

**PRODUKSI GLUKOSA CAIR DARI SUBSTRAT
RUMPUT LAUT *Eucheuma cottonii* OLEH KAPANG
*Trichoderma reesei***

**LAPORAN SKRIPSI
TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

Oleh:

KHOFIFAH

0310830053



**FAKULTAS PERIKANAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2007

**PRODUKSI GLUKOSA CAIR DARI SUBSTRAT
RUMPUT LAUT *Eucheuma cottonii* OLEH KAPANG
*Trichoderma reesei***

**LAPORAN SKRIPSI
TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

Oleh

KHOFIFAH

0310830053

**Mengetahui
Ketua Jurusan,**

Ir. Maheno Sri Widodo, MS

Tanggal :

**Menyetujui,
Dosen Pembimbing I**

Prof. Dr. Ir. Eddy Suprayitno, MS

Tanggal :

Dosen Pembimbing II

Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP

Tanggal :

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya kepada ALLAH SWT semata atas karunia-nya, sehingga penulisan berada dalam nikmat Islam, Sholawat serta salam semoga selalu tetap tercurahkan kepada Rosulullah SAW, keluarga, para sahabat dan pengikutnya.

Ucapan terima kasih penulis dihaturkan kepada ayah Munif, ibu kowiyon dan kakak tercinta atas doa restu dan dorongan selama ini hingga penulis dapat menjalani study dengan lancar.

Dengan terselesaikannya laporan skripsi ini penulis menyampaikan terima kasih kepada:

- Prof.Dr.Ir Eddy Suprayitno, MS selaku pembimbing I dan Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP selaku pembimbing II yang telah memberi arahan dan bimbingan dengan sabar.
- Prof.Dr.Ir T.J.Moedjiharto.M App.Sc dan Ir Bambang Budi Sasmito, MS selaku penguji.
- Motivasi dari teman-teman sehingga laporan ini dapat terselesaikan.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan laporan ini masih banyak kekurangan yang harus disempurnakan. Oleh sebab itu penulis menerima semua kritik dan saran yang bersifat membangun dari para pembaca. Akhir kata penulis berharap agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Malang, Agustus 2007

Penulis



RINGKASAN

KHOFIFAH. Produksi Glukosa Cair Dari Substrat Rumput Laut *Eucheuma cottonii* Oleh Kapang *Trichoderma reesei* (dibawah bimbingan Prof.Dr.Ir. EDDY SUPRAYITNO, MS dan Ir. TITIK DWI SULISTIYATI, MP).

Sirup glukosa adalah sejenis larutan yang amat kental (sirup 32-35⁰ BE) yang dihasilkan dari hidrolisis pati memakai katalisator enzim, asam atau gabungan antara enzim dan asam (TjokroadikoesoemSo, 1986), Pemanfaatan sirup glukosa dengan bahan baku pati kurang optimal, sehingga banyak penelitian yang mengembangkan sirup glukosa dari bahan baku yang mengandung selulosa. Menurut Robinson, (1991) Selulosa merupakan komponen utama dinding sel tumbuhan terutama pada dinding sel sekunder untuk kekuatan batang. Sumber selulosa yang relatif tinggi yaitu pada rumput laut. Menurut Tortora (2001), rumput laut *Eucheuma cottoni* sebagian besar dinding selnya terdiri dari selulosa. Melalui proses fermentasi oleh biokatalisator yaitu kapang *Trichoderma reesei* komposisi selulosa dalam rumput laut akan dirombak menjadi monomer yang lebih sederhana yaitu glukosa.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentasi dan lama fermentasi oleh kapang *Trichoderma reesei* yang optimum sehingga dihasilkan glukosa cair yang maksimal.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Dasar Fakultas Perikanan, Laboratorium Ilmu-Ilmu Perairan (IIP) Fakultas Perikanan, Laboratorium Pengujian Mutu Dan Keamanan Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya dan Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang. Pada bulan Maret-Mei 2007.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode adalah metode eksperimental dengan menggunakan variabel bebas yaitu lama fermentasi dan konsentrasi substrat. Variabel terikat yaitu persentase glukosa, total padatan terlarut, viskositas, pH, total kapang, aktivitas selulolitik, selulosa terhidrolisis, warna L*, warna a* dan warna b*. Analisis yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan duabelas perlakuan yaitu lama fermentasi hari ke 2,4,6,8 dan konsentrasi substrat 1%, 3% dan 5%.

Perlakuan terbaik dihasilkan pada konsentrasi *Eucheuma cottonii* 5% dan lama fermentasi hari keenam. Parameter fisik dan kimia yang merupakan perlakuan terbaik yaitu glukosa 5.92%, total padatan terlarut 2.1%Brix, viskositas relatif 1.035 centipoise, pH 9.3, Aktivitas selulolitik 31.067 NCU, total kapang 302 10⁴ KOLONI/ml, kecerahan (L*) 42.57, derajat kemerahan (a*) 6.61, derajat warna kuning (b*) 7.79 dan selulosa terhidrolisis 4.04%.

DAFTAR ISI

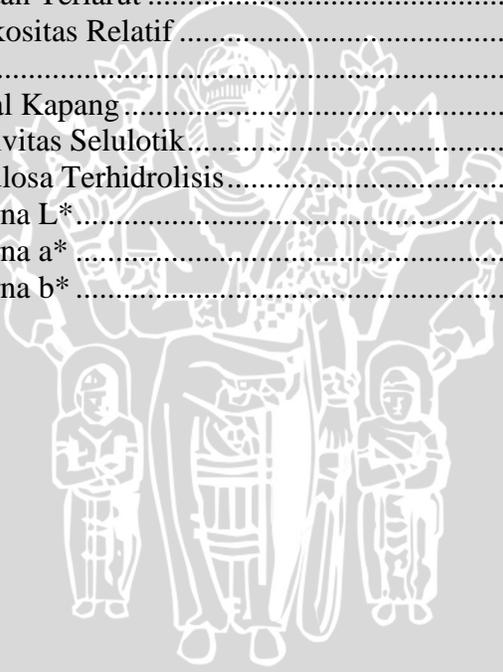
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	4
1.4 Manfaat	5
1.5 Hopotesis	5
1.6 Tempat Dan Waktu	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Sirup Glukosa	6
2.2 Glukosa	9
2.3 Rumput Laut	11
2.3.1 Rumput Laut (Rhodophyceae).....	11
2.3.2 Biologi Dan Kandungan Gizi <i>E.cottonii</i>	12
2.4 Selulosa	15
2.4.1 Hidrolisis Selulosa	18
2.5 Enzim	21
2.5.1 Enzim Selulosa.....	21
2.6 Kapang <i>Trichoderma reesei</i>	23
2.7 Fermentasi	25
2.8 Faktor-Faktor Fermentasi.....	27
2.8.1 Konsentrasi substrat	27
2.8.2 Suhu	29
2.8.3 pH.....	29
2.8.4 Aerasi	30
2.8.5 Inokulasi Fermentasi.....	31
2.8.6 Lama Fermentasi.....	31
3. METODOLOGI	
3.1 Bahan Penelitian	33
3.2 Alat Penelitian.....	33
3.3 Metode Penelitian	34
3.3.1 Metode	34
3.3.2 Variabel.....	34
3.3.3 Perlakuan.....	35

3.3.4 Rancangan Percobaan`	35
3.4 Prosedur Kerja.....	37
3.4.1 Pembuatan Bubur Rumput Laut.....	37
3.4.2 Inokulasi Kapang	37
3.4.3 Pembuatan Glukosa Cair.....	38
3.4.4 Prinsip Analisis	39
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Analisis Bahan Dan Media	42
4.2 Persentase Glukosa	43
4.3 Total Padatan Terlarut.....	46
4.4 Viskositas	48
4.5 pH	51
4.6 Total Kapang.....	54
4.7 Aktivitas Selulotik.....	56
4.8 Selulosa Terhidrolisis.....	59
4.9 Warna	62
4.9.1 Warna L*.....	62
4.9.2 Warna a*	64
4.9.3 Warna b*.....	66
4.10 Perlakuan Terbaik	69
5. PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	70
5.2 Saran.....	70
DAFTAR PUSTAKA	71
LAMPIRAN.....	76



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur D-Glukosa	10
2. Rumput Laut <i>Euchema Cottonii</i>	12
3. Struktur Rantai Kimia Selulosa.....	17
4. Model Progresif Pemecahan Selulosa.....	18
5. Mekanisme Biodegradasi Selulosa Oleh Aktivitas Enzim	19
6. Proses Pembuatan Bubur Rumput Laut	36
7. Inokulasi Kapang	38
8. Pembuatan Glukosa Cair.....	39
9. Grafik Rerata Presentase Glukosa.....	44
10. Rerata Total Padatan Terlarut	46
11. Grafik Rerata Viskositas Relatif	48
12. Grafik Rerata pH.....	51
13. Grafik Rerata Total Kapang.....	54
14. Grafik Rerata Aktivitas Selulolitik.....	57
15. Grafik Rerata Selulosa Terhidrolisis.....	59
16. Grafik Rerata Warna L*.....	63
17. Grafik Rerata Warna a*.....	65
18. Grafik Rerata Warna b*.....	67

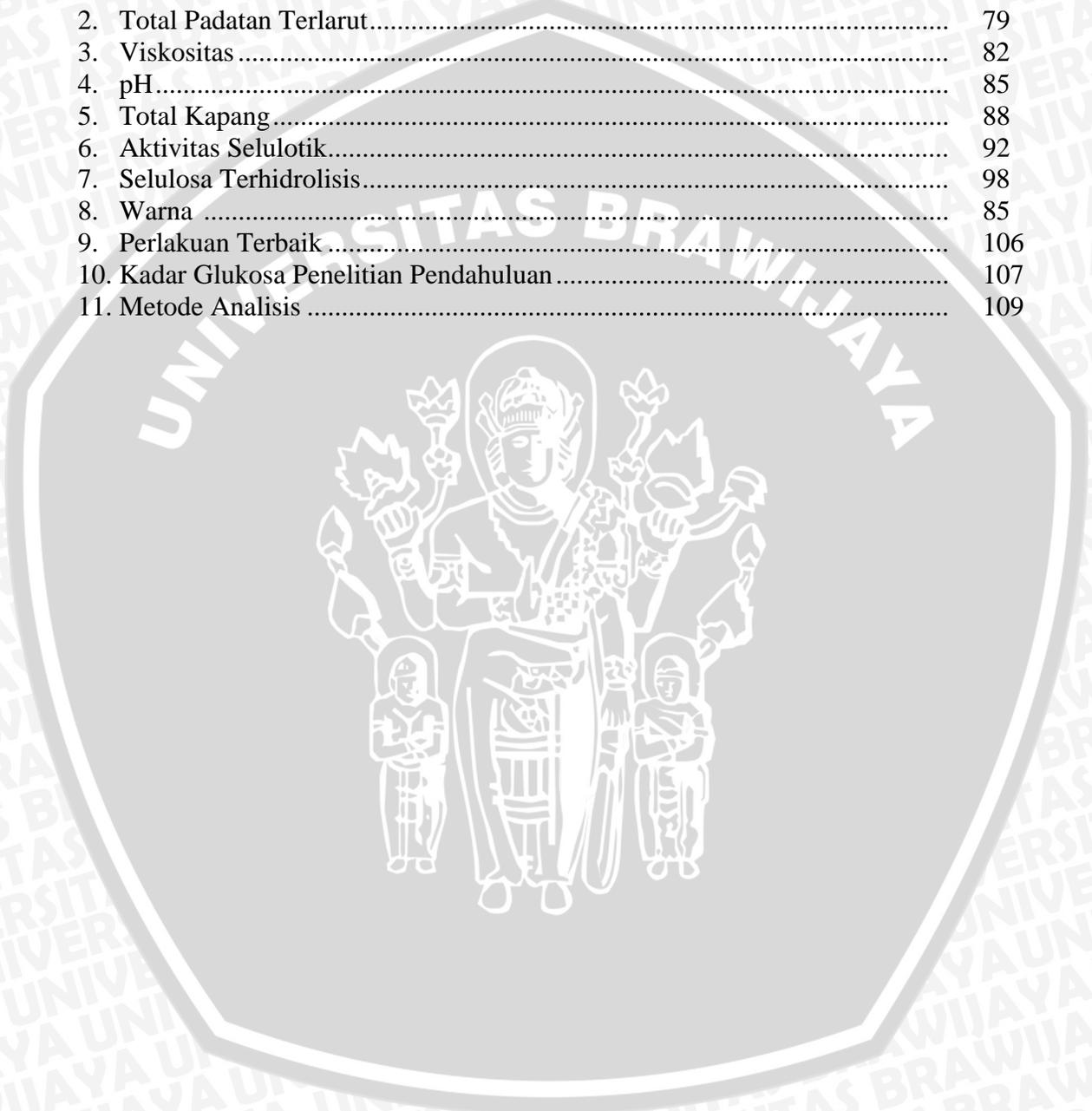


DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Syarat Mutu Sirup Glukosa.....	7
2. Tingkat Kemanisan gula	8
3. Komposisi Alga Coklat Dan Alga Merah.....	12
4. Kandungan gizi <i>Eucheuma cottonii</i>	13
5. Syarat Mutu Rumput Laut Kering.....	14
6. Mekanisme Biodegradasi Selulosa	20
7. Suhu Pertumbuhan Mikroba	30
8. Perlakuan Penelitian.....	35
9. Komposisi Kimia <i>Eucheuma cottonii</i>	42
10. Kondisi Awal Media Fermentasi	43
11. Rerata Persentase Glukosa Terhadap Konsentrasi.....	45
12. Rerataan Total Padatan Terlarut.....	47
13. Rerata Viskositas Relatif.....	50
14. Rerata Nilai pH	53
15. Rerata Total Kapang	55
16. Rerata Aktivitas Selulolitik.....	58
17. Rerata Selulosa Terhidrolisis	60
18. Rerata Warna L*	63
19. Rerata Warna a*	65
20. Rerata Warna b*.....	67

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Persentase Glukosa	76
2. Total Padatan Terlarut.....	79
3. Viskositas	82
4. pH.....	85
5. Total Kapang.....	88
6. Aktivitas Selulolitik.....	92
7. Selulosa Terhidrolisis.....	98
8. Warna	85
9. Perlakuan Terbaik.....	106
10. Kadar Glukosa Penelitian Pendahuluan.....	107
11. Metode Analisis	109



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Selama lima tahun terakhir (1998-2002) produksi gula dalam negeri hanya mampu memenuhi sekitar 6% dari total permintaan, sisanya harus import (Kustiari, 2003). Untuk meningkatkan produksi gula dalam negeri maka dicari alternatif gula selain gula pasir yaitu dengan cara hidrolisis bahan yang mengandung karbohidrat untuk menghasilkan gula cair.

Sirup glukosa adalah sejenis larutan yang amat kental (sirup 32-35⁰ BE) yang dihasilkan dari hidrolisis pati memakai katalisator enzim, asam atau gabungan antara enzim dan asam (Tjokroadikoesoemo, 1986), pasaran sirup glukosa di Indonesia terus meningkat dengan bertambahnya industri yang menggunakan sirup glukosa sebagai bahan bakunya, tetapi sebagian bahan baku ini import. Sirup glukosa banyak digunakan dalam industri makanan dan minuman misalkan permen, selai, pengalengan buah-buahan dan gula alkohol. Sirup glukosa juga memiliki prospek untuk digunakan sebagai substrat dalam fermentasi, seperti pada pembuatan asam askorbat (Lindawati *et al*, 2006).

Selama ini banyak penelitian tentang pembuatan sirup glukosa dari bahan baku pati diantaranya: penelitian sirup glukosa dari pati garut pada konsentrasi 30% dengan konsentrasi enzim 0.025%, 0.045% dan 0.065% (Sulistyo, 2006). Lindawati, *et al* (2006), sirup glukosa dari pati sagu dengan konsentrasi enzim 0.08%, 0.10%, dan 0.12%. Dan penelitian sirup glukosa dari tepung tapioka pada konsentrasi 30%, 35% dan 40% (Wijanarko, *et al*, 2000),. proses fermentasi glukosa cair dipengaruhi oleh beberapa

faktor diantaranya: substrat, lama fermentasi, suhu dan nutrisi media fermentasi seperti karbon, nitrogen dan mineral (Adam and Nout, 2001).

Pemanfaatan sirup glukosa dengan bahan baku pati kurang optimal karena dalam pembuatan pati, bagian tumbuhan yang dimanfaatkan hanya sebatas buah, biji, umbi, daun dan bunga. Sedangkan batang dan tangkai hanya dijadikan sebagai limbah, maka perlu adanya suatu biokonversi, sehingga semua komponen pada tumbuhan dapat dimanfaatkan secara maksimal.

Guna mengatasi keadaan tersebut, maka banyak penelitian yang mengembangkan sirup glukosa dari bahan baku yang mengandung selulosa. Selulosa merupakan komponen utama dinding sel tumbuhan terutama pada dinding sel sekunder untuk kekuatan batang (Robinson, 1991). Ditambahkan Sutedjo, *et al* (1991), selulosa sering ditemukan pada bahan-bahan berserat dan berkayu seperti pada jerami, rumput liar (tanaman pengganggu), daun-daunan, rumput, batang dan ranting tanaman.

Selulosa merupakan homopolisakarida yang tersusun atas unit-unit β -D-glukoinosa yang terikat satu sama lain dengan ikatan-ikatan glikosida (1-4). Molekul-molekul selulosa seluruhnya berbentuk linear dan mempunyai kecenderungan kuat membentuk ikatan-ikatan hidrogen intra dan intermolekul, Berkas-berkas selulosa membentuk agregat bersama-sama dalam mikrofibril, pada tempat-tempat yang sangat teratur (kristalin) diselingi dengan tempat-tempat kurang teratur (Sastrohumidjojo, 1995).

Sumber selulosa yang sangat potensial dan belum banyak dimanfaatkan secara optimal yaitu rumput laut. Karena pada umumnya rumput laut hanya diolah menjadi agar-agar dan karagenan. Selulosa dapat ditemukan pada semua jenis rumput laut, tetapi untuk jenis *Rhodopheceae* sebagian besar dinding selnya tersusun atas selulosa (Tortora

et al, 2001). Menurut Lutfi (1988), *Eucheuma cottonii* mempunyai kadar selulosa sebesar 7.02%. Hikmawati (2007), menyatakan bahwa pembuatan sirup suplementasi rumput laut dengan jenis *Rhodopheceae* spesies *Eucheuma Cottonii* mempunyai kelebihan yaitu mampu menghasilkan gel yang kuat jika dibanding dengan jenis *Eucheuma spinosum*.

Menurut Tjokroadikoesoemo (1986), hidrolisis selulosa oleh aktivitas tanaman sendiri sangat terbatas, tetapi jumlah kapang atau bakteri yang hidup dari substrat dan hasil-hasil pertanian dapat menghasilkan sejenis enzim selulase menjadi senyawa sederhana.



Sumber: Tjokroadikoesoemo (1986)

Pembuatan glukosa cair menggunakan mikroorganisme mempunyai kelebihan antara lain: reaksi metabolismenya lebih cepat dan tidak menimbulkan gangguan terhadap lingkungan (Rahman, 1989). Salah satu mikroorganisme yang mampu mendegradasi selulosa menjadi senyawa sederhana yaitu *Trichoderma reesei*. *Trichoderma reesei* mampu menghasilkan *endoglucanase*, *cellohydrolase* dan β -*glucosida* (Rafledge, 1994). Pemecahan selulosa menggunakan *Trichoderma reesei* mempunyai keunggulan dari pada menggunakan mikroorganisme lain. Keunggulannya terletak pada kondisi pertumbuhan untuk produksi enzim, isolasi dan purifikasi enzim, dan kapasitas dari enzim yang diisolasi (Tortora, *et al*, 2001). Sedangkan menurut Setiawarhardja, *et al*, (2000) *Trichoderma reesei* mempunyai aktivitas selobiohidrolase lebih tinggi dibanding dengan *Trichodroma viride*. Aktivitas selobiohidrolase yang dihasilkan oleh

Trichoderma reesei sebesar 3.28 UI/ml yang dicapai pada hari keempat sedangkan yang dihasilkan *Trichoderma viride* sebesar 2.83 UI/ml dicapai pada hari ke enam.

1.2 Perumusan Masalah

Permasalahan dari penelitian ini adalah:

- a. Apakah konsentrasi rumput laut *Eucheuma cottonii* berpengaruh terhadap glukosa cair yang dihasilkan?
- b. Apakah lama fermentasi berpengaruh terhadap banyaknya glukosa cair yang dihasilkan dalam proses fermentasi dengan kapang *Trichoderma reesei*.
- c. Apakah lama fermentasi dan konsentrasi rumput laut *Eucheuma cottonii* berpengaruh terhadap produksi glukosa cair.
- d. Berapakah konsentrasi rumput laut *Eucheuma cottonii* dan lama fermentasi yang optimum mampu menghasilkan glukosa cair secara maksimal.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- a. Mengetahui konsentrasi *Eucheuma cottonii* yang dipakai sebagai substrat untuk menghasilkan glukosa cair dalam proses fermentasi.
- b. mengetahui lama fermentasi yang optimum dalam proses fermentasi glukosa cair menggunakan kapang *Trichoderma reesei*.
- c. Mengetahui bahwa lama fermentasi dan konsentrasi rumput laut *Eucheuma cottonii* berpengaruh terhadap produksi glukosa cair.
- d. Mengetahui konsentrasi *Eucheuma cottonii* dan lama fermentasi yang optimum terhadap produksi glukosa cair.

1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan agar dapat meningkatkan nilai ekonomis dari rumput laut *Eucheuma cottonii* sehingga mempunyai prospek yang lebih baik dimasa depan.

