macrocarpa* (ivory nut). Dengan dihidrolisisnya polisakarida mannan menjadi beberapa oligosakarida/monosakarida yang mudah dicerna/diserap tubuh, hal ini menunjukkan terjadinya peningkatan nilai nutrisi baik dari segi pencernaan nutrisi (kualitas), maupun peningkatan dari segi kuantitatif.

Tujuan Penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik pertumbuhan kapang *Trichoderma reesei*, mengetahui seberapa besar perubahan nilai nutrisi bungkil inti sawit melalui hidrolisis oleh kapang *Trichoderma reesei* dengan berbagai dosis kapang dan ketebalan media yang berbeda serta mengetahui kemampuan kapang *Trichoderma reesei* dalam mendegradasi polisakarida mannan pada bungkil inti sawit.

Metode Penelitian

Tahap I. Uji Pertumbuhan Kapang

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia, Fisiologi dan Mikrobiologi Nutrisi Fakultas Peternakan IPB. Inokulum murni *Trichoderma reesei* strain FNCC 6012 diperoleh dari Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada Yogyakarta, dan diperbanyak dengan menumbuhkan pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dengan penambahan nutrient NH_4NO_3 , KCl, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan CuSO_4 pada suhu kamar (28°C) selama 72 jam.

Bungkil inti sawit (BIS) diperoleh dari pabrik pengolahan *Crude Palm Oil* (CPO) di Lampung. Peubah yang diukur meliputi jumlah koloni optimum, diameter koloni dan persentase perubahan koloni. Adapun umur pertumbuhan kapang yang diamati : 24, 30, 36, 42, 48, 54, 60, dan 72 jam. Data dianalisis menggunakan Analisis Regresi dengan

umur pertumbuhan kapang sebagai prediktor, jumlah koloni serta diameter koloni sebagai respon.

Tahap II. Dosis Kapang dan Ketebalan Media

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia, Fisiologi dan Mikrobiologi Nutrisi. Adapun analisa proksimat dilakukan di Laboratorium Nutrisi dan Teknologi Pakan Fapet IPB. Pada penelitian ini digunakan Rancangan Acak Lengkap pola Faktorial 3x3 dengan faktor pertama dosis kapang (2,13 x 10⁴; 2,13 x 10⁵; 2,13 x 10⁶ CFU/cc), dan faktor kedua ketebalan media BIS (1, 2, 3 cm). Adapun peubah yang diamati dalam penelitian ini meliputi: Suhu dan pH media selama fermentasi, kandungan bahan kering, protein kasar, NDF, ADF, dan hemiselulosa, pada akhir fermentasi (AOAC, 1984). Data dianalisis menggunakan Analisis Ragam dan jika hasilnya berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan menggunakan program SAS ver 6.12.

Tahap III. Degradasi Polisakarida Mannan

Penelitian dilakukan di Laboratorium Nutrisi dan Teknologi Pakan Fapet IPB adapun isolasi dan analisa polisakarida mannan dilakukan di Laboratorium Kimia Pusat Penelitian Kimia LIPI Serpong Tangerang. Pada penelitian ini digunakan uji t yakni membandingkan BIS dan BIS hasil fermentasi (BISF) terhadap beberapa peubah hasil degradasi kapang *Trichoderma reesei* yang meliputi : kandungan gula total terlarut (Metode Dubois), energi metabolisme sejati (Metode Sibbald), retensi nitrogen semu, dan kandungan mannan (Metode Sabini *et al.*, 2000).

Hasil dan Pembahasan

Tahap I. Uji Pertumbuhan Kapang

Koloni kapang *Trichoderma reesei* berwarna hijau muda. Semakin lama warnanya semakin hijau tua, hal ini sesuai dengan Xiong (2004). Rata-rata jumlah koloni kapang *Trichoderma reesei* diperlihatkan pada Tabel 1.