1.5 Hipotesis

- a. Perbedaan konsentrasi dari *Eucheuma cottonii* yang digunakan sebagai substrat dalam proses fermentasi berpengaruh terhadap glukosa cair yang dihasilkan oleh *Trichoderma reesei*.
- b. Lama fermentasi berpengaruh terhadap banyaknya glukosa cair yang dihasilkan dalam proses fermentasi menggunakan kapang *Trichoderma reesei*.
- c. Konsentrasi dan lama fermentasi berpengaruh terhadap banyaknya glukosa cair yang dihasilkan oleh *Trichoderma reesei* dalam proses fermentasi.
- d. Perbedaan konsentrasi dan lama fermentasi yang optimum berpengaruh terhadap produksi glukosa cair dalam proses fermentasi..

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Dasar Fakultas Perikanan, Laboratorium Ilmu-Ilmu Perairan (IIP) Fakultas Perikanan, Laboratorium Pengujian Mutu Dan Keamanan Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya dan Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang. Pada bulan Maret-Mei 2007.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sirup Glukosa

Sirup glukosa adalah larutan gula yang dipekatan, diperoleh dari pati dan mempunyai DE (*Dekstrosa Equivalen*) 20 atau lebih (deMan, 1997).

Sirup glukosa dapat dibuat secara non enzimatis dan enzimatis. Pembuatan secara non enzimatis dilakukan dengan cara hidrolisis pati dengan asam kuat misalkan HCl. Pada konsentrasi yang encer 100% pati dapat diubah menjadi glukosa. Tetapi bila terlalu encer juga kurang efisien karena akan terjadi reversi (Winarno, 1986). Sedangkan secara enzimatis meliputi proses likuifikasi, sakarifikasi, penjernihan dan penetralan kemudian diakhiri dengan evaporasi. Likuifikasi merupakan proses hidrolisis pati menjadi dekstrin oleh enzim α -amilase dengan suhu diatas suhu gelatinisasi dengan pH optimum untuk aktivasi α -amilase selama waktu yang telah ditentukan untuk setiap jenis enzim. Sesudah itu suhu dipertahankan pada 105⁰C pada pH 4-7 untuk pemasakan sirup sampai semua amilosa terdegradasi (Richana, 2006). Pemotongan rantai pati oleh asam lebih teratur dibandingkan dengan hasil pemotongan rantai pati oleh enzim, sehingga hasilnya adalah campuran antara dekstrin, maltosa dan glukosa. Hasil hidrolisis enzim lebih dapat dikendalikan sehingga dapat diatur kadar maltosa atau glukosanya (Tjokroadikoesoemo, 1986)

Nilai dekstrose ekuivalen (DE) sirup glukosa berkisar antara 20-68% (Belitz and Grosch 1999),. *Dekstrose equivalen* (DE) adalah jumlah gula reduksi total dinyatakan sebagai dekstrosa dan dihitung sebagai persentase dari bahan kering total (deMan 1997),

Warna gelap dan aroma pada glukosa cair disebabkan oleh berbagai macam antarlain: ion organik dalam metode hidrolisa asam, kontaminasi protein dan hidrolisa enzimatis yang tidak sempurna (Widjanarko, 2000).

Pembuatan glukosa cair menggunakan mikroorganismemempunyai kelebihan pada biaya produksi yang dihasilkan bebas dari ion-ion atau logam-logam berat yang tidak diinginkan (Saparianti, *et al*, 2001). Syarat mutu sirup dapat dilihat pada Tabel 1 dan tingkat kemanisan gula terdapat pada Tabel 2.

Tabel 1. Syarat mutu sirup

No	Kriteria	Satuan	Persyaratan
	Keadaan		
	1. Bau	-	Normal
	2. Rasa	-	Normal
	Glukosa	% b/b	Maks 0.5
	Total energi	Kkal/sajian	Sesuai dengan label
	Bahan tambahan makanan		
	1. pemanis buatan	Sesuai SNI	
	2. pewarna tambahan	0-0222-	
	3. pengawet	1987	
	Cemaran logam		
	1. timbal	Mg/kg	Maks 1.0
	2. tembaga	Mg/kg	Maks 10
	3. seng	Mg.kg	Maks 25
	Cemaran arsen	Mg/kg	Maks 0.5
	Cemaan mikroba		
	1. bakteri bentuk koloni	Kol/ml	maks 20
	2. E.coli	Kol/ml	-
	3. salmonella	-	negatif
	4. <i>staphylococcus aureus</i>	Kol/ml	0
	5. <i>vibrio sp</i>	-	Negatif
	6. kapang	Kol/ml	Maks 50
	7. khamir	Kol/ml	Maks 50

Sumber : SNI 01-3698-1995

Tabel 2. Tingkat kemanisan gula

	produk	Relatif kemanisan	
1	Saccharose	1.00	Isolasi dari gula
2	Glukosa	0.5-0.8	Dihidrolisis oleh enzim atau asam (α amylase + glukomylase)
3	Fruktosa	1.1-1.7	1. Hidrolisis dari saccharose, proses pemisahan hidrolisatnya dengan khromatografi. 2. Hidrolisis dari glukosa, melalui isomerase dan pemisahan hidrolisatnya dengan kromatografi.
4	Laktosa	0.2-0.6	Isolasi dari whey
5	Mannitol	0.4-0.5	Hydrogenasi dari fruktosa
6	Sorbitol	0.4-0.5	Hydrogenasi dari glukosa
7	Xylitol	1.00	Hydrogenasi dari xylosa
8	Sirup glukosa (starch syrup)	0.3-0.5	Dihidrolisis oleh enzim/asam, komposisi hidrolisatnya sangat berpengaruh terhadap parameter proses (persentase glukosa, maltosa dan high oligosakarida)
9	Glukosa/fruktosa sirup	0.8-0.9	Isomerasi dari glukosa dengan derajat konversi 45-50%
10	hydrogenasi sirup glukosa	0.3-0.8	Hydrogenasi dari starch hydrolysate (sirup glukosa) komposisinya terdiri dari (sorbitol, mannitol dan hidrogenat dari oligosakarida)

Sumber : Beliz and Grosch (1999).

2.2 Glukosa

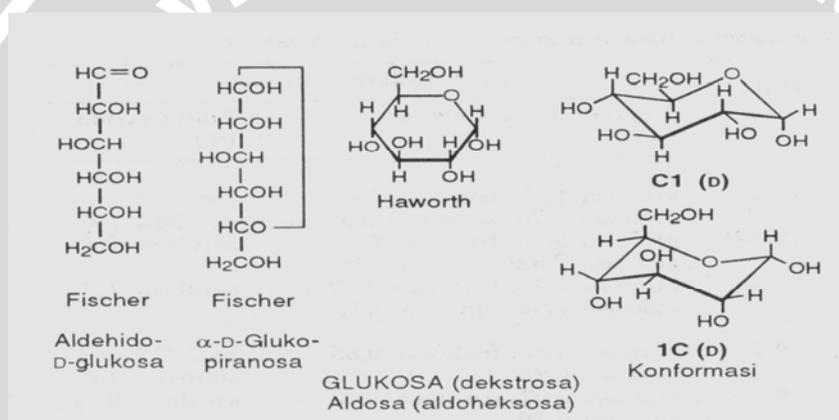
Glukosa merupakan gula yang paling banyak terdapat di alam sebagai bahan penyusun dari pada polisakarida misalkan pati, selulosa dan glikogen (Respati, 1980). Menurut Gaman dan Sherrington (1992), glukosa terdapat dengan jumlah yang bervariasi dalam sayuran dan buah-buahan. Kadar yang tinggi didapatkan pada buah-buahan seperti buah anggur sedangkan dalam jumlah sedikit dijumpai pada sayuran seperti kapri muda dan wortel.

Glukosa adalah monosakarida yang paling banyak terdapat sebagai produk dari proses fotosintesis dalam bentuk bebas yang terdapat dalam buah-buahan, tumbuhan, madu, darah dan cairan tubuh binatang. Dalam bentuk ikatan terdapat sebagai glikosida didalam tubuh binatang, sebagai disakarida dan polisakarida dalam tumbuh-tumbuhan. Glukosa juga dapat dihasilkan melalui hidrolisis polisakarida baik dengan cara asam maupun enzim (Tjokroadikoesoemo, 1986).

Glukosa disebut sebagai suatu gula monosakarida dalam bentuk aldehid (mengandung gugus C, H, O) lima karbon dan satu oksigen membentuk cincin yang disebut cincin piranosa bentuk stabil untuk aldosa berkarbon enam, dalam cincin ini tiap karbon terikat pada gugus samping hidrosil dan hidrogen kecuali atom kelima, yang terikat pada atom karbon keenam diluar cincin membentuk gugus CH_2OH . Struktur cincin ini berada dalam seimbang dengan bentuk yang lebih reaktif dan proporsinya 0.0026% pada pH 7 (Anonymous, 2006).

Menurut deMan (1997), struktur glukosa model Fischer menunjukkan gugus aldehida bebas dan hidrosil sekunder yang aktif optik. Karena reaksi kimia gula tidak sesuai dengan struktur lain, konfigurasi cincin yang melibatkan heamisetal antara karbon 1 dan 5 lebih tepat menggambarkan struktur monosakarida. Struktur cincin anggota lima

disebut furanosa; cincin anggota enam disebut piranosa. Struktur model Haworth tidak memperhatikan sudut ikatan yang sebenarnya, rumus tersebut lebih tepat menggambarkan molekul gula. Ada sejumlah konformasi kursi gula piranosa. Bentuk anomer gula dalam larutan berada dalam kesetimbangan taumerik dan ini menyebabkan perubahan putaran optik jika gula dilarutkan. Pada kondisi normal, memerlukan beberapa jam atau lebih untuk mencapai kesetimbangan. Pada suhu kamar larutan gula dalam air dapat berada dalam empat bentuk taumer. Struktur D- glukosa dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur D-glukosa (deMan, 1997)

Glukosa mempunyai dua bentuk kristal yaitu bentuk α mempunyai titik lebur 146°C , larutan baru mempunyai $[\alpha]^{\text{D}} = 112^{\circ}$ sedangkan bentuk β mempunyai titik lebur 150°C , larutan baru mempunyai $[\alpha]^{\text{D}} = 18.7^{\circ}$ (Respati, 1980).

2.3 Rumpuk Laut

2.3.1 Rumpuk Laut (Rhodophyceae)

Algae atau ganggang terdiri dari empat kelas berdasarkan pada pigmen warna yaitu *Rhodophyceae* (ganggang merah), *phaeophyceae* (ganggang coklat), *Chlorophyceae* (ganggang hijau), *Cyanophyceae* (ganggang hijau-biru) (Sugito, 2003). Menurut Seogiarto, *et al* (1985), penentuan *algae* merah berdasarkan warna akan mengalami sedikit kesulitan karena algae merah kadang-kadang berwarna hijau kekuning-kuningan, coklat kehitaman atau kuning kecoklatan. Perubahan warna pada satu jenis *algae* tersebut karena dipengaruhi oleh perubahan bentuk dan sifat luar (*fenotip*) akibat faktor lingkungan antara lain: iklim dan oseanografi yang cukup besar. Pigmen yang menentukan warna yaitu *Phycoerythrin* dan *Phycocyanin* yang terdapat pada *Rhodophyceae* sedangkan karoten dan klorofil terdapat pada keempat *algae* tetapi kandungan tiap-tiap *algae* berbeda.

Ciri-ciri umum pada algae merah adalah *thalli* (kerangka tubuh tanaman) bulat, bentuknya silindris atau gepeng, berwarna merah, merah coklat, hijau-kuning, bercabang selang tidak teratur *di* atau *trikhotomous*, memiliki benjolan-benjolan (*blund nodule*) dan duri-duri atau spines, substansi *thalli* "gelatinus" dan/atau "kartilagenus" (lunak seperti tulang rawan) (Aslan 1998). Alga merah hampir secara eksklusif sebagai habitat laut atau kelompok ini banyak dikenal sebagai *seaweed* (Winarno, 1990)

Salah satu anggota *Rhodophyceae* adalah *Eucheuma* umumnya hanya terdapat di daerah tertentu dengan persyaratan khusus. Kebanyakan tumbuh pada daerah pasang surut (*intertidal*) atau pada daerah yang selalu terendam air (*subtidal*) melekat pada substrat didasar perairan yang berupa karang batu mati, karang batu hidup, batu

gamping, atau *mulusca* (Aslan, 1998). Perbandingan komposisi alga merah dan alga coklat dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi Alga Coklat dan Alga Merah

Unsur	Kisaran kandungan dalam % berat kering	
	Ganggang Coklat	Ganggang Merah
Khlor	9.8-15.0	1.5-3.5
Kalium	6.4-7.8	1.0-2.2
Natrisium	2.6-3.8	1.0-7.9
Magnesium	1.0-1.9	0.3-1.0
Belerang	0.7-2.1	0.5-1.8
Silicon	0.5-0.6	0.2-0.3
Fosfor	0.3-0.6	0.2-0.3
Kalsium	0.2-0.3	0.4-1.5
Besi	0.1-0.2	0.1-0.15
Iodium	0.1-0.8	0.1-0.15
Brom	0.03-0.14	Di atas 0.005

Sumber : Winarno (1996)

2.2.2 Biologi dan Kandungan Gizi Rumput Laut *Eucheuma Cottonii*

Eucheuma cottonii merupakan salah satu anggota dari kelompok *algae* merah (*Rhodophyceae*) yang hingga saat ini merupakan salah satu komoditi ekspor non migas yang cukup penting di Indonesia, karena sangat dibutuhkan sebagai bahan baku pada industri karegenan (Afriyanto dan Liviaty, 1993). *Eucheuma cottonii* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Rumput laut jenis *Eucheuma cottonii* (Anonymous, 2007)

Klasifikasi *Eucheuma cottonii* menurut Soegiarto, *et al* (1985) adalah sebagai berikut:

Division	: Rhadophyta
Subdivision	: Rhadophytina
Class	: Rhadophyceae
Subclass	: Rhadophycidae
Ordo	: Bangiales
Subordo	: Bangiinales
Family	: Bangioideae
Genus	: <i>Eucheuma</i>
Species	: <i>Eucheuma cottonii</i>

Ciri-ciri *Eucheuma cottonii* yaitu *thallus silindris, permukaan licin cortilageneus* (menyerupai tulang rawan/ muda), serta berwarna hijau terang, hijau *olive* dan coklat kemerahan, percabangan *thallus* berujung runcing atau tumpul, ditumbuhi *nodulus* (benjolan-benjolan) dan duri tumpul/lunak untuk melindungi *gametangia*. Percabangan bersifat *alteranus* (berseling), tidak teratur, serta tidak bersifat *dichotomus* (percabangan dua-dua) atau *trichotomus* (percabangan tiga-tiga) (Anggadiredja, 2006). Kandungan komposisi rumput laut jenis *Eucheuma cottonii* terdapat pada Tabel 4.

Tabel 4. Kandungan gizi rumput laut *Eucheuma cottonii*

NO	Komposisi gizi	Persentase (%)
1	Kadar abu	19.92
2	Protein	2.80
3	Lemak	1.78
4	Serat kasar	7.02
5	Karbohidrat	68.48

Sumber : Lutfi (1998).

Standard mutu yang dikeluarkan oleh SK Menteri Pertanian No: 701/Kpts/TP.803/10/1987, mutu rumput laut ditetapkan sebagai berikut:

1. Bebas dari benda asing
2. Kadar air maksimum 35% (bobot/bobot)
3. Kadar abu maksimum 5% (bobot/bobot)
4. Kadar carragenan minimum 50% (jika diminta)

Mutu rumput laut kering menurut standard yang disampaikan pada seminar standarisasi dan pengawasan mutu barang tahun 1980, SP-102.80 adalah jenis *Eucheuma*, *Gracilaria*, *Gelidium* dan *Hypnea* yang digolongkan kedalam satu jenis mutu. Syarat mutu beberapa jenis rumput laut kering dapat dilihat pada Tabel 5

Tabel 5. Syarat mutu beberapa jenis rumput laut kering

Karakteristik	Syarat				Cara pengujian
	Eucheuma	Gelidium	Gracilaria	Hypnea	
1. Kadar air	32	15	25	20	SP-SMP-9-1975
2. Benda asing	5+	5++	5++	5++	SP-SMP-32-1975
3. Bau	Spesifik rumput laut	Spesifik rumput laut	Spesifik rumput laut	Spesifik rumput laut	Organoleptik

Sumber: Kanwil Perdagangan Propinsi Bali (1992).

Menurut Winarno (1990), sumber karagenan untuk daerah tropis adalah dari spesies *Eucheuma cottonii* yang menghasilkan kappa karagenin. Kappa karagenin tersusun dari α (1- \rightarrow 3) D-galaktosa-4 sulfat dan β (1- \rightarrow 4) 3,6 anhydro D-galaktosa, disamping itu karagenin sering mengandung D-galaktosa-6-sulfat ester dan 3,6 anhydro D-galaktosa 2 sulfat ester. Adanya gugus 6 sulfat dapat menurunkan daya gelasi dari karagenin, tetapi

dengan pemberian alkali mampu menyebabkan terjadinya transeliminasi gugus 6 sulfat yang menyebabkan terbentuknya 3.6 anhydro D-galaktosa, dengan demikian derajat molekul mengikat dan daya gelasnya juga bertambah.

2.4 Selulosa

Selulosa adalah salah satu komponen utama dinding sel tumbuhan, terutama dinding sel sekunder. Selulosa mempunyai polimer satuan D-glukosa dengan ikatan β -(1-4) (Robinson, 1995). Setiap molekul selulosa bebrbentuk batang yang cukup kaku dan akan menggulung secara acak, asalkan rantainya cukup panjang. Kecenderungan untuk menggulung dipengaruhi oleh gaya-gaya diantara unit-unit maupun interaksi antara polimer dan pelarut (Sastrohumidjojo 1995). Menurut Nicholson (1997), D-glukosa daya larutnya sangat tinggi sedangkan selulosa tidak laut air, hal itu karena *Hydroxil-group* pada selulosa mempunyai prinsip bahwa *Hydroxil-group* mampu bereaksi dengan molekul selulosa sehingga tidak larut air.

Menurut Sastrohumidjojo (1995) selulosa merupakan homopolisakarida yang tersusun atas unit-unit β -D-glukoinosa yang terikat satu sama lain dengan ikatan-ikatan glikosida (1-4). Molekul-molekul selulosa seluruhnya terbentuk linear dan mempunyai kecenderungan kuat membentuk ikatan-ikatan hidrogen intra dan intermolekul. Jadi berkas-berkas selulosa membentuk agregat bersama-sama dalam mikrofibril, pada tempat yang sangat teratur (kristalin) diselingi dengan tempat kurang teratur (amorf)

Molekul selulosa memanjang dan kaku, meskipun didalam larutan. Gugus karboksil yang menonjol dari rantai ini, yaitu membentuk ikatan hidrogen dengan mudah mengakibatkan kekristalan dalam batas tertentu, daerah kristal lebih rapat, lebih tahan enzim dan preaksi kimia pada daerah non kristal. Derajad kekristalan yang tinggi

menyebabkan modulus kekenyalan sangat meningkat dan daya renggang serat selulosa menjadi liat. Daerah selulosa amorf menyerap air dan mengembang, maka daerah gel amorf selulosa makin bersifat kristal jika air dihilangkan dari makanan. Pengeringan bahan makanan yang mengandung selulosa dapat mengakibatkan bahan tersebut makin liat, plastisitas dan daya gembung menurun (deMan, 1997).

Setiap serat selulosa tersusun oleh kira-kira 3000 molekul glukosa dan berat molekulnya diperkirakan mencapai 500.000. Derajat polimerisasi selulosa pada serat kapas yang belum terurai ialah kira-kira 10.000, sedangkan pada kulit kayu berkisar antara 600-1000 dan pada selulosa turunannya sebesar 200-600 (Hardjo, *et al*, 1989). Menurut Winarno (1986), kapas mempunyai derajat polimerisasi yang relatif tinggi sedangkan kayu mempunyai derajat relatif lebih rendah, hal itu karena adanya konfigurasi β , molekul mudah membentuk ikatan hidrogen dan membentuk substrat kristal. Molekul kapas terdiri dari 98% selulosa, sedangkan kayu biasanya 40-50% selulosa sisanya terdiri dari xilan dan glukomanan.

Menurut Candrasekaran (1997), selulosa terdiri dari bentuk kristal yang mempunyai empat kriteria yaitu:

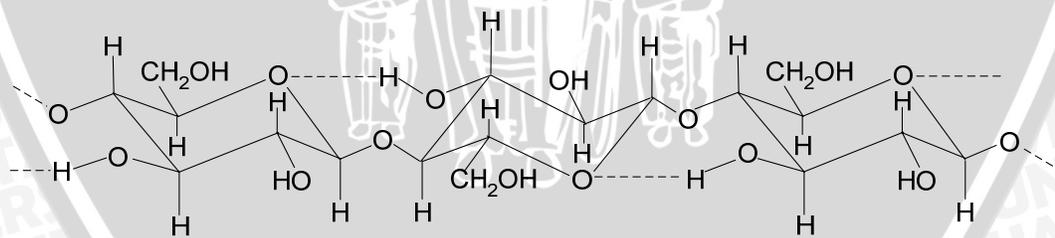
Selulosa I : Bersifat alkali dan berdasarkan sinar X menunjukkan bahwa selulosa terdiri dari unit sel *monoclinic* dengan dimensi panjang gelombang
 $\alpha=8.14 \lambda$, $\beta=7.85 \lambda$ $C=10.3 \lambda$, $\gamma=96.6^0(7.8)$.

Selulosa II : Diperoleh dari regenerasi selulosa I dan mempunyai dimensi unit cell
 $\alpha=8.01 \lambda$, $\beta=9.04 \lambda$ $C=10.36 \lambda$, $\gamma=117.1^0(9.10)$.