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

dicapai pada umur pertumbuhan 30 jam. Disini pertumbuhan kapang memasuki fase logaritmik dengan kecepatan pertumbuhan paling tinggi.

Jumlah koloni kapang mulai konstan (*fase stationary*), dicapai pada umur 60 jam yakni mencapai jumlah koloni $2,13 \times 10^6$ CFU/cc. Demikian pula halnya dengan perubahan diameter koloni kapang, pada umur 60 jam persentase perubahannya sangat kecil. Hal ini disebabkan kapang sudah memasuki fase statis. Pada fase ini jumlah populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Ukuran sel pada fase ini menjadi lebih kecil karena sel tetap membelah meskipun nutrisi sudah habis (Fardiaz, 1985). Berdasarkan data pada Tabel 1 tentang jumlah koloni (transformasi log) mengikuti persamaan $Y = -0,1745x^2 + 2,2611x - 0,4699$. Fase pertumbuhan koloni kapang, secara optimal dicapai pada umur pertumbuhan antara 54-60 jam.

Diameter koloni kapang dapat diketahui persamaan regresinya adalah $Y = 8,3743x + 11,429$. Persamaan polynomial untuk perubahan diameter koloni adalah $Y = -0,6055x^4 + 13,106x^3 - 96,471x^2 + 267,09x - 172,95$ (menunjukkan umur pertumbuhan). Disini kurva yang terbentuk berupa kurva model logaritmik.

Tahap II. Dosis Kapang dan Ketebalan Media

a. pH Media BIS

pH media sangat berperan dalam berlangsungnya proses fermentasi. Setiap kapang memerlukan pH media tertentu untuk memulai fermentasi. Kapang mempunyai pH optimum antara 5-7. Perubahan pH substrat selama fermentasi BIS oleh kapang *T. reesei* diperlihatkan pada Gambar 1.

Pada penelitian ini pH awal media BIS adalah 5,94. Selama fermentasi terjadi perubahan pH dan

hampir seluruh perlakuan menunjukkan pola yang sama yakni terjadi penurunan pH pada 24 jam umur fermentasi kecuali perlakuan S_3D_4 dan S_1D_5 berturut-turut pada 48 jam dan 96 jam waktu fermentasi. Penurunan pH terjadi karena H^+ dilepaskan selama konsumsi NH_4^+ dan dikonsumsi selama metabolisme NO_3^- dan penggunaan asam amino sebagai sumber karbon (Rahman, 1992). Setelah waktu tersebut terjadi kenaikan pH sampai akhir fermentasi. Adapun pH akhir fermentasi di bawah pH awal kecuali perlakuan S_3D_4 .

Nilai pH untuk pertumbuhan mikroba mempunyai hubungan dengan suhu pertumbuhan. Jika suhu pertumbuhan naik, pH optimum untuk pertumbuhan juga naik. Terdapat interaksi positif antara ketebalan media BIS dengan dosis kapang terhadap pH media pada semua umur fermentasi kecuali pada umur 48 jam.