Selulosa III : Diperoleh dari suatu perlakuan memanaskan cairan amonia sampai suhu 80°C merupakan gabungan dari selulosa Internal dan selulosa II dimensi unit selnya adalah $\alpha = 7.78 \lambda$, $\beta = 10.25 \lambda$ $C = 10.34 \lambda$, $\gamma = 122.4^{\circ}(12)$.

Selulosa IV : diperoleh dengan pemanasan selulosa III sampai suhu 260°C terdiri dari bentuk selulosa yaitu selulosa IV_I dan selulosa IV_{II}. Perbedaannya adalah untuk selulosa IV_I terdiri dari 2 rantai paralel dan selulosa IV_{II} Struktur rantainya tidak paralel. Dimensi unit selnya adalah $\alpha = 8.01 \lambda$, $\beta = 8.12 \lambda$ $C = 10.34 \lambda$.

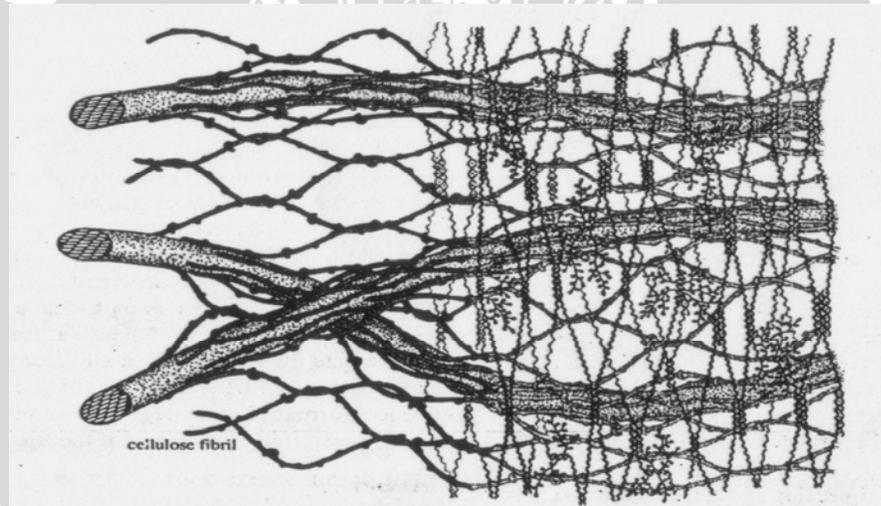
Selulosa terdiri dari rantai-rantai lurus unit β -D-glukopinosa yang dihubungkan oleh ikatan β [1 \rightarrow 4] (Martin, *et al*, 1984). Menurut Candrasekaran (1997), struktur selulosa berupa polimer lurus dari 4- β -D glukosa dengan derajat polimerasi >3000 . Menurut Respati (1980), gugus OH pada selulosa dapat diesterkan dengan asam-asam organik/anorganik, sehingga mampu mengubah sifat-sifat polisakarida. Gambar susunan rantai kimia datar dari selulosa seperti pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur rantai kimia selulosa (Coultate, 1984)

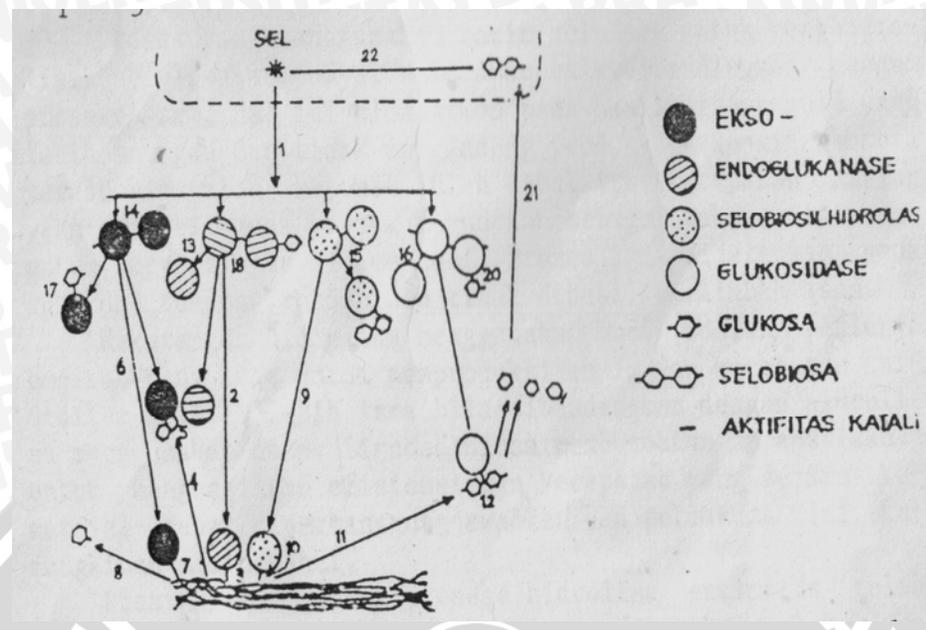
2.4.1 Hidrolisis Selulosa

Hidrolisis selulosa oleh aktivitas tanaman sendiri sangat terbatas, tetapi jumlah kapang dan bakteri yang hidup dari substrat dan hasil-hasil pertanian dapat menghasilkan sejenis enzim selulase yang dapat menghidrolisis senyawa yang lebih sederhana (Tjokroadikoesoemo, 1986). Menurut Hardjo, *et al* (1989), sistem dinamik selulosa dan pelaku biodegradasi enzim selulase dihasilkan baik oleh organisme ataupun ditambah seagai sel bebas untuk hidrolisa selulosa. Komponen selulosa ini tergantung pada fungsi individualnya dalam mengkatalis reaksi dengan teratur atau secara paralel untuk memecah ikatan panjang selulosa menjadi glukosa. Model progresif pemecahan selulosa dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Model progresif pemecahan selulosa (Adam and Nout, 2001)

Hidrolisis selulosa dengan asam atau enzim menghasilkan pertama-tama selodekstrin yang mengandung 30 satuan glukosa atau lebih sedikit, kemudian selodekstrin dipecah lagi menjadi selobiose dan akhirnya menjadi glukosa (Robinson, 1995). Mekanisme biodegradasi selulosa oleh aktivitas enzim dapat dilihat pada Gambar 5, sedangkan Tabel 6 memberikan keterangan ringkasan masing-masing tahapan.



Gambar 5. Mekanisme biodegradasi selulosa oleh aktivitas enzim (Hardjo, *et al*, 1989)



Tabel 6. Keterangan Gambar mekanisme biodegradasi selulosa oleh aktivitas enzim

Tahapan	Keterangan
1	Sekresi komponen selulase dari sel
2	Difusi endoglukanase pada permukaan daerah amorf
3	Adsorpsi endoglukanase pada sisi aktif membentuk kompleks
4	Pelepasan ikatan pendek oligosakarida dari kompleks selulosa-endoglukanase
5	Reaksi ulang dari ikatan pendek oligosakarida dengan endoglukanase untuk memberikan ikatan pendek. Reaksi ikatan pendek oligosakarida dengan eksoglukanase untuk melepaskan glukosa dari ikatan akhir selulosa yang tidak tereduksi
6	Difusi eksoglukanase pada permukaan daerah amorf
8	Pelepasan glukosa dari akhir kompleks selulosa-eksoglukanase yang tidak tereduksi
9	Difusi selobiohidrolase pada permukaan daerah kristal
10	Adsorpsi selobiohidrolase pada sisi aktif membentuk kompleks
11	Pelepasan selobiose dari akhir kompleks selulosa-selobiohidrolase yang tidak tereduksi
12	Reaksi selobiosa dengan glukosidase membentuk glukosa
13, 14, 15, 16	Deaktivasi komponen selulosa
17, 18, 19, 20	Penghambatan komponen selulosa
21	Ingesti produk sel
22	Pengaturan produksi selulase melalui induksi dan represi

Sumber : Hardjo, *et al* (1989).

2.5 Enzim

Enzim adalah substansi yang dihasilkan oleh sel-sel hidup dan berperan sebagai indikator pada reaksi kimia yang sedang berlangsung dalam organisme. Katalisator adalah substansi yang mempercepat reaksi, tetapi pada akhir reaksi substansi tersebut tidak ikut berubah (Gaman and Sherrington, 1992). Aktivitas katalik oleh enzim bersifat reversible dan irreversible (Fox, 1991). Menurut Manitol (1981), tiga sifat utama dari biokatalisator yaitu

1. Menaikkan kecepatan reaksi
2. Mempunyai kekhususan dalam reagen dan produk,
3. Kontrol kinetik

Menurut Winarno (1986), enzim karbohidrase merupakan enzim yang mempunyai peranan penting didalam industri pangan yaitu memecah senyawa pati seperti amilase, invertase, laktase, selulase dan enzim pemecah pati seperti poligalakturose dan pektin metil esterasi.

2.5.1 Enzim Selulosa

Enzim selulosa adalah enzim yang memutuskan ikatan glikosida D-1.4 didalam selulosa. Enzim ini terdiri dari tiga komponen yaitu selobiohidrolase, endoglukonase dan D-glukosidase yang bekerja sinergis untuk memecah selulosa dialam (Salmam dan Gunarto, 1999). Menurut Maemonah, *et al* (2006), enzim selulosa adalah enzim kompleks untuk menguraikan selulosa. Winarno (1986), menambahkan bahwa selulosa merupakan nama umum atau trivial bagi enzim, sedangkan nama sistematiknya adalah β -1.4 glukon-4-glukohidrolase.

Enzim selulotik secara sederhana diklasifikasikan ke dalam tiga kelompok, yaitu 1,4- β -D-glukan sellobiohidrolase (EC 3.2.1.91) yang menghilangkan unit sellobiosa dari

ujung rantai selulosa non pereduksi. Nama lainnya yang digunakan adalah sellobiohidrolase, exoglukanase, exosellulase, sellobiodase, dan avisellase. Kelompok yang kedua adalah 1,4- β -D-glukan-4-glukanohidrolase (EC 3.2.1.4) yang menghidrolisis secara internal ikatan 1,4- β -D-glikosidik pada selulosa, lichenin, dan sereal. Nama lainnya adalah andoglukanase, endo-1,4- β -glukanase dan CM-selulase. Kelompok yang ketiga adalah β -D-glukosida glukohidrolase (EC 3.2.1.21) yang menghidrolisis sellobiosa dan menghilangkan glukon dari ujung sello-oligosakarida non pereduksi serta glikosil berubah menjadi sellobiosa. Kelompok ini dikenal sebagai β -glukosidase dan sellobiase (Wong, 1995).

Menurut Hardjo, *et al* (1989), komponen enzim ada empat kelompok besar berdasarkan spesifikasi substrat masing-masing:

1. Enzim endo- β -1,4 glukanase (β -1,4-D-glukan-4-glukanohidrolase EC 3.2.1.4) menghidrolisis ikatan glikosidik β -1,4 secara acak. Enzim β -1,4 glukan sellobiohidrolase (EC 3.2.1.91) menyerang ujung rantai selulosa non pereduksi dan menghasilkan sellobiosa.
2. Enzim β -1,4-D-glukan glukohidrolase (EC 3.2.1.74) menyerang ujung rantai selulosa non pereduksi dan menghasilkan glukosa. Enzim β -1,4-glukosidase (β -1,4-D-glukosidase EC 3.2.2.21) yang menghidrolisis sellobiosa dan rantai pendek seloolisakarida dan juga menghasilkan glukosa.

2.6 Kapang *Trichoderma reesei*

Trichoderma digolongkan dalam kingdom kapang yang mempunyai septa (hifa bersekat) (Fardiaz, 1992). Menurut Buckle *et al* (1987) kapang adalah multiseluler, terdiri dari banyak sel yang bergabung menjadi satu. Kapang tumbuh dengan cara perpanjangan hifa pada ujungnya, dikenal dengan pertumbuhan apikal atau pertumbuhan bagian tengah yang disebut dengan pertumbuhan interkalar. Hifa kapang mempunyai penyekat melintang atau septa dan hifa akan memanjang diatas atau tembus melalui medium, dimana kapang tersebut dapat tumbuh.

Menurut Schlegel (1976), tahapan konidium jenis cendawan *imperfeti* sangat mirip dengan tahapan konidium *Ascomycetes* yang sudah amat terkenal. Fungi *imperfet* dapat dianggap mewakili *Ascomycetes* yang belum ditemukan askusnya atau tahap ini menghilang dalam perjalanan evolusi. Tetapi, cendawan ini, seperti juga pada *Basidiomycetes* dan *Acomycetes* lain telah dibuktikan paraseksualitasnya. Pada jenis ini juga berlangsung plasmogami, kaniogami, dan meiosis dalam keadaan perkembangan tertentu. Sedangkan menurut Zubaidah, *et al* (2006), panjang hifa dipengaruhi kondisi pertumbuhan, jika kondisi pertumbuhan diatas medium maka hifa yang terbentuk panjang-panjang sedangkan dibawah meduim hifa yang terbentuk berukuran pendek dan bercabang.

Genus *Trichoderma* mampu menghasilkan enzim selulosa untuk pengoposan limbah organik antara lain *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma hamatum*, *Truchoderma koningii*, *Trichoderma pseudokoningi* (Salman dan Gunarto, 1999).

Diantara berbagai organisme, hanya beberapa saja yang menghasilkan filtrat kultur fermentasi yang mampu mendegradasi selulosa kristalin. Pada umumnya filtrat yang mengandung enzim selulosa kurang aktif bila dibandingkan dengan aktivitas selulolitik

pada waktu pertumbuhan mikroba. Walaupun demikian *trichoderma reesei* telah diketahui sebagai organisme yang mampu memproduksi 160-20 IU selulase pergram selulosa murni sedangkan *Trichoderma viride* mampu menghasilkan selulose dengan aktivitas karboksi metil selulose (CMC)59-152 (Rahman, 1992). *Trichoderma reesei* diinkubasi pada suhu 30 °C dan menghasilkan 0.5 unit/ml amilase, 1.6 unit/ml CMCase dan 0.4 unit/ml β -glucosidase (Anonymous, 2007).

Berdasarkan hasil penelitian menyatakan bahwa *Trichoderma reesei* mampu menghasilkan *endoglucanase*, *cellohydrolase* dan *β -glucosida*. *Endoglucanase* ering disebut Carboksi Metil Celulose (CMC), karakteristik dari *endoglucanase* dapat digunakan untuk menentukan spesifik fluid dari CM-selulosa dalam keadaan meningkat atau menurun. Produk akhir dari aktivitas *endoglucanase* yaitu glukosa dan sellobiosa (Rafledge, 1994). Menurut Wong (1998) *Trichoderma reesei* mampu menghasilkan *endoglukanase* dengan struktur primer Eg II dan Eg III (*endoglukanase* II dan *endoglucanase* III). *Endoglucanase* I terdiri dari 459 asam amino sedangkan pada *endoglucanase* III terdiri dari 418 asam amino.

Cellobiohydrolase mampu mendegradasi selulosa menjadi selobiose. Beberapa cellobiohydrolasemampu mensintesis substrat antara lain *p-nitrophenil - β -D cellobioside* dan *p-nitrophenil- β -D lactoside* (Rafledge, 1994). Dua cellobiohydrolase Cbh I dan Cbh II yang dihasilkan oleh *Trichoderma reesei*. *cellobiohydrolase* Cbh I terdiri dari 496 asam amino dengan *N-terminal phyroglutamil* sebagai residu sedangkan Cbh II terdiri dari 447 asam amino (Wong, 1998).

β -Glucosidase mampu menghasilkan selulosa menjadi selobiose dan beberapa cello-olisakarida terlarut sampai menjadi glukosa, dengan nitrophenil glucosida atau 4-

methylumbelliferyl glucosid sebagai substrat (Ratledge, 1994). β -glucosidase yang dihasilkan oleh *Trichoderma reesei* terdiri intraselluler dan ekstraselluler. β -glucosidase yang dihasilkan oleh *Trichoderma reesei* terdiri dari 713 asam amino dengan pH optimum 4.5 pada suhu 70°C (Wong, 1998).

Menurut Tortora, *et al* (2001), *Trichoderma* merupakan fungi selulotik yang mampu mendegradasi selulosa menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana. *Trichoderma reesei* mampu tumbuh pada media yang sederhana karena tidak membutuhkan suplemen yang spesifik sebagai faktor pertumbuhan. Terdiri dari benang-benang *myselia* pendek dan pH optimum 3, tetapi masih mampu tumbuh pada pH 2.5. dari beberapa penelitian menyebutkan bahwa *Trichoderma reesei* mampu memproduksi SCP (*Single Cell Protein*).

2.7 Fermentasi

Fermentasi adalah suatu reaksi oksidasi-reduksi didalam bologi yang menghasilkan energi. Energi tersebut digunakan sebagai donor dan aseptor elekteron dalam senyawa organik. Senyawa organik yang digunakan adalah karbohidrat dalam bentuk glukosa. Senyawa tersebut akan diubah oleh reaksi reduksi dengan katalis enzim menjadi suatu bentuk lain misalkan aldehid serta dapat dioksidasi menjadi asam. (Sastroadinoto, 1979). Menurut Wijanarko (2000), fermentasi adalah proses metabolisme oleh mikroba pada substrat, dimana karbohidrat dan senyawa senyawa dioksidasi dengan menghasikan energi dan senyawa organik baru. Senyawa organik tersebut merupakan produk hasil degradasi karbohidrat, sehingga hanya senyawa karbohidrat yang dioksidasi, sehingga jumlah energi yang dihasilkan sedikit. Proses perombakan karbohidrat menjadi senyawa organik baru tersebut melalui proses fermentasi menurut siklus embden parnas.

Menurut Rahman (1992), berdasarkan mikroorganisme yang aktif, produk fermentasi dapat dikelompokkan menjadi :

1. Fermentasi khamir
2. Fermentasi kapang
3. Fermentasi bakteri
4. Fermentasi campuran

Kadang-kadang proses fermentasi yang diharapkan tidak dapat berlangsung dengan optimal, bahkan terjadi proses pembusukan yang dapat menimbulkan bau busuk. Hal ini karena kondisi lingkungan tercemar (tidak terkontrol) sehingga proses pertumbuhan bakteri pembusuk sangat pesat dan aktivitas jamur atau kapang yang berperan dalam proses fermentasi terhambat (Afrianto dan Liviawaty, 1989).

Mikroba-mikroba dalam fermentasi meliputi ragi, kapang dan bakteri karena organisme-organisme tersebut tidak memiliki klorofil sendiri, sehingga tidak dapat merombak senyawa anorganik menjadi organik (Tjokroadikoesoemo, 1986).

Menurut Rahman (1989), tiap proses fermentasi mendayagunakan aktivitas biokimia suatu mikroba. Beberapa kelebihan fermentasi menggunakan mikroorganisme antar lain:

1. mikroba merupakan organisme yang berukuran sangat kecil, sehingga ratio permukaan terhadap volume lebih tinggi. Hal ini memungkinkan difusi nutrisi dari medium kedalam sel berlangsung cepat, sehingga reaksi-reaksi metabolisme berlangsung dengan kecepatan tinggi.
2. aktivitas biokimia mikroba mempunyai dasar yang sama tetapi masih dapat ditemui berbagai macam variasi terhadap pola dasar tersebut. Hal ini terbukti dari banyaknya ragam bahan baku atau substrat yang dapat dicerna dan banyak

produk yang dapat dihasilkan, sehingga memungkinkan suatu industri fermentasi tidak tergantung hanya pada satu macam substrat.

3. proses yang berlangsung karena aktivitas mikroba dan produk yang dihasilkan biasanya tidak menimbulkan gangguan terhadap lingkungan.

2.8 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroba Selama Proses

Fermentasi:

Fermentasi merupakan proses perombakan senyawa anorganik menjadi senyawa oleh mikroorganisme. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme selama proses fermentasi ialah: konsentrasi substrat, nutrisi, suhu, pH, earasi, inokulum dan lama fermentasi.

2.8.1 Konsentrasi Substrat Dan Nutrisi

Semua mikroorganisme memerlukan nutrisi dasar sebagai sumber karbon, nitrogen, energi dan faktor esensial pertumbuhan (mineral dan vitamin) untuk menopang pertumbuhan. Unsur-unsur nutrisi dasar tersebut disamping menyediakan energi juga digunakan untuk pembentukan konstituen seluler. Konsentrasi substrat dan nutrisi yang dibutuhkan bervariasi sesuai dengan proses dan mikroorganisme (Machfud, *et al*, 1989). Tjokroadikoesoemo (1986), menambahkan bahwa produktivitas enzim dapat dicapai setinggi-tingginya maka konsentrasi larutan pada pemasukan harus relatif besar.

Pertumbuhan mikroorganisme tergantung pada tersedianya air, bahan-bahan yang terlarut yang digunakan mikroorganisme untuk pembentukan sel. Bahan-bahan nutrisi terdiri dari unsur-unsur makro yaitu C, H, O, N, S, P, K, Ca Mg, dan Fe sedangkan unsur mikro terdiri dari mangan, seng dan tembaga (Schlegel, 1994).

Menurut Adam and Nout (2001), nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme terdiri dari:

1. Carbon dan Nitrogen

Mikroorganisme memerlukan carbon organik yang merupakan raw material dari karbohidrat (monomers, dimers, polisakarida seperti pektin, hemiselulosa dan selulosa). Sumber nitrogen utama yang dimanfaatkan oleh mikroba heterofik adalah asam amino. Mikroba juga membutuhkan zat-zat lain selain nitrogen dan carbon misalkan inorganik [NH_4^+] atau organik nitrogen [urea, asam amino, peptida, phosphorus], phosphorus [inorganik phosphat atau phosphat ester] dan sulfur [sulfate, sulfite, metionin, glutatione]

2. Mineral

Mineral merupakan suatu logam yang digunakan untuk pertumbuhan oleh mikroorganisme. Jenis mineral mineral yang digunakan antara lain : iron, magnesium, pottasium, sodium dan calsium.