b. Suhu Media BIS

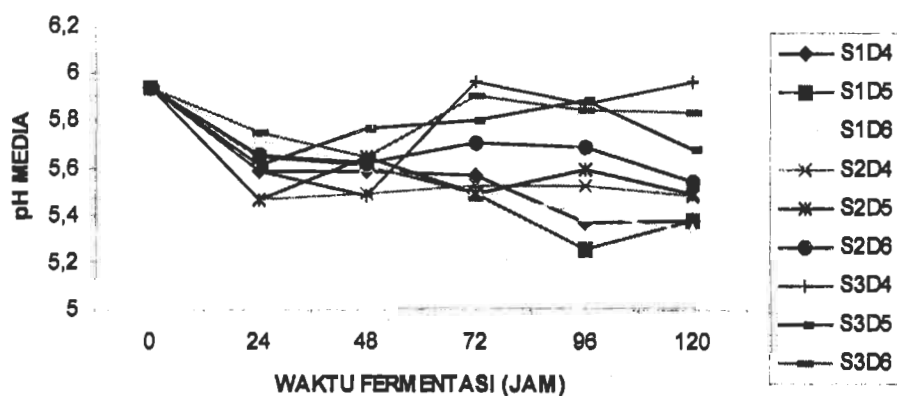
Berdasarkan Gambar 2 terlihat bahwa perubahan suhu tertinggi pada waktu fermentasi 24 jam dicapai kombinasi perlakuan S_2D_6 yakni $31,67^\circ C$. Namun suhu tertinggi selama fermentasi terjadi pada 96 jam waktu fermentasi yakni diperoleh pada perlakuan S_3D_6 yakni mencapai $35,67^\circ C$. Perubahan suhu selama fermentasi seluruh perlakuan menunjukkan pola yang sama yakni terjadi kenaikan suhu hingga pada 72 jam umur fermentasi kecuali perlakuan S_3D_5 dan S_3D_6 masing-masing pada 48 jam waktu fermentasi dan 96 jam waktu fermentasi. Kenaikan suhu media terjadi karena panas metabolisme yang dikeluarkan. Hal ini ditandai dengan terbentuknya titik-titik air dan merupakan masa kritis dalam kultur media padat, sehingga akan menimbulkan masalah teknis tentang cara pemindahan panas (Rahman, 1992).

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

Umur pertumbuhan (jam)	Jumlah koloni (CFU/cc)	Diameter koloni (mm)	Perubahan diameter koloni (%)
24	Belum terlihat	13,58	-
30	$2,06 \times 10^5$	27,41	102,89
36	$2,62 \times 10^5$	38,10	39,00
42	$3,33 \times 10^5$	48,93	28,42
48	$1,75 \times 10^6$	54,94	12,28
54	$2,04 \times 10^6$	66,19	20,48
60	$2,13 \times 10^6$	73,78	11,47
66	$2,13 \times 10^6$	76,73	4,00
72	$2,13 \times 10^6$	80,05	4,32

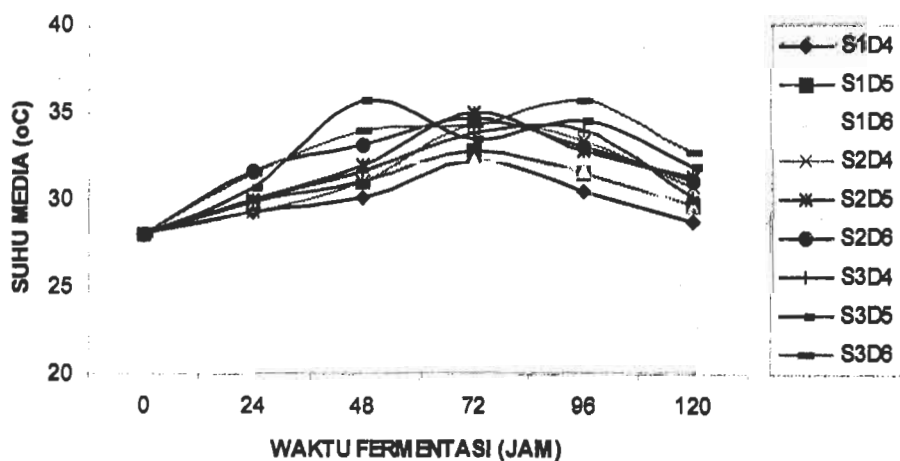
Tabel 2. Kandungan bahan kering BISF (%) pada berbagai dosis kapang dan tebal media yang berbeda

Ketebalan media (cm)	Persentase bahan kering pada berbagai dosis kapang (CFU/cc)		
	2,13 x 10 ⁴	2,13 x 10 ⁵	2,13 x 10 ⁶
1	89,93	89,63	88,82
2	90,74	88,36	89,14
3	89,38	88,90	89,51



Gambar 1. Kurva perubahan pH media BIS selama fermentasi oleh *Trichoderma reesei*

Keterangan : S₁ = ketebalan media 1 cm D₄ = dosis kapang 2,13 x 10⁴ CFU/cc
 S₂ = ketebalan media 2 cm D₅ = dosis kapang 2,13 x 10⁵ CFU/cc
 S₃ = ketebalan media 3 cm D₆ = dosis kapang 2,13 x 10⁶ CFU/cc



Gambar 2. Kurva perubahan suhu media BIS selama fermentasi oleh *Trichoderma reesei*

Keterangan : S₁ = ketebalan media 1 cm D₄ = dosis kapang 2,13 x 10⁴ CFU/cc
 S₂ = ketebalan media 2 cm D₅ = dosis kapang 2,13 x 10⁵ CFU/cc
 S₃ = ketebalan media 3 cm D₆ = dosis kapang 2,13 x 10⁶ CFU/cc

Tabel 3. Kandungan protein kasar (%) BISF pada dosis kapang dan ketebalan media yang berbeda

Ketebalan media (cm)	Dosis kapang (CFU/cc)			Rataan \pm Sd
	2,13 x 104	2,13 x 105	2,13 x 106	
	----- % -----			
1	22,63	23,16	23,77	24,06 ^A \pm 0,74
2	23,65	24,25	25,02	24,31 ^A \pm 0,73
3	23,89	23,95	24,34	23,13 ^B \pm 0,68
Rataan \pm Sd	23,39 ^b \pm 1,03	23,79 ^{ab} \pm 0,47	24,37 ^a \pm 0,79	

^{a,b}. Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan ada perbedaan pada $P < 0,05$

^{A,B}. Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan ada perbedaan pada $P < 0,05$

Setelah waktu tersebut terjadi penurunan suhu sampai akhir fermentasi. Adapun suhu akhir fermentasi berada di atas suhu awal. Pada perlakuan ketebalan substrat 3 cm ternyata proses fermentasi berjalan cukup lama, hal ini diperlihatkan dengan peningkatan suhu yang cukup lama. Hal ini disebabkan jumlah media yang difermentasi cukup banyak sehingga untuk fermentasi hingga sampai bawah perlu waktu yang agak lama meskipun dosisnya lebih tinggi dibanding perlakuan lainnya. Semakin tebal media maka untuk fermentasi optimal dibutuhkan dosis kapang yang lebih banyak dan suhu maksimal yang dicapai pada proses fermentasi akan lebih lama. Suhu mempengaruhi efisiensi konversi substrat (karbon-energi) menjadi massa sel. Pada umumnya konversi maksimum terjadi pada suhu yang lebih rendah daripada suhu dengan kecepatan pertumbuhan maksimum. Hal ini penting dalam proses optimasi yang diinginkan yaitu kecepatan pertumbuhan maksimum, bukan pertumbuhan maksimum.

c. Bahan Kering

Berdasarkan hasil analisis ragam ternyata tidak terdapat perbedaan yang nyata terhadap kandungan bahan kering. Disinipun tidak terjadi interaksi antara tebal media dengan dosis kapang terhadap kandungan bahan kering. Apabila kita bandingkan dengan kandungan bahan kering BIS ternyata tidak terjadi perubahan yang mencolok bahkan relatif hampir sama. Bahan kering erat kaitannya dengan kandungan air. Penyusutan berat selama fermentasi akibat proses metabolisme berkisar 2,24 - 7,12%. Nilai ini relatif kecil dibanding penyusutan berat selama pengeringan dalam oven yang berkisar 61,39 - 68,64%.