3. Vitamin

Vitamin merupakan substansi untuk media penunjang pertumbuhan. yeast membutuhkan vitamin seperti *biotin*, *pantotenic acid*, *inositol*, *tiamin*, *asam nicotin* dan *pyridoxine*. Sedangkan riboflavin dan asam folic selain digunakan oleh yeast juga digunakan oleh beberapa bakteri untuk media pertumbuhan.

Sebagian mikroba membutuhkan vitamin B pada kadar yang relatif rendah.

2.8.2 Suhu

Banyak penelitian mengemukakan bahwa laju pertumbuhan sangat tergantung pada suhu. Hal ini disebabkan karena pertumbuhan merupakan serangkaian reaksi kimia yang sangat dipengaruhi oleh suhu (Mahfud, *et al*, 1989). Tiap-tiap golongan mikroba

mempunyai suhu pertumbuhan optimal sehingga pengaturan suhu suatu substrat merupakan kendali yang positif terhadap pertumbuhan untuk mendapatkan hasil yang maksimal. Selama dalam proses fermentasi harus diciptakan kondisi yang optimal bagi pertumbuhan jamur dan bakteri (Desrosier, 1988).

Perubahan suhu pertumbuhan yang besar (ekstrim) mengakibatkan inaktifnya struktur fungsional sel. Oleh karena itu suhu harus dipertahankan pada titik optimum sehingga aktivitas metabolik sel dan pertumbuhan dapat optimal (Machfud, *et al*, 1989). Menurut Zubaidah, *et al* (2006), jika suhu diturunkan dari suhu optimum pertumbuhan mikroba dapat berlangsung lambat, sebagian merupakan akibat dari lambatnya reaksi enzimatis yang berlangsung dalam sel.

2.8.3 pH

Keasaman dan kebasahan pada lingkungan mempunyai pengaruh yang signifikan pada aktivitas dan stabilitas makromolekul seperti enzim, maka dari itu pertumbuhan dan metabolisme dari mikroba sangat dipengaruhi oleh pH. Sebagian mikroba dapat tumbuh baik pada kisaran pH netral (6.6-7.5) dan sedikit dapat bertahan dibawah pH 4.0 bakteri lebih rentan terhadap pH ekstrim dibanding kapang dan khamir (Zubaidah, *et al*, 2006). Selang pH pertumbuhan organisme dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Selang pertumbuhan mikroorganisme

mikroorganisme	Suhu pertumbuhan		
	Min	optimal	maksimal
Bakteri	3-5	0.5-7.5	8-10
Khamir	2-3	4.5-5.5	7-8
Kapang	1-2	4.5-5.5	7-8

Sumber: Machfud, *et al* (1989).

pH pada sirup yang diolah mempengaruhi aktivitas dan stabilitas enzim serta pembentukan warna. Aktivitas maksimum dapat dicapai pH sekitar 7.8-8.3 dan aktivitas tersebut menurun dengan cepat pada pH 7 sehingga enzim menjadi tidak aktif pada pH 5 dan diatas 9 (Tjokroadikoesoemo, 1986).

2.8.4 Aerasi

Untuk semua mikroorganisme aerob obligatif, oksigen merupakan aseptor elektron yang sangat penting. Mikroorganisme hanya mampu mengolah oksigen terlarut selama dalam larutan biak, ditambahkan juga garam-garam mineral dan nutrien organik pada kadar yang memungkinkan (Schlegel, 1994).

Menurut Machfud, *et al* (1989), sebagian besar proses fermentasi merupakan proses aerobik. Aerasi dan agitasi (pengadukan) bertujuan untuk mensuplai oksigen dan mencampur cairan fermentasi sehingga membentuk suspensi yang seragam, aerasi diperlukan karena kebutuhan oksigen cukup tinggi dengan kelarutan oksigen dalam media cair rendah (0.9mg/100 ml pada suhu 25⁰C) dan kelarutan menurun dengan naiknya suhu.

Produksi biomassa maksimum dapat dicapai dengan mempertahankan konsentrasi oksigen terlarut lebih besar dari pada konsentrasi kritis. Jika konsentrasi oksigen lebih rendah dari pada konsentrasi kritis maka metabolisme sel akan terganggu, tetapi karena fermentasi bertujuan untuk memproduksi produk metabolisme tertentu. Demikian pula hanya jika konsentrasi oksigen lebih besar dari pada, konsentrasi kritis mungkin dapat menstimulir pembentukan produk fermentasi, walaupun tidak berpengaruh terhadap peningkatan produksi biomassa (Rahman, 1989).

7.8.5 Inokulum Fermentasi

Inokulum adalah kultur mikroba yang diinokulasi kedalam medium fermentasi pada saat kultur mikroba tersebut berada pada fase eksponensial (Rahman, 1989). Menurut Buckle, *et al* (1987), bila suatu mikroorganisme diinkulasi pada nutrisi segar maka pertumbuhan yang terlihat mula-mula adalah suatu pembesaran ukuran volume dan berat sel. Selain kondisi yang memungkinkan maka pertumbuhan dan pembelahan sel berlangsung terus sampai sejumlah besar populasi sel terbentuk.

7.8.6 Lama Fermentasi

Lama fermentasi merupakan waktu yang diperlukan oleh enzim untuk mengadakan kontak dengan substrat sehingga mampu menghasilkan produk primer ataupun produk sampingan seperti pembentukan warna. Pembentukan produk sampingan dapat ditekan apabila waktu kontak dapat diatur seoptimal mungkin. Aktivitas dan stabilitas enzim dipengaruhi oleh waktu reaksi antara enzim dan substrat, waktu reaksi yang diperlukan sekitar 48-96 jam (Tjokroadikoesoemo, 1986).

Lama fermentasi berpengaruh terhadap fase pertumbuhan mikroba, menurut Zubaidah, *et al* (2006), fase pertumbuhan mikroorganisme ada 6 fase yaitu:

1. Fase adaptasi

Jika mikroba dipindahkan kedalam suatu medium, mula-mula akan mengalami fase adaptasi untuk menyesuaikan kondisi lingkungan sekitar.

2. Fase pertumbuhan awal

Setelah mengalami fase adaptasi, mikroba mulai membelah dengan kecepatan yang rendah karena baru menyesuaikan diri.

3. Fase pertumbuhan logaritmik

Pada fase ini mikroba membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik. Pada fase ini mikroba membutuhkan energi lebih besar dari pada fase sebelumnya.

4. Fase pertumbuhan lambat

Pada fase ini populasi masih naik karena jumlah sel yang tumbuh masih banyak dari pada jumlah sel yang mati.

5. Fase pertumbuhan cepat

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.

6. Fase menuju kematian dan fase kematian

Pada fase ini sebagian sel mengalami kematian karena nutrisi dalam medium sudah habis dan energi cadangan didalam sel juga habis.

3. METODOLOGI

3.1 Bahan Penelitian

Pada penelitian sirup glukosa cair, ada tiga tahap proses yaitu proses pembuatan bubur rumput laut *Eucheuma cottonii*, proses penginkulasian kapang *Trichoderma reesei* dan proses analisis sampel yang telah menjadi produk jadi.

Bahan-bahan yang dipakai dalam pembuatan bubur rumput laut adalah rumput laut kering jenis *Eucheuma cottonii* yang diperoleh dari Pasar Besar Kota Malang kemudian rumput laut tersebut direndam selama 24 jam dan diblender sampai halus.

Proses penginkulasian kapang *Trichoderma reesei*, bahan-bahan yang digunakan antara lain kultur kapang *Trichoderma reesei* yang diperoleh dari Laboratorium mikrobiologi, Teknologi Pangan dan Gizi IPB. Selain itu, bahan-bahan lain yang digunakan adalah medium *potato dextrose agar* (PDA), buffer asetat 0,2 M sampai pH 5, asam asetat 0,2 M, urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$), Alkohol 70%, aquades, kapas, tissue dan spritus.

Di dalam pengujian (analisis) sampel uji digunakan bahan-bahan antara lain zat antibuih (*antifoam agent*), asbes, H_2SO_4 0,255N, kertas lakmus, kertas saring atau krus Gooch, NaOH 0,313 N, K_2SO_4 10%, alkohol 95%, reagensia *arsenomolybdat*, Cu_2O , air suling, *glucose test*, Pb-asetat atau bubuk aluminium hidroksida, reagen Nelson, H_2SO_4 1 N, H_2SO_4 72%, *buffer* pH 4, *buffer* pH 7, pepton 0,01%, dan antibiotika tetrasiklin 10 ppm.

3.2 Alat-Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian sirup glukosa pada proses pembuatan bubur rumput laut *Eucheuma cottonii* antara lain baskom, telan, pisau, blender, timbangan digital, gelas ukur.

Alat-alat yang digunakan dalam penginokulasian kapang *trichoderma reesei* antara lain erlenmeyer 250 ml, *beaker glass* 100 ml dan 250 ml, rak tabung reaksi, tabung reaksi 10 ml, *autoclave*, inkubator, spatula, kompor listrik, penangas air, pipet volume 1 ml dan 25 ml, pipet tetes 1 ml dan 25 ml, karet hisap, *homogenizer*, bunsen, *washing bottol*, *sprayer*, *thermometer*, *triangel*, timbangan digital, bola hisap, jarum ose.

Di dalam pengujian (analisis) sampel uji digunakan alat-alat antara lain *beaker glass* 250 ml, rak tabung reaksi, tabung reaksi 10 ml, dan 100 ml, timbangan digital, *autoclave*, spatula, tabung kuvet 1 cm, *homogenizer*, pipet volume 1 ml dan 25 ml, pipet tetes 1 ml dan 25 ml, karet hisap, *filter glass* 2-G-3, soxhlet, pompa vakum, oven, timbangan sartorius, timbangan digital, corong, desikator, pH meter, gelas piala, *sentrifuger*, *stop watch*, *hand refractometer*, *color reader*, cawan petri, mikroskop, dan bunsen, spektrofotometer.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen adalah mengadakan serangkaian kegiatan percobaan untuk mendapatkan suatu hasil yang menegaskan kedudukan hubungan kausal antara variabel yang diselidiki

3.3.1 Variabel

Studi eksperimen bertujuan untuk menguji hipotesa tentang adanya hubungan antar variabel dan sebab akibat. Persoalan dirumuskan dengan jelas dalam bentuk hipotesa dan percobaan yang dilakukan dengan uji hipotesa tersebut.

Dalam penelitian terdapat dua variabel bebas yaitu lama fermentasi dan konsentrasi substrat *Eucheuma cottonii* sedangkan variabel terikat yaitu serat kasar, glukosa,

selulosa, persentase selulosa yang terhidrolisis, aktivitas selulolitik, viskositas, total padatan terlarut, analisis total warna, total kapang.

3.3.2 Perlakuan

Pada penelitian pendahuluan perlakuan menggunakan lama fermentasi yaitu 1, 2, 3, 4, 5, 6 dan 7 hari serta konsentrasi bubur rumput laut *Eucheuma cottonii* 1, 2, 3, 4 dan 5%. Dari hasil penelitian pendahuluan diperoleh bahwa kandungan glukosa tertinggi sebesar 6.71% pada hari ke 6 dengan konsentrasi substrat 5%. Oleh karena itu pada penelitian inti, proses fermentasi glukosa cair menggunakan perlakuan hari ke 2,4 ,6 dan 8 dengan konsentrasi substrat *Euchema cottonii* 1%, 3% dan 5%. Kadar glukosa cair penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Lampiran 10.

3.3.4 Rancangan Percobaan Dan Metode Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan adalah RAL faktorial (rancangan acak lengkap) dengan dua faktor yaitu lama fermentasi dan konsentrasi bubur rumput laut *Eucheum cottonii*.

Faktor I : Konsentrasi bubur rumput laut *Eucheuma cottonii*

R₁ : 1%

R₂ : 3%

R₃ : 5 %

Faktor II : Lama fermentasi

P₁ : 2 hari

P₂ : 4 hari

P₃ : 6 hari

P₄ : 8 hari

Dari kedua faktor diatas dapat diperoleh 12 kombinasi faktor dari masing-masing perlakuan yang diulang 3 kali. Dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Perlakuan penelitian

Konsentrasi Eucheuma cottonii	Lama fermentasi	Notasi	Ulangan		
			1	2	3
1% (R ₁)	Hari ke 2 (P ₁)	R ₁ P ₁			
	Hari ke 4 (P ₂)	R ₁ P ₂			
	Hari ke 6 (P ₃)	R ₁ P ₃			
	Hari ke 8 (P ₄)	R ₁ P ₄			
3%(R ₂)	Hari ke 2 (P ₁)	R ₂ P ₁			
	Hari ke 4 (P ₂)	R ₂ P ₂			
	Hari ke 6 (P ₃)	R ₂ P ₃			
	Hari ke 8 (P ₄)	R ₂ P ₄			
5% (R ₃)	Hari ke 2 (P ₁)	R ₃ P ₁			
	Hari ke 4 (P ₂)	R ₃ P ₂			
	Hari ke 6 (P ₃)	R ₃ P ₃			
	Hari ke 8 (P ₄)	R ₃ P ₄			

Metode analisis yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis statistik dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA), yang merupakan suatu cara menguraikan ragam total menjadi komponen ragam.

Rumus dari model RAL faktorial menurut Sastrosupadi (2000), adalah sebagai berikut

$$Y_{ij} = u + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

dimana:

Y_{ij} = nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dalam kelompok ke-j

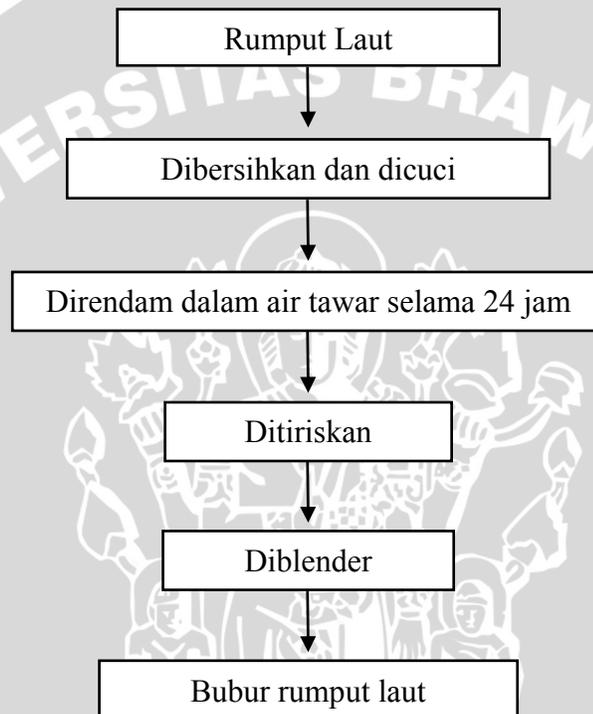
α_i = nilai tengah populasi (*population mean*)

ϵ_{ij} = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i pada kelompok ke-j

Apabila dari hasil uji F menunjukkan adanya pengaruh dari perlakuan maka dilanjutkan dengan uji menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada tingkat kepercayaan 95%.

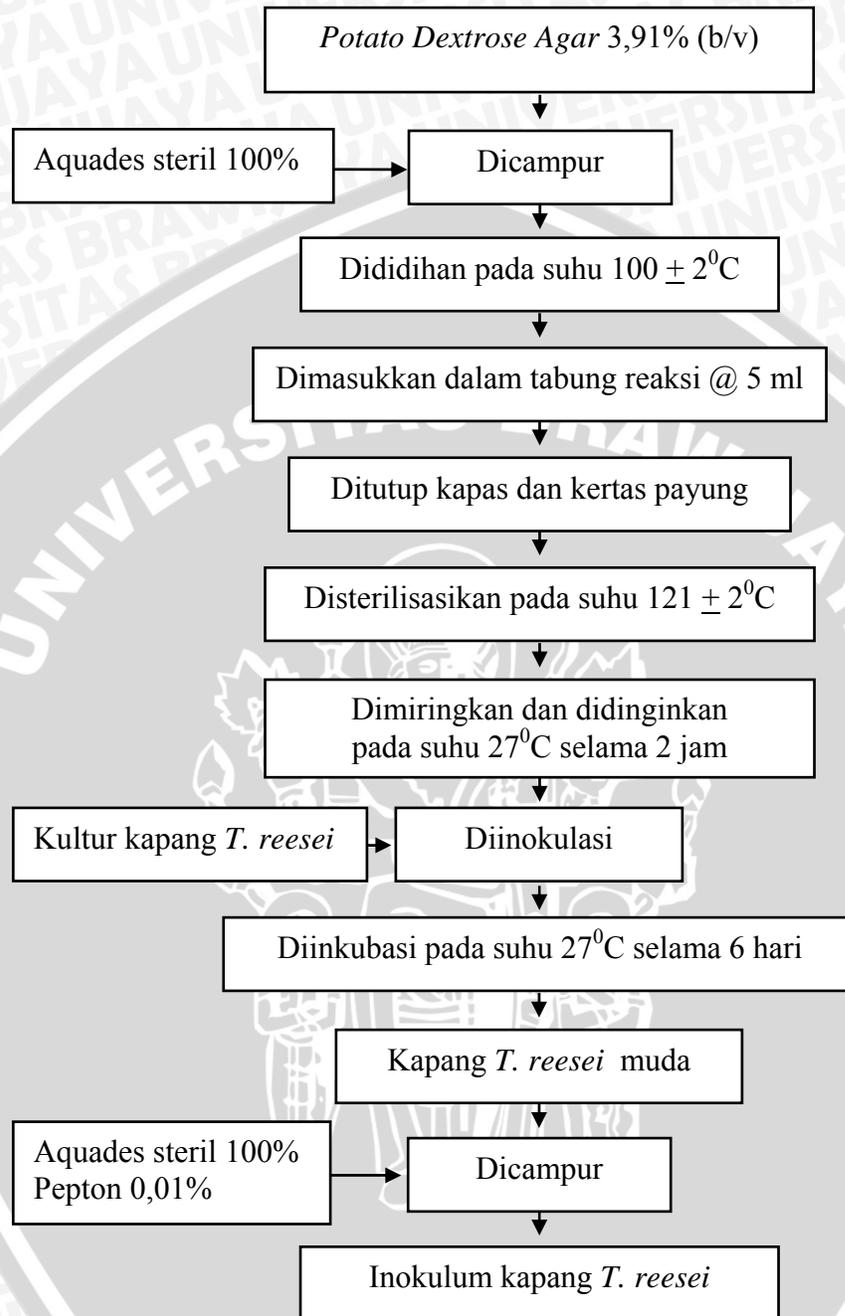
3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pembuatan Bubur Rumput Laut *Eucheuma cottonii*



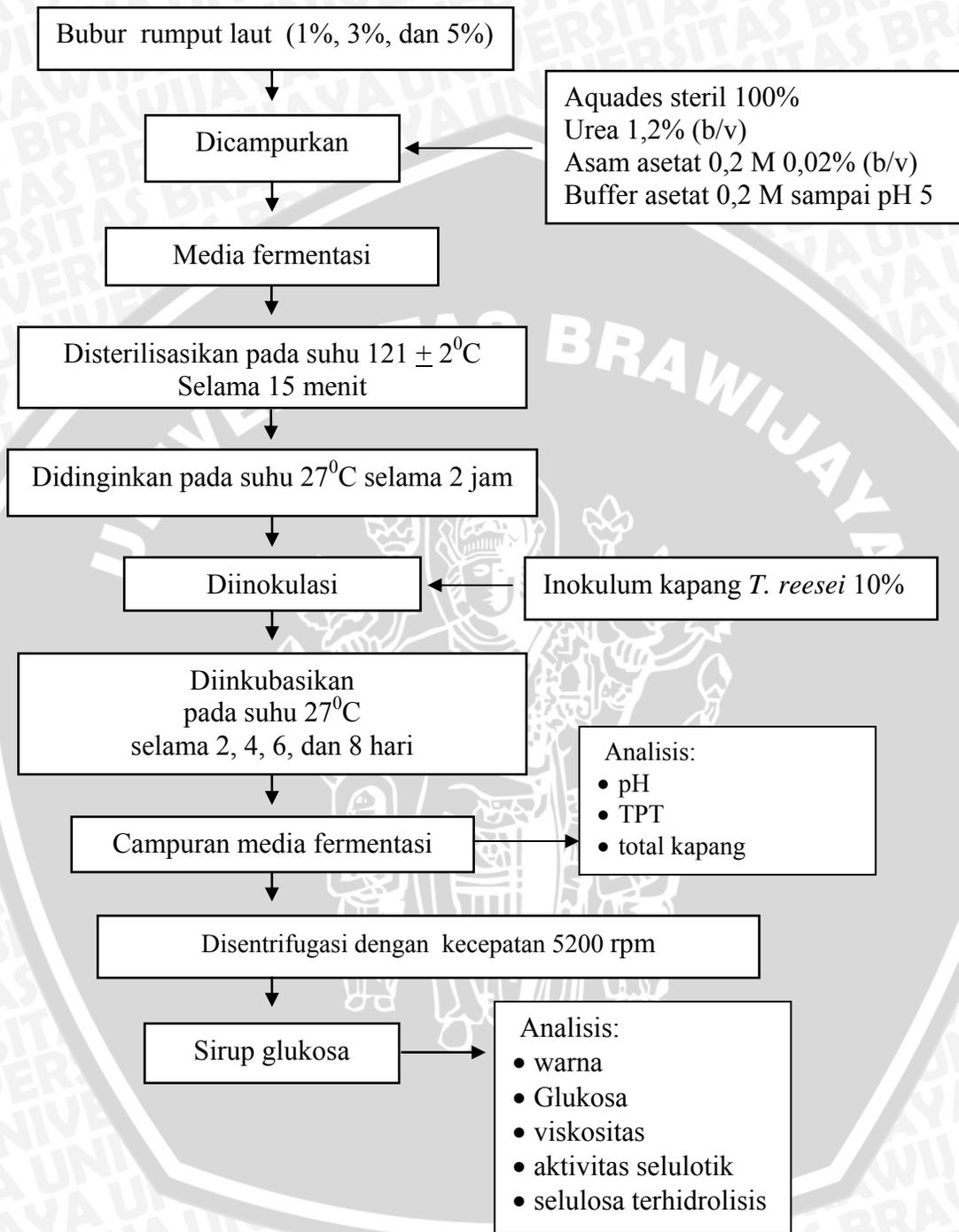
Gambar 6. Proses Pembuatan Bubur Rumput Laut (Ayu, 2006).