d. Protein Kasar

Faktor dosis kapang dan ketebalan media berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kandungan

protein kasar BISF, namun tidak terjadi interaksi antara dosis kapang dan ketebalan media terhadap kandungan protein kasar ($P > 0,05$). Pada Tabel 3 terlihat bahwa kandungan protein kasar tertinggi diperoleh pada dosis kapang 2,13 x 106 CFU/cc yakni 24,37%. Hal ini dapat dimaklumi bahwa semakin banyak dosis kapang maka kemungkinan pertumbuhan kapang pada media BIS akan lebih besar. Dilihat dari ketebalan media terlihat bahwa pada ketebalan media 2 cm dan 3 cm berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan ketebalan media 1 cm. Pada ketebalan media 2 cm diperoleh kandungan protein kasar tertinggi yakni 24,31%. Pada ketebalan media 3 cm, kapang tidak dapat menjangkau bagian bawah media sehingga tidak seluruhnya dapat dirombak dengan sempurna.

Pada Tabel 3 kandungan protein kasar BIS 16,50%. Apabila kita bandingkan dengan protein kasar BISF pada Tabel 5 yang berkisar 23,39-24,37%, terjadi peningkatan yang cukup berarti. Inilah yang diharapkan setiap proses pengolahan pakan. Kandungan protein kasar yang diperoleh lebih tinggi dari penelitian Keong (2004) saat BIS difermentasi oleh *Trichoderma koningii* yang mencapai 31,27%.

e. Kandungan NDF, ADF dan Hemiselulosa

Dosis kapang dan ketebalan media menunjukkan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap kandungan NDF, ADF dan Hemiselulosa. Kandungan NDF tertinggi diperoleh perlakuan S₂D₆ yakni 72,42%. Demikian pula halnya dengan hemiselulosa, kandungan tertinggi diperoleh perlakuan S₂D₆ yakni 23,39%. Terdapat interaksi antara tebal media dengan dosis kapang terhadap kandungan NDF dan hemiselulosa.

Terjadi pengurangan kandungan ADF dan hemiselulosa, akan tetapi kandungan NDF terjadi peningkatan. Hal ini dikarenakan bahwa peningkatan komponen serat kasar pada fermentasi BIS oleh

kapang *Trichoderma reesei* adalah komponen NDF. Komponen ADF maupun hemiselulosa banyak mengalami degradasi oleh kapang *Trichoderma reesei* menjadi komponen mannanosa, glukosa, xylosa, galaktosa. Terdapat interaksi antara tebal media dengan dosis kapang terhadap kandungan NDF dan hemiselulosa.

Pada Tabel 4 terlihat bahwa pada kombinasi semua ketebalan dengan dosis kapang 105 CFU/cc (S_1D_5 , S_2D_5 dan S_3D_5) kandungan hemiselulosanya cenderung menurun. Hal ini sesuai dengan pendapat Purwadaria (2002) yang menyatakan bahwa penurunan hemiselulosa merupakan aktifitas enzim mannanase. Aktifitas kapang pada waktu fermentasi lebih cenderung pada pembentukan selulosa daripada hemiselulosa. Lebih lanjut Purwadaria (2002) menyatakan bahwa hemiselulosa (mannan) bersifat lebih terlarut daripada selulosa sehingga aktifitas

penguraian mannanase lebih tinggi dari selulase.

Tahap III. Degradasi Polisakarida Mannan

a. Retensi Nitrogen Semu

Berdasarkan hasil uji t test, ternyata tidak terdapat perbedaan yang nyata antara BIS dan BISF terhadap konsumsi protein, ekskresi protein terkoreksi, retensi protein terkoreksi, konsumsi nitrogen dan ekskresi nitrogen. Namun protein kasar feses BISF lebih tinggi dibanding BIS. Dengan hasil tersebut memberikan pengaruh terhadap retensi nitrogen semu, yaitu pada ayam yang diberi bahan pakan BISF memberikan nilai retensi nitrogen semu yang lebih rendah dibanding ayam yang diberi BIS. Diduga bahwa meskipun BISF tinggi protein kasarnya namun sulit dicerna (protein kapang tinggi nukleotidnya).