3.4.2 Proses Inokulasi Kapang *Trichoderma reesei*



Gambar 7. Inokulasi Kapang *Trichoderma reesei* (Modifikasi prosedur Dhoni, 2002)

3.4.3 Pembuatan Glukosa Cair



Gambar 8. Proses Pembuatan Sirup Glukosa ((Modifikasi prosedur Dhoni, 2002).

3.5 Metode Analisis

3.5.1 Analisis Serat Kasar (Sudarmadji *et al*, 1997)

Prinsip analisis serat kasar yaitu melarutkan sampel rumput laut *Eucheuma cottonii* 2 gr yang sudah diekstraksi lemak kedalam larutan H_2SO_4 mendidih dan K_2SO_4 1%.

Prosedur analisis serat kasar dapat dilihat pada Lampiran 11

3.5.2 Analisis Glukosa dengan metode GOD-PAP (Gluko Oksidase Determinasi Phenol Amino Pyrine)(Anonymous, 2007)

Prinsip analisis glukosa dari metode GOD-PAP adalah oksidasi glukosa oleh glukooksidase (GOD) menjadi asam glukanoat dan H_2O_2 . Reaksi ini dikatalis oleh enzim peroksidase (POD). Chinomine yang terbentuk ekuivalen dengan glukosa sehingga warna yang terukur dari produk chinomine akan sebanding dengan kadar glukosa.

Prosedur analisis glukosa dapat dilihat pada Lampiran 11

3.5.3 Analisis Total Padatan Terlarut (Mochtar dan Rahman, 1978)

Prinsip analisis total padatan terlarut yaitu menentukan jumlah banyaknya zat terlarut pada medium fermentasi menggunakan banruan alat yang dinamakan *Hand Refraktometer*. Prosedur analisis total padatan terlarut dapat dilihat pada Lampiran 10

3.5.4 Analisis Viskositas Relatif (Yuwono dan Susanto, 2001)

prinsip analisis viskositas relatif yaitu mengukur tingkat kelarutan zat terlarut pada larutan dengan menggunakan perbandingan viskositas dan densitas dari suatu cairan yang terukur. Prosedur analisis viskositas relatif dapat dilihat pada Lampiran 11.

3.5.5 Analisis Derajat Keasaman (pH) (Apriantono *et al*, 1989)

prinsip analisis derajat keasaman (pH) yaitu mengukur tingkat keasaman suatu larutan dengan mencelupkan elektroda pada larutan yang sudah dikalibrasi larutan buffer pH 4 dan pH 7. Prosedur analisis serat kasar dapat dilihat pada Lampiran 11.

3.5.6 Ananlisis Total Kapang (Fardiaz, 1993)

Prinsip perhitungan kapang yaitu menghitung jumlah kapang *Trichoderma reesei* sebagai biodegragator pada medium fermentasi dengan menumbuhkannya pada media *Potato Dextro Agar* (PDA) yang diikubasi pada suhu ruang. Prosedur analisis perhitungan total kapang dapat dilihat pada Lampiran 11.

3.5.7 Analisis Aktivitas Selulotik (Modifikasi Prosedur Analisis Dhoni, 2002)

Prinsip metode yang digunakan yaitu kadar glukosa yang terbentuk dari proses fermentasi dibagi 0.18 mg/ml dikali dengan 1 NCU (Nitrogen Coverion Unit). Prosedur analisis aktivitas selulotik dapat dilihat pada Lampiran 11.

3.5.8 Analisis Selulosa Terhidrolisis (Modifikasi Prosedur Analisis Dhoni, 2002)

Prinsip analisis selulosa terhidrolisis yaitu dengan menguapkan kadar air pada dlukosa cair sehingga diperoleh residu dari selulosa terhidrolisis. Prosedur analisis selulosa terhidrolisis dapat dilihat pada Lampiran 11.

3.5.9 Analisis Warna (Susanto dan Yuwono, 1998)

Prinsip analisis warna yaitu dengan menentukan skala warna pada glukosa cair dengan menggunakan metode Hunter yaitu melalui pengalihan sinyal antara reseptor cahaya dalam retina dan syaraf yang menghantarkan sinyal warna ke otak dengan bantuan alat yang dinamakan colour reader. Prosedur analisis serat kasar dapat dilihat pada Lampiran 11.

3.5.10 Perlakuan Terbaik (Zeleny, 1982)

Prinsip menentukan perlakuan terbaik yaitu menentukan kombinasi perlakuan terbaik digunakan metode *multiple attribute* dengan prosedur pembobotan pada masing-masing parameter. Prosedur penentuan perlakuan terbaik dapat dilihat pada Lampiran 11.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisa Bahan dan Media

Fermentasi glukosa cair merupakan suatu proses biokonversi selulosa menjadi glukosa oleh kapang *Trichoderma reesei*. Sumber selulosa dari komoditi perikanan adalah rumput laut. Penelitian ini menggunakan rumput laut jenis *Euचेuma cottonii* sebagai substrat dalam proses fermentasi. Berdasarkan hasil analisis kimia, rumput laut *Euचेuma cottonii* mempunyai komposisi kimia sebagai berikut: (lihat pada Tabel 9)

Tabel 9. komposisi kimia rumput laut *Euचेuma cottonii*

Komposisi kimia	Nilai komposisi (%)
Serat kasar	4.94
Selulosa	4.06

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat bahwa komposisi serat kasar rumput laut *Euचेuma cottonii* sebesar 4.94%. Menurut Lutfi (2000), rumput laut *Euचेuma cottonii* mengandung serat kasar 7.02% Perbedaan komposisi kimia dari rumput laut dikarenakan setiap rumput laut mempunyai komposisi kimia yang berbeda tergantung pada habitat dan umur rumput laut, sedangkan Menurut Robinson (1995), semakin tua tumbuhan maka jumlah molekul selulosa yang terkandung dalam tumbuhan tersebut semakin besar.

Serat pangan adalah komponen dinding sel tanaman yang tersusun atas selulosa, Pektin dan hemiselulosa. Tingginya kadar selulosa pada *Euचेuma cottonii* menunjukkan bahwa sebagian besar komponen serat pangannya adalah selulosa, yaitu sebesar 4.06 %. Melalui proses fermentasi, rantai selulosa akan dipecah menjadi molekul-molekul sederhana yaitu glukosa. Menurut Tjokroadikoesumo (1986), selulosa terdiri dari sejumlah molekul besar glukosa yang saling bergandengan melalui gugus β -

glukosida dari molekul glukosa yaitu dengan gugus hidroksil C₄ dari molekul glukosa lain.

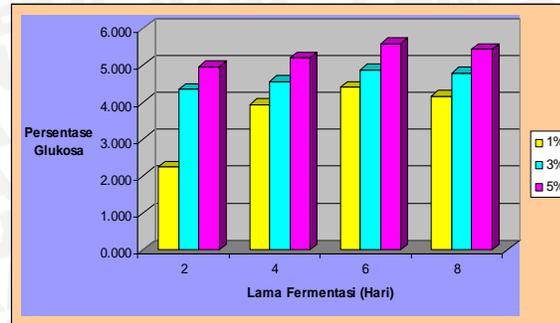
Proses fermentasi menggunakan biokatalisator selulase yang dihasilkan oleh kapang *Trichoderma reesei*. Oleh karena itu media fermentasi itu media fermentasi harus dikondisikan sesuai dengan kondisi pertumbuhan optimum *Trichoderma reesei*. Sebagai mana pernyataan Fardiaz (1992), jika jasad renik dipindahkan kedalam suatu medium mula-mula akan mengalami fase adaptasi untuk menyesuaikan dengan substrat dan kondisi lingkungan sekitar, tetapi jika nutrien yang tersedia dan kondisi lingkungan yang baru sangat berbeda dengan sebelumnya, diperlukan waktu penyesuaian untuk mensintesis enzim-enzim yang dibutuhkan dalam metabolisme. Kondisi media fermentasi awal dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Kondisi Awal Media Fermentasi Glukosa cair

Konsentrasi Substrat	Suhu (°C)	pH
1%	27	5.01
3%	27	5.03
5%	27	5.04

4.2 Persentase Glukosa

Adanya glukosa yang terbentuk selama proses fermentasi mengindikasikan bahwa aktivitas dari kapang *Trichoderma reesei* mampu menghidrolisis selulosa menjadi glukosa. Pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi substrat rumput laut *Euचेuma cottonii* terhadap persentase glukosa cair dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Grafik Rerata persentase glukosa dengan perlakuan konsentrasi rumput laut *Eucheuma cottonii* dan lama fermentasi.

Gambar diatas menunjukkan bahwa persentase glukosa cair yang terbentuk selama proses fermentasi meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi substrat dan lama fermentasi. Pada fermentasi hari kedua sampai hari keenam terjadi peningkatan glukosa, tetapi pada hari kedelapan terjadi penurunan persentase glukosa. Diduga pada hari kedelapan jumlah substrat dalam larutan mulai terbatas sehingga glukosa yang dihasilkan mulai mengalami penurunan. Selain itu, aktivitas *Trichoderma* mulai menurun. Hal itu sesuai dengan pernyataan Schlegel (1994), kecepatan pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme tergantung pada konsentrasi substrat. Menurunnya kecepatan pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme sudah terjadi ketika kadar substrat berkurang.

Hasil analisis ragam (Lampiran 1) menunjukkan bahwa konsentrasi rumput laut *Eucheuma cottonii* dan lama fermentasi memberi pengaruh yang berbeda terhadap persentase glukosa ($F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$) yaitu F_{hitung} sebesar 23.116 sedangkan $F_{tabel 5\%}$ sebesar 2.51. Berdasarkan data hasil rerata glukosa cair berkisar antara 2.252%-5.592% yang ditunjukkan oleh Tabel 11.

Tabel 11. Rerata Persentase Glukosa

Perlakuan	Rerata Glukosa (%)	Notasi	Standar deviasi
R ₁ P ₁	2.252	a	0.085348
R ₂ P ₁	4.346	b	0.103181
R ₃ P ₁	4.962	b	0.066003
R ₁ P ₂	3.943	a	0.071591
R ₂ P ₂	4.565	b	0.085348
R ₃ P ₂	5.202	b	0.145393
R ₁ P ₃	4.401	b	0.031097
R ₂ P ₃	4.880	b	0.063066
R ₃ P ₃	5.592	b	0.474736
R ₁ P ₄	4.168	b	0.020502
R ₂ P ₄	4.791	b	0.062629
R ₃ P ₄	5.435	b	0.043155

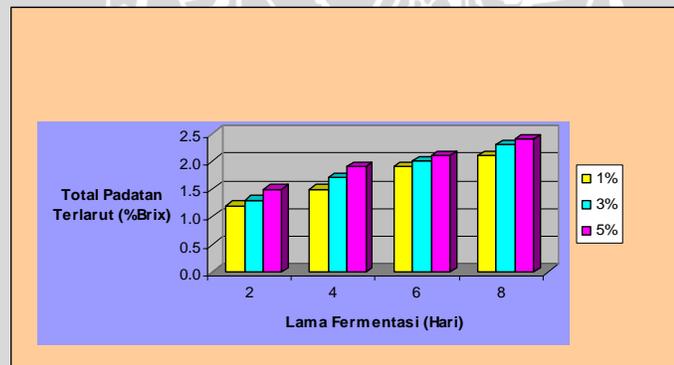
Berdasarkan uji beda, konsentrasi substrat dan lama fermentasi terhadap persentase glukosa berbeda sangat nyata (Selisih antara rerata > BNT 1%). Persentase glukosa tertinggi sebesar 5.592% diperoleh pada perlakuan fermentasi hari keenam dengan konsentrasi substrat 5%, sedangkan Persentase glukosa terendah sebesar 2.252% diperoleh pada perlakuan fermentasi hari kedua dengan konsentrasi substrat 1%.

Pada fermentasi yang optimum, persentase glukosa tertinggi dicapai pada konsentrasi substrat 5%, sedangkan persentase glukosa terendah dicapai pada konsentrasi 1%. Hal itu membuktikan bahwa konsentrasi substrat berbanding lurus dengan persentase glukosa. Semakin besar konsentrasi substrat maka persentase glukosa yang dihasilkan juga semakin besar. Hal itu sesuai dengan pernyataan Hardjo, *et al* (1989), bahwa komponen-komponen selulase akan bergerak ke arah substrat dan terabsorpsi pada sisi yang bereaksi. Absorpsi selulase pada permukaan selulosa biasanya cepat dibanding dengan kecepatan hidrolisa keseluruhan. Jumlah selulase terabsorpsi tergantung pada jenis dan konsentrasi selulosa maupun selulase.

Berdasarkan hasil perhitungan, didapatkan persamaan regresi kuadratik $y = -0.0279x^2 + 0.5093x + 2.7469$ dan koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,7831. Dari persamaan tersebut diketahui bahwa persentase glukosa optimum adalah 5.592% pada hari ke enam dengan konsentrasi substrat 5%. Grafik regresi glukosa dapat dilihat pada Lampiran 1.

4.3 Total Padatan Terlarut

Total padatan terlarut yang terdapat pada sirup glukosa sebagian besar merupakan gula-gula sederhana seperti monosakarida, disakarida maupun oligosakarida yang sifatnya larut air. Berdasarkan data hasil penelitian rerata total padatan terlarut berkisar antara 1.2-2.4% Brix. Pengaruh lama fermentasi oleh kapang *Trichoderma reseei* dan *Eucheuma cottonii* terhadap total padatan terlarut dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Rerata total padatan terlarut dengan perlakuan konsentrasi rumput laut *Eucheuma cottonii* yang berbeda dan lama fermentasi

Gambar diatas menunjukkan bahwa pola total padatan terlarut terus meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi *Eucheuma cottonii* dan lama fermentasi. Total padatan terlarut dalam glukosa cair merupakan semua bahan atau senyawa hasil hidrolisa (gula-gula) sederhana yang dapat larut dalam air, sehingga semakin tinggi hidrolisa menyebabkan total padatan terlarut terus meningkat. Pada hidrolisis ini total

padatan terlarut tidak hanya dari molekul glukosa akan tetapi dari selulosa yang belum terhidrolisa secara sempurna seperti selobiosa ataupun pigmen *phycoerythrin* dan *phycoeyonin* yang terkandung dalam rumput laut *Eucheuma cottonii*

Hasil analisis ragam (Lampiran 2), menunjukkan bahwa konsentrasi rumput laut *Eucheuma cottonii* dan lama fermentasi memberi pengaruh yang berbeda terhadap persentase total padatan terlarut (F hitung $>$ F tabel 5%) yaitu F hitung sebesar 3.752 sedangkan F tabel 5% sebesar 2.51. Sedangkan uji beda, konsentrasi substrat dan lama fermentasi terhadap total padatan terlarut berbeda sangat nyata (Selisih antara rerata $>$ BNT 1%) . Berdasarkan data hasil penelitian rerata total padatan terlarut berkisar antara 1.2-2.4% Brix, ditunjukkan oleh Tabel 12.

Tabel 12. Rerataan Total Padatan Terlarut

Perlakuan	Rerata Total Padatan Terlarut (%Brix)	Notasi	Standar deviasi
R ₁ P ₁	1.2	a	0.1000
R ₂ P ₁	1.3	b	0.0577
R ₃ P ₁	1.5	b	0.0577
R ₁ P ₂	1.5	b	0.0577
R ₂ P ₂	1.7	b	0.0577
R ₃ P ₂	1.9	b	0.0577
R ₁ P ₃	1.9	b	0.1155
R ₂ P ₃	2.0	c	0.0577
R ₃ P ₃	2.1	c	0.1528
R ₁ P ₄	2.1	b	0.2082
R ₂ P ₄	2.3	b	0.1528
R ₃ P ₄	2.4	b	0.1528

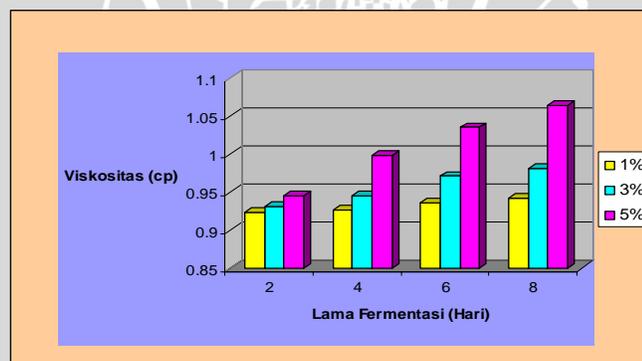
Dari tabel diatas, total padatan terlarut total padatan terlarut terendah yaitu 1.2% Brix pada hari ke dua fermentasi sedangkan tertinggi yaitu 2.4 % Brix pada hari ke delapan fermentasi dengan konsentrasi *Eucheuma cottonii* 5%. Hal ini disebabkan konsentrasi substrat yang tinggi dan lama fermentasi yang optimal akan meningkatkan aktivitas enzim untuk memecah komponen selulosa menjadi senyawa yang lebih

sederhana seperti glukosa. Menurut Winarno (1995), waktu inkubasi dapat memberi kesempatan bagi enzim untuk memecah substrat sehingga hidrolisa semakin meningkat.

Berdasarkan perhitungan regresi kuadratik didapatkan persamaan $y = -0.0012x^2 + 0.1186x + 1.1129$ dan koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,9568. Dari persamaan tersebut diketahui bahwa persentase total padatan terlarut yang optimum adalah 2.4%Brix, dihasilkan pada hari ke delapan dengan penambahan konsentrasi substrat 5% . Grafik regresi total padatan terlarut dapat dilihat pada Lampiran 2.

4.4 Viskositas

Viskositas adalah sifat fisik suatu zat yang tergantung pada gaya gesek dari perpindahan suatu lapisan kelapisan lain yang disebabkan karena gaya tarik-menarik intermolekul (Yahya, *et al*, 2000). Grafik rerata viskositas glukosa cair yang dihasilkan dalam proses fermentasi ditunjukkan oleh Gambar 11.



Gambar 11. Grafik Rerata viskositas relatif dengan perlakuan konsentrasi rumput laut *Eucheuma cottonii* yang berbeda dan lama fermentasi

Dari grafik diatas menunjukkan bahwa viskositas glukosa cair mempunyai pola grafik yang beraturan dan pola yang hampir sama untuk tiap perlakuan. Viskositas yang terbentuk mengalami peningkatan sejak fermentasi hari kedua sampai hari kedelapan. Hal itu dikarenakan senyawa glukosa bersifat polar yang mampu larut dan mengikat air

yang terdapat dalam larutan sehingga dengan terikatnya air akan meningkatkan viskositas sirup glukosa. Menurut Chokyun (1999), kuantitas viskositas merefleksikan kekuatan dari ikatan hidrogen dalam air. Winarno (2000) menambahkan bahwa peningkatan viskositas dapat terjadi karena cairan yang semula bebas mengalir menjadi terikat.

Diduga, peningkatan viskositas glukosa cair dapat diakibatkan oleh rumput laut itu sendiri sebab rumput laut *Eucheuma cottonii* bersifat hidrokoloid yang bermuatan negatif sehingga mempunyai kemampuan untuk mengikat air. Disamping itu, ukuran koloidnya memungkinkan pembentukan lapisan pelindung partikel yang mengakibatkan larutan lebih kental (peningkatan viskositas). Menurut Belitz and Grosch (1987), kekuatan gel yang terbentuk antara lain ditentukan kadar senyawa hidrokoloid. Setyowati *et al* (2000), menambahkan bahwa *Eucheuma cottonii* mempunyai kandungan sulfat yang relatif tinggi. Kandungan sulfat yang tinggi mampu mengikat air lebih banyak sehingga viskositas yang terbentuk relatif tinggi.

Analisis ragam (Lampiran 3). Menunjukkan bahwa perlakuan lama fermentasi dari konsentrasi substrat memberi pengaruh yang berbeda terhadap viskositas relatif ($F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$) yaitu F_{hitung} sebesar 794.761 sedangkan $F_{tabel 5\%}$ sebesar 2.51. Sedangkan uji beda, konsentrasi substrat dan lama fermentasi terhadap viskositas relatif berbeda sangat nyata (Selisih antara rerata $> BNT 1\%$). Hasil penelitian memperlihatkan rerata viskositas glukosa cair yang dihasilkan berkisar antara 0.924-1.064 centipose, ditunjukkan oleh Tabel 13.