Tabel 4. Kandungan ADF, NDF dan Hemiselulosa (%) BISF pada dosis kapang dan ketebalan media yang berbeda

Perlakuan		Kandungan nutrisi		
Tebal media (cm)	Dosis kapang (CFU/cc)	NDF (%)	ADF (%)	Hemiselulosa (%)
1	104	66,38 ^b ± 1,21	53,00 ^a ± 3,68	12,98 ^d ± 2,97
	105	59,42 ^{cd} ± 1,60	45,27 ^c ± 1,72	14,15 ^d ± 1,42
	106	58,57 ^d ± 0,76	40,54 ^d ± 4,88	18,03 ^b ± 4,47
2	104	66,66 ^b ± 1,32	48,61 ^{bc} ± 0,78	18,05 ^b ± 1,06
	105	61,37 ^{cd} ± 0,90	46,17 ^c ± 1,79	15,20 ^b ± 0,91
	106	72,42 ^a ± 1,53	49,45 ^b ± 0,20	23,39 ^a ± 1,64
3	104	65,83 ^b ± 1,65	46,09 ^c ± 0,65	19,74 ^b ± 1,21
	105	63,18 ^c ± 1,04	49,26 ^b ± 0,83	13,92 ^d ± 1,02
	106	68,61 ^a ± 0,56	51,57 ^a ± 0,98	17,04 ^{bc} ± 0,32

^{a,b,c,d} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan ada perbedaan pada $P < 0,05$

Tabel 5. Beberapa peubah dalam pengukuran degradasi polisakarida mannan BIS

Peubah	Perlakuan		Signifikansi
	BIS	BISF	
Protein kasar feses, %	28,54 ± 0,06	33,67 ± 0,01	*
Konsumsi protein, g	9,99 ± 2,16	11,79 ± 0,47	tn
Ekskresi nitrogen, g	1,10 ± 0,14	1,32 ± 0,17	tn
Retensi nitrogen semu, %	55,63 ± 0,35	50,70 ± 8,42	*
Energi bruto pakan, kkal/kg	3.968,00 ± 124,20	4.103,00 ± 153,70	*
Energi bruto ekskreta, kkal/kg	3.433,00 ± 285,61	3.436,00 ± 72,20	tn
Energi metabolisme sejati, kkal/kg	1.824,30 ± 205,81	1.930,44 ± 43,10	*
Total gula terlarut, %	1,29	2,38	*
Kandungan mannan, ppm	829,92	1.532,16	*

BIS = Bungkil inti sawit; BISF = Bungkil inti sawit fermentasi; * = berbeda nyata ($P < 0,05$); tn = tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)

b. Energi Metabolisme Sejati (TME)

Untuk pengujian energi metabolisme sejati kitapun membandingkan antara ayam yang diberi perlakuan pakan BIS dan BISF. Dari hasil uji t ternyata kandungan TME BISF (1.930.44 Kkal/kg) lebih tinggi dibanding BIS (1.824.13 Kkal/kg). Hal ini diduga bahwa terjadi degradasi polisakarida mannan yang ada pada BIS oleh kapang *Trichoderma reesei* menjadi bentuk yang lebih sederhana (oligosakarida) yang menghasilkan nilai energi yang cukup baik dibanding dalam bentuk polisakarida mannan.

c. Total Gula Terlarut

Pada pengukuran total gula terlarut diperoleh persamaan kurva standar $Y = 0,0128x + 0,0077$ dengan nilai $R^2 = 0,9857$. Kandungan total gula terlarut pada BISF mencapai 2,38%. Bila dibandingkan dengan nilai total gula terlarut pada BIS yang mencapai 1,29% terjadi peningkatan nilai total gula 125,53% akibat fermentasi BIS. Hal ini diduga bahwa kapang mampu mendegradasi polisakarida mannan (Warren, 2003; Hagglund *et al.*, 2003). Hal ini juga sesuai pendapat Sabini *et al.* (2000) yang menyatakan bahwa kapang *Trichoderma reesei* mampu mendegradasi polisakarida mannan menjadi mannotriosa, mannobiosa dan mannososa.

d. Kandungan Mannan

Berdasarkan hasil pengukuran diperoleh kandungan mannan pada BIS sebesar 1.532.16 ppm. Adapun untuk mannan pada BISF 829.92 ppm. Disini terjadi penurunan kandungan mannan yang cukup besar yakni sekitar 45,83%. Proses penurunan ini disebabkan terdegradasinya komponen polisakarida mannan oleh kapang *Trichoderma reesei* menjadi komponen oligosakarida yang lebih sederhana. Hal ini sesuai dengan pendapat Sabini *et al.* (2000) yang menggunakan kapang *Trichoderma reesei* dan *Cellvibrio japonicus* (Hogg *et al.*, 2003) untuk mendegradasi mannan, ternyata bahwa mannan yang belum terdegradasi memiliki bentuk morfologi platelet dengan kontur yang jelas, dengan crystal masing-masing individu memiliki rata-rata diagonal terpanjang 0,8 μm dan bagian yang terpendek 0,4 μm . Setelah terdegradasi kontur permukaan tidak jelas namun masih memperlihatkan bentuk yang memanjang.

Kesimpulan

Kapang *Trichoderma reesei* memiliki karakteristik pertumbuhan jumlah koloni dan diameter kapang tercepat setelah 24 jam pertama dan memasuki fase *stationary* pada umur pertumbuhan 60 jam dengan jumlah koloni optimum $2,13 \times 10^6$ CFU/cc, diameter koloni 73,78 mm. Persentase perubahan diameter koloni tertinggi dicapai pada umur 30 jam yakni 102,89%.

Fermentasi optimum kapang *Trichoderma reesei* pada media BIS diperoleh pada dosis $2,13 \times 10^6$ CFU/cc dan ketebalan media 2 cm dapat meningkatkan kandungan protein kasar, ADF, dan NDF. Kandungan hemiselulosa terjadi penurunan, sedangkan kandungan bahan kering relatif tidak terjadi perubahan yang berarti.

Kapang *Trichoderma reesei* mampu mendegradasi mannan BIS dengan meningkatnya nilai energi metabolisme sejati (TME), total gula terlarut, namun sebaliknya terjadi penurunan pada retensi nitrogen dan kandungan mannan.

Daftar Pustaka

- A.O.A.C., 1984. *Methods of Analysis*. 13th ed. Association of Official Agricultural Chemist. Washington D.C.
- Chen, Y., J. Long, L. Liao, Y. Zhang and J. Yang, 2003. Study on the production of beta-mannanase by bacillus M50. *Wei Sheng Wu Xue Bao* 40(1): 62-68.
- Chin, F.Y., 2002. Utilization of palm kernel cake (PKC) as feed in Malaysia. *Asian Livestock*. Vol. XXVI No. 4. Food Agricultural Organization Regional Office. Bangkok, Thailand
- Chong, C.H., R. Blair, I. Zulkifli and Z.A. Jelani, 1998. Physical and chemical characteristics of Malaysian palm kernel cake (PKC). *Proceeding 20th MSAP Conference*. 27-28 July. Putrajaya.
- Daskiran, M., R.G. Teeter, D. Fodge and H.Y. Hsiao, 2004. An evaluation of endo- β -D-mannanase (Hemicell) effect on broiler Chicken performance and energy use in diets varying in β -mannan content. *Journal Poultry Science* 83: 662-668.
- Daud, M.J. and M.C. Jarvis, 1992. Mannan of palm kernel. *Journal Phytochemistry* 31: 463-464.