Tabel 13. Rerataan viskositas relatif

Perlakuan	Rerata Viskositas (cp)	Notasi	Standar deviasi
R ₁ P ₁	0.924	a	0.002000
R ₂ P ₁	0.931	b	0.001000
R ₃ P ₁	0.945	b	0.001000
R ₁ P ₂	0.927	a	0.001000
R ₂ P ₂	0.945	b	0.001000
R ₃ P ₂	0.999	b	0.001528
R ₁ P ₃	0.936	c	0.001000
R ₂ P ₃	0.971	b	0.001000
R ₃ P ₃	1.035	c	0.001000
R ₁ P ₄	0.942	c	0.002000
R ₂ P ₄	0.981	b	0.001000
R ₃ P ₄	1.064	b	0.002000

Dari tabel diatas dapat diketahui bahwa perlakuan lama fermentasi dan perbedaan konsentrasi menghasilkan viskositas tertinggi sebesar 1.064 centipoise pada hari kedelapan fermentasi dengan konsentrasi substrat 5%, sedangkan viskositas terendah sebesar 0.924 centipoise pada hari kedua fermentasi dengan konsentrasi substrat 1%. Diduga, semakin besar konsentrasi substrat dan lama fermentasi yang optimal mampu mempengaruhi produksi senyawa-senyawa sederhana selama proses fermentasi, semakin banyak senyawa sederhana larut air yang dihasilkan maka viskositas larutan cenderung meningkat

Viskositas dipengaruhi oleh padatan terlarut yang terkandung dalam glukosa cair, karena semakin lama fermentasi maka semakin banyak selulosa yang terhidrolisis menjadi glukosa. Seiring dengan peningkatan senyawa glukosa dalam larutan, maka total padatan terlarut pun akan meningkat. Hal itu sesuai dengan pernyataan Harijono *et al* (2001), hidrokoloid mempunyai kemampuan untuk membentuk gel. Semakin kuat gel mengikat air, maka total padatan terlarut akan semakin tinggi.

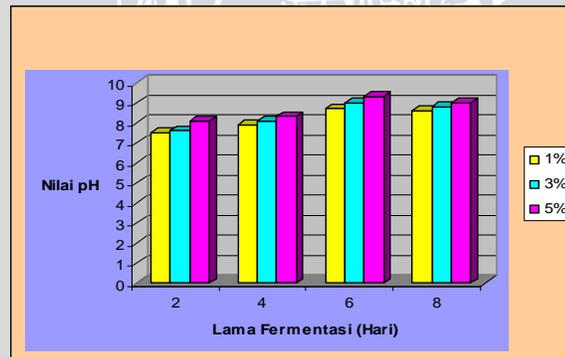
Berdasarkan hasil perhitungan, didapatkan persamaan regresi kuadratik $y = 0.0006x^2 + 0.0011x + 0.927$ dan koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,6145. Dari persamaan

tersebut diketahui bahwa viskositas optimum adalah 1.064 cp pada hari ke delapan dengan konsentrasi substrat 5%. Grafik regresi viskositas dapat dilihat pada Lampiran 3.

4.5 pH

Keasaman dan kebasahan dari lingkungan mempunyai pengaruh yang signifikan pada aktivitas dan stabilitas makromolekul seperti enzim, maka dari itu pertumbuhan dan metabolisme dari mikroba sangat dipengaruhi pH (Zubaidah *et al*, 2006).

pH merupakan faktor penting dalam pertumbuhan kapang *Trichoderma reesei*, pengendalian pH dapat dilakukan secara eksternal yaitu dengan menambahkan natrium asetat sebagai *buffer* untuk mencapai pH optimum kapang *Trichoderma reesei* yaitu pada pH 5. Menurut Schlegel (1994) ion H^+ dan ion OH^- merupakan ion yang mobil. Oleh sebab itu perubahan yang kecil saja sudah menimbulkan pengaruh yang relatif besar. Nilai rerata pH dipengaruhi oleh lama fermentasi dan konsentrasi substrat, hal ini dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Grafik Rerata pH dengan perlakuan konsentrasi rumput laut *Euचेuma cottonii* yang berbeda dan lama fermentasi

Dari grafik diatas menunjukkan bahwa pola perubahan pH cenderung meningkat dari hari kedua fermentasi sampai hari keenam fermentasi sedangkan fermentasi hari kedelapan derajat keasaman cenderung menurun. Hal itu dikarenakan adanya interaksi

antara ion H^+ dan OH^- pada metabolit yang dihasilkan oleh kapang *Trichoderma reesei* menyebabkan perubahan derajat keasaman media. pH medium meningkat mengindikasikan bahwa terjadi peningkatan ion OH^- sehingga suasana medium menjadi alkali Menurut Rahman (199), jika pH naik akan terjadi korelasi asam yang dihasilkan oleh mikroba sedangkan jika pH turun senyawa *buffer* akan terurai.

Aktivitas enzim selulosa yang mampu bereaksi terhadap suasana asam dan basa mampu menyebabkan derajat keasaman pada larutan. Hal itu sesuai dengan pernyataan Winarno (196), pada umumnya enzim bersifat amofilik, yang berarti mempunyai konstanta disosiasi pada gugus asam maupun gugus basanya.

Hasil analisis ragam (lampiran 4) menunjukkan bahwa perubahan pH akibat pengaruh konsentrasi substrat dan lama fermentasi memberi pengaruh yang berbeda ($F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$) F_{hitung} sebesar 2.705 sedangkan $F_{tabel 5\%}$ sebesar 2.51. Sedangkan uji beda, konsentrasi substrat dan lama fermentasi terhadap pH berbeda sangat nyata (Selisih antara rerata $> BNT 1\%$). Rerata nilai pH berkisar antara 7.5-9.3. reratan ph ditunjukkan oleh Tabel 14.

Berdasarkan hasil perhitungan, didapatkan persamaan regresi kuadratik $y = -0.0123x^2 + 0.3024x + 7.1068$ dan koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,8426. Dari persamaan tersebut diketahui bahwa pH optimum adalah 9.3 pada hari ke enam dengan konsentrasi substrat 5%. Grafik regresi pH dapat dilihat pada Lampiran 4.

Tabel 14. Rerata Nilai pH

Perlakuan	Rerata pH	Notasi	Standar deviasi
R ₁ P ₁	7.5	a	0.1000
R ₂ P ₁	7.6	b	0.1000
R ₃ P ₁	8.1	c	0.0577
R ₁ P ₂	7.9	c	0.0000
R ₂ P ₂	8.1	b	0.1000
R ₃ P ₂	8.3	b	0.0000
R ₁ P ₃	8.7	b	0.1528
R ₂ P ₃	9.0	b	0.0000
R ₃ P ₃	9.3	b	0.1000
R ₁ P ₄	8.6	b	0.1000
R ₂ P ₄	8.8	b	0.1000
R ₃ P ₄	9.0	c	0.0000

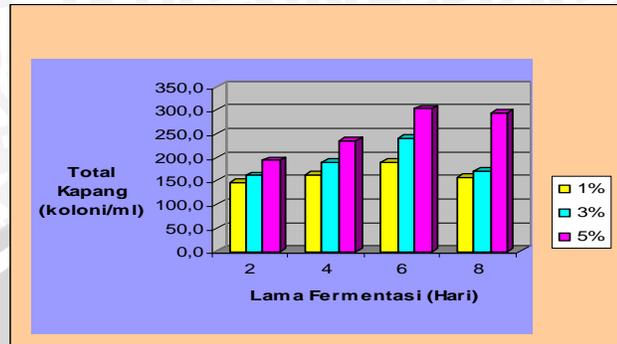
Rerata pH tertinggi yaitu 9.3 pada konsentrasi substrat 5% dengan lama fermentasi hari keenam, sedangkan pH terendah yaitu 7.5 pada konsentrasi substrat 1% dengan lama fermentasi dua hari. Hal itu dikarenakan pH larutan dipengaruhi oleh aktivitas mikroba dalam mengekskresikan enzim selulosa yang mampu memutus ikatan rantai homopolimer yang tersusun atas unit-unit β -D glukoinosa pada 1.4 glikosidik menjadi rantai sederhana yaitu β -D glukosa.

Kisaran pH antara 7.5-9.3 masih dalam kisaran pH optimum untuk aktivitas kapang *Trichoderma reesei*. Hal itu sesuai dengan pernyataan Sutedjo *et al* (1991), *Trichoderma* merupakan pendekompos selulosa yang berkembang dalam tingkatan reaksi yang lebih leluasa, pada pH 3-9.5, cendawan tersebut juga mampu berkembang pada pH 2.1-2.5.

4.6 Total Kapang

Pengamatan laju pertumbuhan kapang *Trichoderma reesei* dilakukan dengan menghitung total kapang pada tiap perlakuan (konsentrasi *Eucheuma cottonii* dan lama fermentasi) dari hari kedua sampai hari kedelapan pada media *potato dekstro agar*

melalui metode *total plate control*. Pengaruh perlakuan lama fermentasi dan konsentrasi substrat terhadap total kapang dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Grafik rerata total kapang dengan perlakuan konsentrasi *Eucheuma cottonii* yang berbeda dan lama fermentasi

Dari gambar 13 menunjukkan bahwa pertumbuhan total kapang selama proses fermentasi cenderung meningkat seiring dengan besarnya konsentrasi *Eucheuma cottonii* dan lama fermentasi yang optimum. Berdasarkan grafik diatas, pertumbuhan kapang *Trichoderma reesei* semakin lama semakin meningkat dari fermentasi hari kedua sampai hari keenam. Sedangkan hari kedelapan fermentasi total kapang mulai turun. Diduga, hal itu disebabkan kapang *Trichoderma reesei* dalam fase stasioner, dimana pada fase ini kapang tidak mampu membelah diri karena keterbatasan nutrisi. Menurut Schlegel (1994), tahap stasioner dimulai kalau sel-sel sudah tidak mampu lagi untuk tumbuh. Kecepatan pertumbuhan tergantung pada kadar substrat. Menurunnya kecepatan pertumbuhan sudah terjadi ketika substrat berkurang sebelum substrat habis terpakai. Dwijosaepuro (1998), menambahkan bahwa dalam siklus pertumbuhan mikroba akan datang fase dimana kecepatan sel berkembang biak menjadi berkurang. Hal itu terjadi karena keadaan medium yang buruk, perubahan pH atau tertimbun zat-zat kotor.

Hasil analisis ragam (Lampiran 5) menunjukkan bahwa konsentrasi rumput laut *Eucheuma cottonii* dan lama fermentasi memberi pengaruh yang berbeda terhadap total

kapang (F hitung $>$ F tabel 5%) F hitung sebesar 2.771 sedangkan F tabel 5% sebesar 2.51. Sedangkan uji beda Duncan, konsentrasi substrat dan lama fermentasi terhadap total kapang berbeda sangat nyata (Selisih antara rerata $>$ BNT 1%) Berdasarkan hasil penelitian didapatkan rerata total kapang berkisar antara $146.8 \cdot 10^4$ - $302.7 \cdot 10^4$ Koloni/ml, rerata total kapang ditunjukkan oleh Tabel 15.

Tabel 15. Rerata Total Kapang.

Perlakuan	Rerata Total Kapang (koloni/ml)	Notasi	Standar deviasi
R ₁ P ₁	$146.8 \cdot 10^4$	a	3.5473
R ₂ P ₁	$161.3 \cdot 10^4$	a	5.5076
R ₃ P ₁	$194.0 \cdot 10^4$	b	13.9374
R ₁ P ₂	$163.0 \cdot 10^4$	a	2.6458
R ₂ P ₂	$189.5 \cdot 10^4$	b	3.7749
R ₃ P ₂	$235.7 \cdot 10^4$	b	40.0791
R ₁ P ₃	$189.7 \cdot 10^4$	b	5.5076
R ₂ P ₃	$241.0 \cdot 10^4$	b	16.8226
R ₃ P ₃	$302.7 \cdot 10^4$	b	63.0284
R ₁ P ₄	$157.3 \cdot 10^4$	a	11.3725
R ₂ P ₄	$170.7 \cdot 10^4$	a	18.1475
R ₃ P ₄	$289.5 \cdot 10^4$	c	0.1000

Total kapang tertinggi (Tabel 15) yaitu $302.7 \cdot 10^4$ koloni/ml pada konsentrasi rumput laut *Eucheuma cottonii* 5% dan lama fermentasi enam hari, sedangkan total kapang terendah yaitu $146.8 \cdot 10^4$ koloni/ml pada konsentrasi rumput laut *Eucheuma cottonii* 1% dan lama fermentasi dua hari.

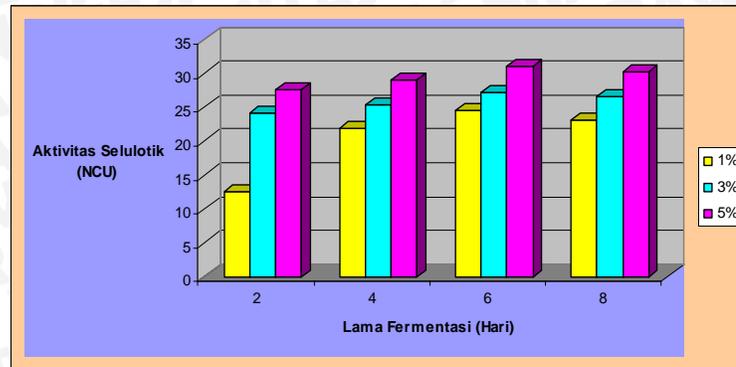
Pada konsentrasi rumput laut *Eucheuma cottonii* 5% dan lama fermentasi enam hari, total kapang sangat tinggi, diduga hal itu dikarenakan kondisi medium yang optimum dan tersedianya nutrisi sebagai sumber karbon memungkinkan kapang *Trichoderma reesei* berkembang dengan cepat. Sedangkan pada konsentrasi rumput laut *Eucheuma cottonii* 1% dan lama fermentasi hari kedua total kapang dalam tingkatan terendah. Diduga bahwa pada lama fermentasi dua hari, kapang *Trichoderma reesei* masih dalam tahap

adaptasi, sehingga belum terjadi pembelahan dan pertumbuhan. Aktivitas kapang dalam tahap penyesuaian diri terhadap lingkungan. Menurut Zubaidah *et al* (2006), mikroba yang dipindahkan kedalam suatu medium, mula-mula akan mengalami fase adaptasi untuk penyesuaian dengan kondisi lingkungan sekitar. Fase adaptasi mungkin akan berjalan lambat karena kultur dipindahkan dari medium kaya nutrisi ke medium yang kandungan nutrisinya terbatas.

Berdasarkan hasil perhitungan, didapatkan persamaan regresi kuadrat $y = -0.4784x^2 + 13.893x + 137.97$ dan koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,7123. Dari persamaan tersebut diketahui bahwa pertumbuhan kapang dalam kondisi optimum adalah sebesar $302.7 \cdot 10^4$ kol/ml pada hari ke enam dengan konsentrasi substrat 5%. Grafik regresi total kapang dapat dilihat pada Lampiran 5.

4.7 Aktivitas Selulotik

Aktivitas selulotik menunjukkan aktivitas selulosa untuk memutus ikatan rantai polisakarida β 1,4 glikosidik menjadi monomernya yaitu gugus glukosa. Menurut Wong (1995) sellobiohidrolase, endo-1,4- β -glukanase, sellobiase merupakan bagian dari enzim selulosa yang mampu menghidrolisis selulosa menjadi glukosa. *Sellobiohidrolase* yang menghilangkan unit *sellobiosa* dari ujung rantai selulosa non pereduksi. endo-1,4- β -glukanase yang menghidrolisis sellobiosa dan menghilangkan glukosa dari ujung sello-oligosakarida non pereduksi serta glikosil berubah menjadi sellobiosa. *Sellobiase* menghidrolisis sellobiosa dan menghilangkan glukosa dari ujung sello-oligosakarida non pereduksi serta glikosil berubah menjadi sellobiosa. Grafik rerata aktivitas selulotik pada produksi glukosa cair yang dihasilkan dalam proses fermentasi ditunjukkan Gambar 14.



Gambar 14. Grafik Rerata aktivitas selulotik dengan perlakuan konsentrasi rumput laut *Eucheuma cottonii* yang berbeda dan lama fermentasi

Gambar 14 menunjukkan bahwa aktivitas selulotik mempunyai pola yang hampir sama yaitu cenderung mengalami peningkatan kemudian turun kembali. Peningkatan aktivitas selulotik dimulai sejak fermentasi hari kedua sampai hari keenam, sedangkan pada hari kedelapan aktivitas selulotik mulai mengalami penurunan.

Penurunan aktivitas selulotik dipengaruhi oleh konsentrasi substrat dan aktivitas kapang *Trichoderma reesei*. laju aktivitas selulotik untuk mendegradasi selulosa menjadi glukosa tergantung pada konsentrasi substrat. Menurut Winarno (1986), reaksi katalisasi dari suatu reaksi enzim pada umumnya tergantung pada konsentrasi substrat. Semakin tinggi konsentrasi substrat maka reaksi enzim semakin cepat, sampai mencapai kecepatan maksimum.

Semakin lama proses fermentasi, maka aktivitas selulase akan menurun, hal itu disebabkan oleh adanya aktivitas enzim lain yang disintesis oleh mikroba. Menurut Rahman (1986), jika substrat primer dalam medium tidak tersedia lagi, mikroba akan mensintesis enzim yang diperlukan untuk mencerna substrat sekunder.

Dari analisis ragam (Lampiran 6) didapatkan bahwa perlakuan konsentrasi rumput laut *Eucheuma cottonii* dan lama fermentasi memberi pengaruh yang berbeda terhadap

aktivitas selulotik ($F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$) yaitu F_{hitung} sebesar 23.112 sedangkan $F_{tabel 5\%}$ sebesar 2.51. Sedangkan uji beda, konsentrasi substrat dan lama fermentasi terhadap Aktivitas selulotik berbeda sangat nyata (Selisih antara rerata $> BNT 1\%$). Berdasarkan hasil penelitian didapatkan rerata aktivitas selulotik berkisar antara 12.510-31.067 NCU ditunjukkan oleh Tabel 16.

Tabel 16. Rerata Aktivitas Selulotik

Perlakuan	Rerata aktivitas selulotik (NCU)	Notasi	Standar deviasi
R ₁ P ₁	12.51	a	0.474941
R ₂ P ₁	24.146	b	0.574176
R ₃ P ₁	27.568	b	0.366707
R ₁ P ₂	21.902	c	0.395175
R ₂ P ₂	25.363	b	0.474941
R ₃ P ₂	28.899	b	0.809331
R ₁ P ₃	24.45	b	0.174256
R ₂ P ₃	27.112	b	0.348511
R ₃ P ₃	31.067	b	2.636967
R ₁ P ₄	23.157	b	0.114077
R ₂ P ₄	26.617	b	0.348511
R ₃ P ₄	30.192	b	0.237470

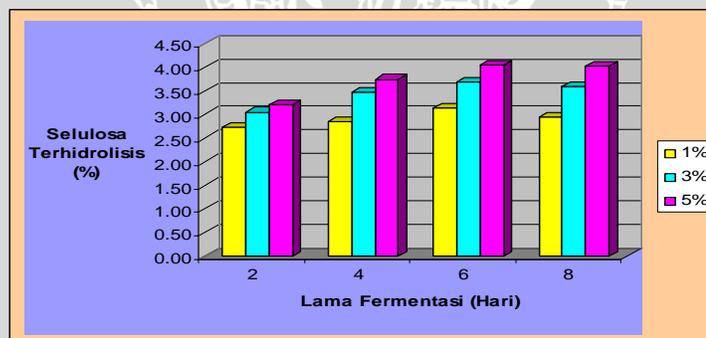
Aktivitas selulotik (Tabel 16) maksimum sebesar 31.067 NCU pada hari keenam fermentasi dan konsentrasi substrat 5%, sedangkan aktivitas maximum sebesar 12.51 NCU pada hari kedua fermentasi dan konsentrasi substrat 1%. Tingginya konsentrasi *Eucheuma cottonii* menyebabkan semakin banyak cadangan energi bagi pertumbuhan kapang *Trichoderma reesei* untuk mensintesis selulase. Selulase akan berikatan dengan gugus aktif selulosa sehingga mampu memecah selulosa menjadi glukosa.

Berdasarkan hasil perhitungan, didapatkan persamaan regresi kuadratik $y = -0.1551x^2 + 2.8293x + 15.26$ dan koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,8721. Dari persamaan tersebut diketahui bahwa persentase aktivitas selulotik optimum adalah pada

31.067 NCU hari ke enam dengan konsentrasi substrat 5% . Grafik regresi aktivitas selulolitik dapat dilihat pada Lampiran 6.

4.8 Selulosa Terhidrolisis

Selulosa terhidrolisis merupakan suatu parameter yang menunjukkan banyaknya selulosa yang terurai menjadi glukosa dalam proses fermentasi. Proses hidrolisis selulosa oleh enzim selulase menyebabkan kadar selulosa dalam medium fermentasi menurun dan glukosa dalam larutan meningkat. Menurut Tjokrokoesoemo (1986), hidrolisis selulosa oleh aktivitas tanaman sangat terbatas, tetapi sejumlah kapang dan bakteri yang hidup dari substrat hasil-hasil pertanian dapat menghasilkan sejenis enzim selulase yang menghidrolisis selulosa menjadi senyawa yang lebih sederhana. Kecenderungan pengaruh konsentrasi *Eucheuma cottonii* dan lama fermentasi terhadap selulosa yang terhidrolisis ditunjukkan pada Gambar 15.



Gambar 15. Grafik Rerata Selulosa Terhidrolisis dengan perlakuan konsentrasi rumput laut *Eucheuma cottonii* yang berbeda dan lama fermentasi

Konsentrasi *Eucheuma cottonii* dan lama fermentasi berpengaruh terhadap selulosa yang terhidrolisis. Hal itu dikarenakan *Eucheuma cottonii* mengandung selulosa yang relatif besar yaitu 4.06%. Sehingga semakin tinggi konsentrasi *Eucheuma cottonii* yang digunakan dalam proses fermentasi maka kandungan selulosa dalam media fermentasi juga semakin tinggi. Pada lama fermentasi yang optimal, aktivitas kapang *Trichoderma*

reesei akan semakin optimal untuk menghasilkan enzim selulase. Seiring dengan meningkatnya enzim selulase maka semakin banyak rantai ikatan selulosa yang terputus menjadi ikatan pendek yaitu glukosa.