- Goubet, F., P. Jackson, M. Deery and P. Dupree, 2002. Polysaccharide analysis using carbohydrate gel electrophoresis (PACE): A method to study plant cell wall polysaccharides and polysaccharides hydrolases. *Journal Analytical Biochemistry* 30: 53-68.
- Hagglund, P., T. Eriksson, A. Collen, W. Nerinckx, M. Claeysens and H. Stalbrand, 2003. Cellulose-binding module of the *Trichoderma reesei* beta-mannanase Man5A increases the mannan-hydrolysis of complex substrates. *Journal Biotechnology* 27(1): 37-48.
- Hogg, D., G. Pell, P. Dupree, F. Goubet, S. Marthin-orue, S. Armand and H.J. Gilbert, 2003. The modular architecture of *Celvibrio japonicus* mannanases in glycoside hydrolase families 5 and 26 points to different in their role in mannan degradation. *Journal Biochemistry* 371: 1027-1043.
- Keong, N.W., 2004. Researching the use of Palm Kernel Cake in Aquaculture Feeds. [Thesis] Fish Nutrition Laboratory, School of Biological Sciences, Universiti Sains Malaysia, Malaysia.
- [LRPI] Lembaga Riset Perkebunan Indonesia, 2006. Pemanfaatan oleokimia berbasis minyak sawit. *Media Komunikasi Lingkup Unit Kerja LRPI*. Vol.2 No. 2, Bogor.
- Mikkonen, K., H. Helen, R. Talja, S. Wilfor, B. Holmbom and M. Tennaken, 2006. *Biodegradable of Mannan*. Departement of Food Technology, University of Helsinki, Helsinki.
- Perez, J.F., A.G. Gemat and J.G. Murillo, 2000. The effect of different level of palm kernel meal in layer diets. *Journal Poultry Science* 79: 77-79.
- Purwadaria, T., 2002. Optimation of mannanase production. [Research Report] Animal Research Institute. Ciawi Bogor.
- Rahman, A., 1992. *Teknologi Fermentasi*. Penerbit Arcan, Jakarta.
- Regalado, C., L.M. Barrera, G.B.E. Almendárez; S. Huerta-Ochoa and G. López, 1995. Production and properties of β -mannanase by solid substrate fermentation of soluble coffee industry wastes using *Trichoderma reesei* IMI 192656. Dept. of Food Research and Postgraduate Studies, Facultad De Química, Universidad Autónoma De Querétaro., C.U. Cerro De Las Campanas, Qro. 76010. Mexico.
- Ross, S.A.C., J.G. Duncan, D.S. Pasco and N. Pugh, 2004. Isolation of a galactomannan that enhance macrophage activation from the edible fungus *Morchella esculenta*. *Journal Agricultural Food Chemistry* 50: 5683-5685.
- Sabini, E., K.S. Wilson, M. Siika-aho, C. Boisset and H. Chanzy, 2000. Digestion of single crystals of mannan I by an endo-mannanase from *Trichoderma reesei*. *Europe Journal Biochemistry* 267: 2340-2344.
- Samonte, J.L., 2003. β -mannosidase activity in germinating coconut. Cavite: De La Salle University-Dasmarinas
- Santiago, S.D., C.R. Gonzalez, B.G. Almendarez, F.J. Fernandez, A.T Jurado and S. Huerta-Ochoa, 2006. Physiological, morphological, and mannanase production studies on *Aspergillus niger* uam-gs1 mutan. *Electronic Journal of Biotechnology* 9(1): 217-226.
- Sindu, A., 1999. Pemanfaatan limbah kelapa sawit sebagai pakan ternak. *Jurnal Sains dan Teknologi* 1(3): 82-86.
- Warren, R.A.J., 2003. Microbial hydrolysis of polysaccharides. *Annual Review of Microbiology* 50: 183-212.
- Xiong, H., 2004. Production and characteristization of *Trichoderma reesei* and *Thermomyces lanuginosus* xylanases. [Dissertation]. Helsinki University of Technology, Helsinki.
- Xu, B.V., P. Hagglund, H. Stalbrand and J.C. Jason, 2003. Endo-beta-1,4-mannanases from blue mussel, *Mytilus edulis*: purification, characterizatin, and mode of action. *Journal Biotechnology* 92: 267-277.