Dari Gambar 15 menunjukkan bahwa grafik persentase selulosa terhidrolisis akan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi substrat dan lama fermentasi yang optimal. Grafik selulosa terhidrolisis diatas mempunyai pola yang hampir sama yaitu selulosa terhidrolisis dari hari kedua fermentasi sampai hari keenam fermentasi mengalami peningkatan sedangkan pada hari kedelapan selulosa terhidrolisis mengalami penurunan. Hal itu disebabkan oleh pengaruh aktivitas kapang *Trichoderma reesei*. Aktivitas kapang *Trichoderma reesei* akan terus meningkat sampai pada titik optimum, setelah itu aktivitas kapang *Trichoderma reesei* akan mulai menurun. Menurunnya aktivitas kapang *Trichoderma reesei* karena faktor lingkungan seperti pH dan nutrien sebagai sumber karbon berpengaruh pada medium. Menurunnya aktivitas kapang *Trichoderma reesei* menyebabkan menurunnya enzim selulase yang diekresikan oleh kapang, sehingga selulosa yang terhidrolisis ikut mengalami penurunan.

Dari analisa sidik ragam (Lampiran 7) menunjukkan bahwa pengaruh konsentrasi *Eucheuma cottonii* dan lama fermentasi berpengaruh berbeda terhadap selulosa terhidrolisis ($F_{hitung} > F_{tabel 1\%}$) yaitu F_{hitung} sebesar 4.822 sedangkan $F_{tabel 5\%}$ sebesar 2.51. Sedangkan uji beda, konsentrasi substrat dan lama fermentasi terhadap selulosa terhidrolisis berbeda sangat nyata (Selisih antara rerata $> BNT 1\%$). Rerata selulosa terhidrolisis pada glukosa cair berkisar antara 2.73-4.04%. ditunjukkan oleh Tabel 17.

Tabel 17. Rerata Selulosa Terhidrolisis

Perlakuan	Rerata selulosa Terhidrolisis (%)	Notasi	Standar deviasi
R ₁ P ₁	2.73	a	0.23438
R ₂ P ₁	3.05	a	0.01000
R ₃ P ₁	3.21	a	0.10970
R ₁ P ₂	2.84	a	0.13650
R ₂ P ₂	3.47	b	0.02646
R ₃ P ₂	3.74	b	0.02082
R ₁ P ₃	3.14	a	0.17926
R ₂ P ₃	3.69	b	0.08145
R ₃ P ₃	4.04	b	0.02646
R ₁ P ₄	2.94	a	0.03055
R ₂ P ₄	3.58	b	0.01732
R ₃ P ₄	4.01	b	0.01000

Selulosa terhidrolisis tertinggi sebesar 4.04% pada konsentrasi *Eucheuma cottonii* 5% dan lama fermentasi hari keenam, sedangkan selulosa terhidrolisis terendah sebesar 2.73 % pada konsentrasi *Eucheuma cottonii* 1% dan lama fermentasi hari kedua. Hal itu dikarenakan substrat merupakan sumber karbon utama bagi kapang *Trichoderma reesei* yang akan dihidrolisis menjadi glukosa. Maka pada proses fermentasi, semakin tinggi substrat dan jumlah enzim selulase dalam medium, maka semakin tinggi selulosa yang terhidrolisis. Menurut Hardjo, *et al* (1989), model aktivitas enzim selulase pada selulosa merupakan dasar penting dalam membuat model biodegradasi selulosa. Dalam sistem dinamik selulosa dan pelaku biodegradasi (selulase) dihasilkan oleh organisme atau ditambahkan sebagai sel bebas untuk hidrolisis selulosa.

Berdasarkan hasil perhitungan, didapatkan persamaan regresi kuadratik $y = -0.0057x^2 + 0.1551x + 2.6729$ dan koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,9396. Dari persamaan tersebut diketahui bahwa persentase selulosa terhidrolisis optimum adalah pada 4.04% hari ke enam dengan konsentrasi substrat 5% . Grafik regresi selulosa terhidrolisis dapat dilihat pada Lampiran 7.

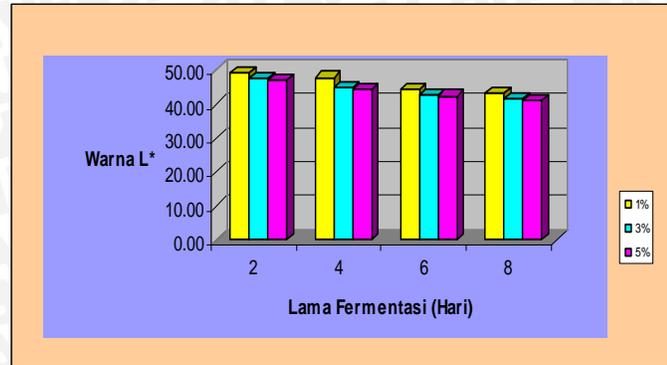
4.9 Warna

Pengukuran warna yang dilakukan adalah menggunakan sistem L^* , a^* , b^* Hunter. Menurut deMan (1989), menjelaskan bahwa sistem hunter menganggap bahwa ada tahap pengalihan sinyal ke otak. Dalam mekanisme pengalihan ini tanggapan merah dibandingkan dengan hijau menghasilkan dimensi warna kuning-ke-biru. Kedua dimensi warna ini dinyatakan dengan lambang a^* dan b^* . Dimensi warna ketiga adalah keterangan dan kecerahan L .

Analisa warna glukosa cair dilakukan menggunakan bantuan alat yang disebut *colour reader*. Ada tiga target dalam pembacaan yaitu L^* , a^* , dan b^* . Fungsi dari masing-masing target pembacaan adalah L^* merupakan parameter kecerahan atau tingkat derajat gelap-terang dengan kisaran 0-100. nilai 0 menunjukkan warna gelap atau hitam sedangkan warna 100 merupakan warna terang. Pembacaan a^* menunjukkan pewarnaan hijau–merah berkisar antara -100 sampai +100. nilai -100 menunjukkan pewarnaan hijau sedangkan nilai +100 menunjukkan warna merah. Parameter b^* merupakan derajat warna kuning ke biru, nilainya berkisar antara -100 samapi 100. nilai -100 menunjukkan warna biru sedangkan nilai +100 menunjukkan warna kuning.

4.9.1 Warna L^* (*Lightness*)

Produk glukosa secara visual cukup bening, namun tidak tembus pandang dengan nilai L^* berkisar antara 40.95 sampai 49.90 (Tabel 18) yang berarti tingkat warna L^* pada glukosa cair cenderung cerah. Kecenderungan tingkat kecerahan glukosa cair akibat perlakuan konsentrasi *Eucheuma cottonii* dan lam fermentasi dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Grafik Rerata Warna L* dengan perlakuan konsentrasi rumput laut *Eucheuma cottonii* yang berbeda dan lama fermentasi

Gambar 16 menunjukkan bahwa grafik tingkat kecerahan mempunyai pola yang hampir sama yaitu cenderung menurun seiring dengan tingginya konsentrasi substrat dan lama fermentasi. Hal ini disebabkan semakin tinggi konsentrasi substrat maka semakin tinggi total padatan terlarut dalam larutan sehingga glukosa cair mempunyai tingkat kecerah relatif rendah (gelap).

Tingkat kecerahan juga dipengaruhi oleh pembentukan gel. Glukosa cair mempunyai viskositas yang relatif tinggi karena *Euchema cottoni* mempunyai sifat hidrokoloid. Akibat pembentukan gel yang tinggi, maka kerapatan masa matrik semakin rapat sehingga akan mengurangi tingkat kecerahan pada glukosa cair. Menurut Harijono *et al* (2001), daya tembus sinar dan kecerahan ditentukan oleh kekuatan gel serta warna yang terbentuk selama proses pengolahan. Rerata warna produk glukosa cair dapat dilihat pada Tabel 18.

Berdasarkan hasil perhitungan, didapatkan persamaan regresi kuadratik $y = -0.0138x^2 + 0.4827x + 49$ dan koefisien korelasi (R^2) sebesar 0.7665. Dari persamaan tersebut diketahui bahwa persentase warna L* optimum adalah 40.95 pada hari ke

delapan dengan konsentrasi substrat 5% . Grafik regresi warna L* dapat dilihat pada Lampiran 8.

Tabel 18. Rerata Warna L*

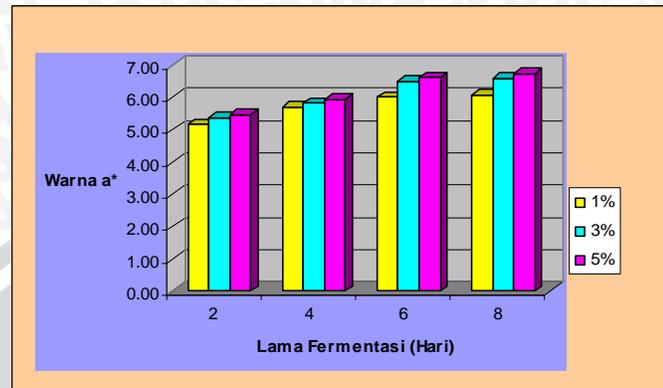
Perlakuan	Rerata Warna L*	Notasi	Standar deviasi
R ₁ P ₁	49.15	b	0.75000
R ₂ P ₁	47.55	b	1.05000
R ₃ P ₁	47.10	c	0.30000
R ₁ P ₂	47.93	b	0.08000
R ₂ P ₂	44.85	b	0.75000
R ₃ P ₂	44.44	b	0.38837
R ₁ P ₃	44.30	b	1.10546
R ₂ P ₃	47.75	b	1.65000
R ₃ P ₃	42.57	b	0.06028
R ₁ P ₄	43.20	b	0.10000
R ₂ P ₄	41.60	a	1.20000
R ₃ P ₄	40.95	a	0.45000

Analisa sidak ragam (Lampiran 8) menunjukkan bahwa lama fermentasi dan konsentrasi *Eucheuma cottonii* memberikan pengaruh yang berbeda terhadap tingkat kecerahan warna glukosa cair (F hitung > F tabel 5%) F hitung sebesar 10.594 sedangkan F tabel 5% sebesar 2.51. Sedangkan uji beda, konsentrasi substrat dan lama fermentasi terhadap warna L* berbeda sangat nyata (Selisih antara rerata > BNT 1%). Rerata tingkat kecerahan warna glukosa cair akibat perlakuan konsentrasi *Eucheuma cottonii* dan lama fermentasi maka proses kelarutan pigmen semakin optimal sehingga warna glukosa cair semakin gelap.

4.9.2 Warna a* (Redness)

Target pembacaan a* (Redness) menunjukkan derajat kemerahan dengan kisaran nilai -100 samapi dengan +100, yang menunjukkan warna hijau sampai dengan warna merah. Glukosa cair yang dihasilkan dari penelitian ini mempunyai kisaran nilai 5.50-6.74 (Tabel 19), berarti warna cenderung hijau kemerahan. Kecenderungan pengaruh

perlakuan konsentrasi *Eucheuma cottonii* dan lama fermentasi ditunjukkan pada Gambar 17.



Gambar 17. Grafik Rerata Warna a^* dengan perlakuan konsentrasi rumput laut *Eucheuma cottonii* yang berbeda dan lama fermentasi

Gambar 17. menunjukkan bahwa grafik warna a^* mempunyai pola yang sama yaitu derajat warna merah pada glukosa cair semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi *Eucheuma cottonii* dan lama fermentasi. Hal ini disebabkan karena *Eucheuma cottonii* mempunyai pigmen merah yang akan larut dalam media fermentasi. Semakin lama proses fermentasi maka semakin banyak pigmen yang larut pada medium sehingga glukosa cair yang dihasilkan akan mempunyai derajat warna merah yang relatif tinggi.

Berdasarkan analisa sidik ragam (Lampiran 8), menunjukkan bahwa perubahan derajat warna merah akibat pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi substrat adalah berbeda nyata ($F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$) F_{hitung} sebesar 4.218 sedangkan $F_{tabel 5\%}$ sebesar 2.51. Sedangkan uji beda, konsentrasi substrat dan lama fermentasi terhadap warna a^* berbeda sangat nyata (Selisih antara rerata $>$ BNT 1%). Rerata derajat kemerahan glukosa cair ditunjukkan oleh Tabel 19.

Tabel 19. Rerata Warna a*

Perlakuan	Rerata Warna a*	Notasi	Standar deviasi
R ₁ P ₁	5.50	a	0.05859
R ₂ P ₁	5.60	a	0.02517
R ₃ P ₁	5.85	b	0.15948
R ₁ P ₂	5.70	b	0.10000
R ₂ P ₂	6.08	b	0.10504
R ₃ P ₂	6.30	b	0.07095
R ₁ P ₃	5.91	b	0.08000
R ₂ P ₃	6.50	b	0.10000
R ₃ P ₃	6.61	b	0.16258
R ₁ P ₄	6.03	b	0.04000
R ₂ P ₄	6.60	b	0.10000
R ₃ P ₄	6.74	b	0.09866

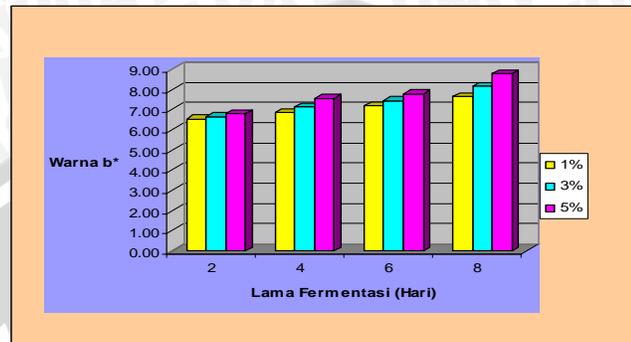
Tabel 19 menunjukkan bahwa derajat warna merah tertinggi yaitu 6.74 pada konsentrasi substrat 5% dan lama fermentasi hari kedelapan, sedangkan derajat kemerahan terendah yaitu 5.50 pada konsentrasi substrat 1% dan lama fermentasi hari kedua. Hal itu dikarenakan larutnya pigmen-pigmen merah yang terkandung dalam *Eucheuma cottonii*. Semakin tinggi konsentrasi *Eucheuma cottonii* maka pigmen merah yang larut pada medium fermentasi juga semakin tinggi, sehingga warna glukosa cair cenderung warna merah.

Berdasarkan hasil perhitungan, didapatkan persamaan regresi kuadratik $y = -0.0028x^2 + 0.1385x + 5.3673$ dan koefisien korelasi (R^2) sebesar 0.874. Dari persamaan tersebut diketahui bahwa persentase warna a* optimum adalah 6.74 pada hari ke delapan dengan konsentrasi substrat 5% . Grafik regresi warna a* dapat dilihat pada Lampiran 8.

4.9.3 Warna b* (*Yellowness*)

Derajat warna kuning dilambangkan dengan b* (*Yellowness*) yang mempunyai range nilai -100 sampai dengan +100. hasil pengukuran derajat warna kuning pada glukosa cair

berkisar antara 6.20-8.77 sehingga warna glukosa cair cenderung ke warna kuning. Kecenderungan warna b^* akibat perlakuan konsentrasi *Eucheuma cottonii* dan lama fermentasi ditunjukkan oleh Gambar 18.



Gambar 18. Grafik Rerata Warna b^* dengan perlakuan konsentrasi rumput laut *Eucheuma cottonii* yang berbeda dan lama fermentasi

Gambar 18. menunjukkan bahwa derajat warna kuning cenderung semakin meningkat seiring dengan besarnya konsentrasi *Eucheuma cottonii* dan lama fermentasi. Menurut Suryaningrum (2001), rumput laut kelas *Rhodophyceae* mengandung pigmen fikokritin, karotenoid dan klorofil a. Menurut deMan (1997), karotenoid merupakan warna alam yang mempunyai struktur dasar delapan isoprenoid yang tersusun seakan-akan dua satuan 20 karbon. Karotenoid terbentuk karena kondensasi kepala-ke-ekor empat satuan isoprenoid, disambung dengan ekor ke ekor. Karotenoid menyebabkan warna kuning muda sampai jingga.

Adanya pigmen kuning yang terdapat dalam *Eucheuma cottonii* yang terlarut dalam medium fermentasi menyebabkan derajat warna kuning pada glukosa cair semakin meningkat.

Berdasarkan analisis ragam (Lampiran 8).Menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi *Eucheuma cottonii* dan lama fermentasi memberi pengaruh yang berbeda terhadap warna kuning, dimana ($F_{hitung} > F_{tabel} 5\%$) F_{hitung} sebesar 4.353

sedangkan F tabel 5% sebesar 2.51. Sedangkan uji beda, konsentrasi substrat dan lama fermentasi terhadap warna b* berbeda sangat nyata (Selisih antara rerata > BNT 1%).

Rerata warna b* pada glukosa cair ditunjukkan oleh Tabel 20.

Tabel 20. Rerata Warna b*

Perlakuan	Rerata b*	Notasi	Standar deviasi
R ₁ P ₁	6.54	a	0.04583
R ₂ P ₁	6.65	a	0.15000
R ₃ P ₁	6.80	a	0.20000
R ₁ P ₂	6.85	b	0.45000
R ₂ P ₂	7.14	b	0.02646
R ₃ P ₂	7.55	b	0.09000
R ₁ P ₃	7.20	b	0.07000
R ₂ P ₃	7.45	b	0.15000
R ₃ P ₃	7.79	b	0.01528
R ₁ P ₄	7.65	b	0.15000
R ₂ P ₄	8.15	b	0.05000
R ₃ P ₄	8.77	c	0.02082

Dari Tabel 20 diatas dapat diketahui bahwa perlakuan lama fermentasi dan konsentrasi *Eucheuma cottonii* menghasilkan warna b* sebesar 8.77 pada konsentrasi substrat 5% dan lama fermentasi hari kedelapan, sedangkan warna b terendah sebesar 6.20 pada konsentrasi substrat 1% dan lama fermentasi 2 hari. Hal itu disebabkan banyaknya pigmen kuning dalam *Eucheuma cottonii* yang larut pada medium fermentasi. Konsentrasi *Eucheuma cottonii* dan lama fermentasi yang optimal akan menyebabkan derajat warna kuning pada glukosa cair semakin meningkat.

Berdasarkan hasil perhitungan, didapatkan persamaan regresi kuadratik $y = 0.0096x^2 + 0.0478x + 6.5489$ dan koefisien korelasi (R^2) sebesar 0.9192. Dari persamaan tersebut diketahui bahwa persentase warna b* optimum adalah 8.77 pada hari ke delapan dengan konsentrasi substrat 5% . Grafik regresi warna b* dapat dilihat pada Lampiran 8.

4.10 Perlakuan Terbaik

Nilai ideal dari perlakuan terbaik pada metode *Multiple Attribute* adalah nilai yang sesuai harapan yaitu nilai minimal dari parameter fisik maupun kimiawi. 10 parameter yang dinilai dari glukosa cair adalah persentase glukosa, total padatan terlarut, total kapang, kecerahan L, derajat warna merah a, derajat warna kuning b, selulosa terhidrolisis, viskositas, pH, aktivitas selulotik

Berdasarkan hasil perhitungan perlakuan terbaik (Lampiran 9) dapat diketahui bahwa nilai jarak kerapatan sebesar 0.10 pada tiap parameter. Perlakuan terbaik dihasilkan pada konsentrasi *Eucheuma cottonii* 5% dan lama fermentasi hari keenam. Parameter fisik dan kimia yang merupakan perlakuan terbaik yaitu glukosa 5.92%, total padatan terlarut 2.1%Brix, viskositas relatif 1.035 centipoise, pH 9.3, Aktivitas selulotik 31.067 NCU, total kapang $302 \cdot 10^4$ koloni/ml, kecerahan (L^*) 42.57, derajat kemerahan (a^*) 6.61, derajat warna kuning (b^*) 7.79 dan selulosa terhidrolisis 4.04%.

5. PENUTUP

5.1 KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa:

- a. Penambahan rumput laut dengan berbagai konsentrasi berpengaruh terhadap jumlah glukosa cair yang dihasilkan.
- b. Lama fermentasi berpengaruh terhadap aktivitas *Trichoderma reesei* sehingga mempengaruhi jumlah glukosa cair yang dihasilkan.
- c. Lama fermentasi dan konsentrasi *Eucheuma cottonii* memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap jumlah glukosa cair yang diproduksi.
- d. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan terbaik yaitu pada konsentrasi *Eucheuma cottonii* 5% dan lama fermentasi hari keenam. Parameter fisik dan kimia yang merupakan perlakuan terbaik yaitu glukosa 5.92%, total padatan terlarut 2.1%Brix, viskositas relatif 1.035 centipoise, pH 9.3, Aktivitas selulolitik 31.067 NCU, total kapang 302×10^4 KOLONI/ml, kecerahan (L^*) 42.57, derajat kemerahan (a^*) 6.61, derajat warna kuning (b^*) 7.79 dan selulosa terhidrolisis 4.04%.

5.2 SARAN

Perlu diadakan penelitian lebih lanjut mengenai aplikasi glukosa cair ke produk-produk pangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, martin and Nout, R.M.J. 2001. Fermentasi And Food Safety. AN ASPEN. Maryland
- Afrianto, E dan E. Liviawati. 1989. pengawetan dan pengolahan ikan. Kanisius. Yogyakarta.
- _____. 1993. Budidaya Rumput Laut dan Cara Pengolahannya. Bhratara. Jakarta.
- Anggadiredja J. T., A. Zalnika., H. Purwoto., dan S. Istini. 2006. Rumput Laut. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Anonymous. 2004^a. Gambar Eucheuma. Cottonii. www.bar.gov.ph/2004/image.com
- _____. 2006^b. Glukosa. www.wikipedia.or/wiki/glukosa.
- _____. 2007^c. *Trichoderma reesei*. www.digilib.batang.go.id/disitulitbang/abstrak.php?id=2800
- Apriyantono, A., D. Fardiaz., N. Puspitasari., Sedarnawati., dan S. Budiyo. 1989. Petunjuk Laboratorium Analisis Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Aslan, loade.M. 1998. Budidaya Rumput Laut. Kanisius Yogyakarta.
- Ayu, G.A. 2007. Fortifikasi Rumput Laut Eucheuma spinosum untuk Pembuatan Mi Basah. Teknologi Hasil Perikanan Brawijaya. Malang.
- Belitz H.D and W.Grosch. 1999. Food Chemistry. Library of Congress Cataloging. Germany.
- Buckle, K. A., R. A. Edwards., G. H. Fleet., dan M. Wootton. 1985. Food Science. Departement Of Education And Culture. Directorate General Of Higher Educational. International Development Program Of Australian University And Colleges. Diterjemahkan Oleh Purnomo, H dan Adiono. 1985. Ilmu Pangan. UI Press.
- Candrakaran, R. 1997. Frontiers In Carbohydrate. Elsevier Applied Science. London.
- Coulter, T. P. 1994. Food: The Chemistry Of Its Component. School Of Applied Science. South Bank University. The Royal Society Of Chemistry. London.
- deMan, john M. 1989. Kimia Makanan. ITB. Bandung.

- Desrosier .N.D 1988. Teknologi Pengawetan Pangan. UI. Jakarta.
- Dhoni, S.K. 2002. Pembuatan Glukosa Cair Oleh Kapang *Trichoderma Viride* pada Ampass Tebu. Teknologi Hasil Pertanian Brawijaya. Malang.
- Dwidjoseputro.D. 1998. Dasar-Dasar Mikrobiologi Pangan. Djambatan. Jakarta.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan I. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- _____. 1993. Analisis mikrobiologi Pangan. . PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Fennema, O. R. 1976. Food Chemistry. Marcel Dekker Inc. New York.
- Fox.P.F. 1991. Food Enzimology. Elsevier Appliated Science. London.
- Gaman and Sherrington. 1992. Ilmu Pangan (Pengantar Ilmu Pangan,Nutrisi dan Mikroorganisme. UGM. Yogyakarta.
- Hardjo, S., N. S. Indrasti., dan T. Bantacut. 1989. Biokonversi: Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian. Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hikmawati, R. 2007. Fortifikasi Rumput Laut *Eucheuma cottonii* untuk Pembuatan Sirup. Teknologi Hasil Perikanan. Malang.
- Harijono, Kusnadi, J dan Mustikasari, S.A. 2001. Pengaruh Karaginan Dan Total Padatan Terlarut Sari Buah Apel Muda Terhadap Aspek Kualitas Permen Jelly. Eknologi Pertanian. Malang
- Kanwil Perdagangan Propinsi Bali. 1992. Agronomi Rumput Laut Bali. Derpartemen perdagangan. Bali.
- Lindawati, S. I., Yunianta., E. Martati. 2006. Pembuatan Sirup Glukosa Kasar Dari Pati Sagu (*Metroxylon* sp) (Kajian Lama Sakarifikasi Dan Dosis Campuran Enzim Glukoamilase Dan Pullulanase Terhadap Sifat Fisik Dan Kimia). Jurnal. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang. Hal 1
- Lutfi. 2000. Potensi Rumput Laut. www.Corney.id/disitulitbang /abstrack. php?id=2800
- Machfud, E. Gumbira Said dan Krisnani. 1989. Fermentor. Pendidikan dan Kebudayaan direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi IPB. Bogor.

- Maemunah, S., T. A. Priyatna., A. A. Sjamsuriputra. 2005. Aplikasi Enzim Selulase dari *Trichoderma Ressei* QM9414 untuk Peningkatan Produksi Etanol dari Singkong Melalui Proses Sakarifikasi Fermentasi Simultan. Skripsi. Departemen Teknik Kimia. Fakultas Teknologi Industri. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Abstrak. [http://abstraksi-ta.fti.itb.ac.id/? abstraksi=1& details=1&id=781&tahun=2005](http://abstraksi-ta.fti.itb.ac.id/?abstraksi=1&details=1&id=781&tahun=2005). Diakses Pada Tanggal 6 Mei 2007
- Nicholson, J. W. 1991. *The Chemistry Of Polimers*. The Dental Institute. King's College. The Royal Society Of Chemistry. London.
- Rahman, A. 1992. *Teknologi Fermentasi*. Arcan. Jakarta
- Rafladge, Cion. 1994. *Biochemistry Of Microbia Degradation*. Kluwe Academic. London
- Respati. 1980. *Pengantar Kimia Organik*. UGM. Yogyakarta.
- Richana, N. 2006. Gula Singkong Dapat Diproduksi Di Pedesaan. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian* Volume 28 No 3. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen Pertanian. Bogor. <http://www.pustaka-deptan.go.id/publication/wr283066.pdf>. Hal 22. Diakses Pada Tanggal 25 Desember 2006
- Robinson, T. 1991. *The Organic Constituents Of Higher Plant*. Departement Of Biochemistry. University Of Massachosetts. Trevor Robinson. Amherst. Diterjemahkan Oleh Padmawinata, K. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Schlegel, H. G. 1976. *Allgemeine Mikrobiologie*. Georg Thieme Verlag. Stuttgart. Diterjemahkan Oleh Baskoro, R. M. T. 1994. Universitas Gajah Mada Press. Yogyakarta.
- Salman. S dan Gunarto.L. 1999. Enzim Selulose dari *trichoderma* sp. [www//indoblogen.or.id/terbitan/agrobia/abstrak/agrobia_vol2_no2.1999_salman.php](http://www.indoblogen.or.id/terbitan/agrobia/abstrak/agrobia_vol2_no2.1999_salman.php)
- Sapariati,ella, T. Dewanti, Dhoni, S.K. 2002. Hidrolisis Ampas Tebu Menjadi Glukosa Cair Oleh Kapang *Trichoderma viride*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Sastrohumidjojo. H. 1995. *kimia Kayu Dasar-Dasar Dan Penggunaannya*.UGM. Yogyakarta.
- Soegiarto, Sulistidjo.W dan Hasan.M. 1985. *Rumput Laut Algae*. Lembaga Oseanografo LIPI. Jakarta.
- Sudarmadji, S., B. Hayono., dan Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa Untuk Bahan*

- Sugito.J. 2003 Budidaya, Pengolahan dan Pemasaran Rumput Laut. Pnobar Swadaya. Jakarta.
- Setiawihardja, B, Sunarmani dan Rosyana.E. 2000. Pemanfaatan Kulit Pisang Untuk Produksi Selulase. Teknologi Pangan dan Gizi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.
- Schoemaker and Brown . 1998. In Cavevascini and Bottlen. 1981 dalam Dhoni, S.K. 2002. Pembuatan Glukosa Cair Oleh Kapang *Trichoderma Viride* pada Ampass Tebu. Teknologi Hasil Pertanian Brawijaya. Malang.
- Sastrodinoto,S. 1979. Fermentasi. Angkasa. Bandung.
- SNI-01-2891-1992.
- Suryaningrum,D, Wikarta. T dan Kristiana, H. 2006. Uji Aktivitas Senyawa Antikoksidasi dari Rumput Laut *Halymenia* dan *Euचेuma cottonii*
- Sutedjo, M. M., A. G. Kartasapoetra., dan R. S. Sastroadmodjo. 1991. Mikorbiologi Tanah. PT Rineka Cipta. Jakarta.
- Tjokroadikoesoemo, P. S. 1993. HFS Dan Industri Ubi Kayu Lainnya. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Setyowati, B.B Sasmita dan Nursyam, H. 2000. Pengaruh Jenis Rumput Laut Dan Lama Ekstraksi Terhadap Peningkatan Kualitas Karagenan. Jurnal Ilmu-Ilmi Hayati. Malang.
- Tortora, G. J., B. R. Funke., dan C. L. Case. 2001. Microbiology: An Introduction. An Imprint Of Addison Wesley. Longman Inc. New York.
- Widjanarko,S.B. 2000. Karakteristik Sifat Fisik dan Kimia Sirup Glukosa Terbuat Dari Tepung Tapioka Secara Hidrolisis Asam. Teknologi Hasil Pertanian Brawijaya. Malang.
- _____ . 2000. Pengantar Fermentasi. Teknologi Hasil Pertanian Brawijaya. Malang.
- Winarno, F. G. 1986. Enzim Pangan. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- _____ . 1996. Teknologi Pengolahan Rumput Laut. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta.
- Winarno, G. G., S. Fardiaz., dan D. Fardiaz. 1990. Pengantar Teknologi Pangan. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Wong, D. W. S. 1995. Food Enzyme: Structure And Mechanism. Chapman And Hall. New York.

- Yuwono, S dan T. Susanto. 2001. Pengujian Fisik Pangan. UNESA University Press. Surabaya.
- Yahya, Bambang, B dan Imam S. 2000. Pengaruh Jenis Alginat dan Konsentrasi Rumput Laut Terhadap Stabilitas Susus Kedelai. Teknologi Hasil Perikanan. Brawijaya Malang.
- Zubaidah,E, Ningtyas.W, Nur. M. 2006. Mikrobiolpgi Umum. Universitas Brawijaya Malang.
- Zeleny.M. 1982. Multiple Criteria Decision Making. Mc Grawm Hill Book. New York

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Lampiran 10. Glukosa Hasil Penelitian Pendahuluan

Hari ke 1					
sampel	ulangan	Absorbansi	Glukosa (mg/dl)	Glukosa (%)	Rata-rata
C1	1	0.113	2320.328542	2.320	2.2587269
	2	0.107	2197.125257	2.197	
C2	1	0.144	2956.87885	2.957	3.0492813
	2	0.153	3141.683778	3.142	
C3	1	0.166	3408.62423	3.409	3.4394251
	2	0.169	3470.225873	3.470	
C4	1	0.188	3860.36961	3.860	3.9117043
	2	0.193	3963.039014	3.963	
C5	1	0.192	3942.505133	3.943	3.973306
	2	0.195	4004.106776	4.004	
Hari ke 2					
C1	1	0.135	2772.073922	2.772	2.9158111
	2	0.149	3059.548255	3.060	
C2	1	0.182	3737.166324	3.737	3.8603696
	2	0.194	3983.572895	3.984	
C3	1	0.211	4332.648871	4.333	4.4147844
	2	0.219	4496.919918	4.497	
C4	1	0.231	4743.326489	4.743	4.8049281
	2	0.237	4866.529774	4.867	
C5	1	0.255	5236.13963	5.236	5.1540041
	2	0.247	5071.868583	5.072	
Hari ke 3					
C1	1	0.163	3347.022587	3.347	3.2956879
	2	0.158	3244.353183	3.244	
C2	1	0.194	3983.572895	3.984	4.0657084
	2	0.202	4147.843943	4.148	
C3	1	0.233	4784.394251	4.784	4.7227926
	2	0.227	4661.190965	4.661	
C4	1	0.268	5503.080082	5.503	5.5544148
	2	0.273	5605.749487	5.606	
C5	1	0.285	5852.156057	5.852	5.9445585
	2	0.294	6036.960986	6.037	
Hari ke 4					
C1	1	0.178	3655.030801	3.655	3.7577002
	2	0.188	3860.36961	3.860	
C2	1	0.213	4373.716632	4.374	4.4969199
	2	0.225	4620.123203	4.620	
C3	1	0.246	5051.334702	5.051	4.9794661
	2	0.239	4907.597536	4.908	
C4	1	0.275	5646.817248	5.647	5.8110883
	2	0.291	5975.359343	5.975	
C5	1	0.311	6386.036961	6.386	6.2936345
	2	0.302	6201.232033	6.201	
Hari ke 5					
C1	1	0.186	3819.301848	3.819	3.8809035
	2	0.192	3942.505133	3.943	
C2	1	0.226	4640.657084	4.641	4.6919918
	2	0.231	4743.326489	4.743	
C3	1	0.252	5174.537988	5.175	5.1334702

	2	0.248	5092.402464	5.092	
C4	1	0.289	5934.291581	5.934	5.9753593
	2	0.293	6016.427105	6.016	
C5	1	0.325	6673.511294	6.674	6.6119097
	2	0.319	6550.308008	6.550	
Hari ke 6					
C1	1	0.211	4332.648871	4.333	4.2505133
	2	0.203	4168.377823	4.168	
C2	1	0.242	4969.199179	4.969	4.8973306
	2	0.235	4825.462012	4.825	
C3	1	0.26	5338.809035	5.339	5.4106776
	2	0.267	5482.546201	5.483	
C4	1	0.294	6036.960986	6.037	6.0780287
	2	0.298	6119.096509	6.119	
C5	1	0.322	6611.909651	6.612	6.7043121
	2	0.331	6796.714579	6.797	
Hari ke 7					
C1	1	0.189	3880.903491	3.881	3.9527721
	2	0.196	4024.640657	4.025	
C2	1	0.229	4702.258727	4.702	4.7535934
	2	0.234	4804.928131	4.805	
C3	1	0.249	5112.936345	5.113	5.0308008
	2	0.241	4948.665298	4.949	
C4	1	0.259	5318.275154	5.318	5.2669405
	2	0.254	5215.605749	5.216	
C5	1	0.271	5564.681725	5.565	5.4928131
	2	0.264	5420.944559	5.421	



Lampiran 11

3.3.1 Prosedur Analisis Serat Kasar (Sudarmadji *et al*, 1997)

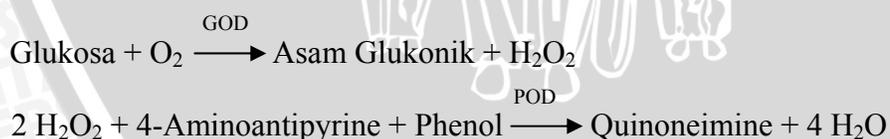
- a. Dihaluskan bahan sehingga dapat melalui ayakan diameter 1 mm dan campurlah baik-baik. Kalau bahan tidak dapat dihaluskan, maka hancurkan sebaik mungkin.
- b. Ditimbang 2 g bahan kering dan ekstraksi lemaknya dengan soxhlet. Kalau bahan sedikit mengandung lemak, misalnya sayur-sayuran gunakan 10 g bahan dan tidak perlu dikeringkan serta diekstraksi lemaknya.
- c. Dipindahkan ke dalam erlenmeyer 600 ml. Kalau ada tambahkan 0,5 asbes yang telah dipijarkan dan 3 tetes zat antibuih (*antifoam agent*).
- d. Ditambahkan 200 ml larutan H_2SO_4 mendidih ($1,25 H_2SO_4$ pekat/100 ml = 0,255 N H_2SO_4) dan tutuplah dengan pendingin balik. Didihkan selama 30 menit dengan kadangkala digoyang-goyangkan.
- e. Disaring suspensi dengan kertas saring dan residu yang tertinggal dalam erlenmeyer dicuci dengan aquades mendidih. Cucilah residu dalam kertas saring sampai air cucian tidak bersifat asam lagi (uji dengan kertas lakmus).
- f. Dipindahkan secara kuantitatif residu dari kertas saring ke dalam erlenmeyer kembali dengan spatula dan sisanya dicuci dengan larutan NaOH mendidih ($1,25 g NaOH/100 ml = 0,313 N NaOH$) sebanyak 200 ml sampai semua residu masuk ke dalam erlenmeyer. Didihkan dengan pendingin balik sambil kadangkala digoyang-goyang selama 30 menit.
- g. Disaring dengan kertas saring kering yang diketahui beratnya atau krus Gooch yang telah dipinjakan dan diketahui beratnya sambil dicuci dengan larutan K_2SO_4 10%. Cuci lagi residu dengan aquades mendidih dan kemudian dengan lebih kurang 15 ml alkohol 95%.

- h. Dikeringkan kertas saring atau krus dengan isinya pada 110°C sampai berat konstan (1-2 jam), dinginkan dalam desikator, dan ditimbang. Jangan lupa mengurangkan berat asbes (kalau digunakan)

Berat residu = berat serat kasar

Prosedur Analisis Glukosa dengan metode GOD-PAP (Gluko Oksidase Determine-Phenol Amino Pyrine)(Anonymous, 2007)

- a. Prinsip dari metode GOD-PAP adalah oksidasi glukosa oleh gluko-oksidas Determine (GOD) menjadi asam glukanoat dan H_2O_2 . Selanjutnya H_2O_2 direaksikan dengan 4-aminoantipirin + fenol yang menghasilkan chinomine yang berwarna kemerahan + H_2O . Reaksi ini dikatalis oleh Phenyl-Oksidas Determine (POD). Chinomine yang terbentuk equivalen dengan glukosa sehingga warna yang terukur dari produk chinomine akan sebanding dengan kadar glukosa.
- b. Determinasi glukosa setelah oksidasi enzimatis yang dilakukan oleh glukosa oksidase. Indikator kolorimetri adalah quinoneimine yang didegradasi dari 4-aminoanipyrine dan phenol oleh hidrogen peroksida di bawah reaksi katalisis peroksidase (*Trinder's reaction*).



- c. Reagen reaksi yang digunakan terdiri atas buffer fosfat 250 mmol/l dengan pH 7, glukosa oksidase > 10 KU/l, fenol 5 mmol/l, peroksidase > 10 KU/l, dan 4-aminoantipirin 0,5 mmol/l. Konsentrasi standar yang digunakan adalah 100 mg/dl (5,55 mmol/l).

- d. Larutan didiamkan pada suhu kamar selama 20 menit dan kemudian absorbansi karutan diukur dengan spektrometer pada λ 500 nm atau Hg 546 nm
- e. Konsentrasi glukosa dihitung dengan rumus:

$$\text{Glukosa (mg/dl)} = \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi standard}} \times \text{konsentrasi standard} \times \text{fp}$$

$$\% \text{ Glukosa} = \frac{\text{Glukosa (mg/dl)}}{1000} \times 100\%$$

keterangan:

$$\text{Absorbansi standard} = 0,487$$

$$\text{Konsentrasi standard} = 100 \text{ mg/dl}$$

$$\text{Faktor pengenceran (fp)} = 4$$

Prosedur Analisis Total Padatan Terlarut (% Brix) (Mochtar dan Rahman, 1978)

- a. Sampel dihomogenkan.
- b. Ditetaskan ke alat (*hand refraktometer*) dengan menggunakan pipet tetes.
- c. Dilakukan pembacaan hasil pengukuran. Total padatan terlarut dinyatakan dalam persen (%).

Prosedur Analisis Viskositas Relatif (Yuwono dan Susanto, 2001)

- a. Pipet volume 25 ml disiapkan dan diberi tanda pada 10 cm dari kedua ujung pipet.
- b. Air dihisap dengan pipet tersebut sampai melebihi batas tanda yang telah dibuat.
- c. Diatur dengan menggunakan jari agar permukaan air tepat pada batas tanda bagian atas pipet yang telah dibuat.
- d. Dengan menggunakan *stopwatch*, jari penutup lubang pipet dilepaskan bersamaan dengan *stopwatch* “on”.
- e. *Stopwatch* dihentikan ketika permukaan air tepat pada batas bawah.

- f. Dicatat waktu yang diperlukan.
- g. Pengamatan diulangi sampai 3 kali dan dibuat rata-rata.
- h. Setelah itu, pipet diisi dengan cairan yang akan diukur viskositasnya dengan prosedur yang sama pada pengukuran air.
- i. Dicatat waktu yang diperlukan oleh cairan tersebut.
- j. Viskositas cairan dihitung berdasarkan persamaan:

$$n_1/n_2 = (p_1/p_2) \times (t_1/t_2)$$

dimana:

n_1 dan p_1 adalah viskositas dan densitas air

n_2 dan p_2 adalah viskositas dan densitas cairan yang diukur

Tabel 4. Viskositas dan Densitas Air pada Berbagai Suhu

Suhu (0°C)	Viskositas (poiseuille)	Densitas (kg/m ³)
10	0.0013060	999.7
15	0.0011380	999.1
20	0.0010020	998.2
25	0.0008901	997.1
30	0.0007974	995.7

Prosedur Analisis Derajat Keasaman (pH) (Apriantono *et al*, 1989)

- a. Pengukuran pH dilakukan dengan pH meter.
- b. Elektroda dikalibrasi dengan larutan buffer pH 4 dan dibersihkan dengan aquades. Kemudian dicelupkan kembali pada larutan buffer pH 7 dan dinbilas kembali dengan aquades.
- c. Elektroda dicelupkan pada larutan sampel dan kemudian dibaca

Prosedur Perhitungan Total Kapang (Fardiaz, 1993)

- a. Cara penentuan jumlah sel mikroba yang hidup dilakukan dengan cara pengenceran setiap cuplikan produk fermentasi.

- b. Diambil 1 ml cuplikan dan diencerkan 10 kali dengan ditambahkan 9 ml aquades yang sudah dicampurkan dengan pepton 0,01% dan disterilisasikan.
- c. Diambil 1 ml dari cuplikan ini dan ditambahkan 9 ml aquades. Ini berarti pengenceran 10^{-2} dari cuplikan semula dan seterusnya sampai 10^{-5} .
- d. Cuplikan diencerkan dan dikocok dengan menggunakan pipet volum 1ml serta dituangkan ke cawan petri yang berisi campuran medium PDA dan antibiotika (tetrasiklin) 10 ppm dan telah disterilisasikan.
- e. Diinkubasi pada suhu ruang.
- f. Jumlah kapang/ml = jumlah koloni pada cawan petri x pengenceran

Prosedur Analisis Aktivitas Selulotik NCU(Nitrogen Conversion Unit)

(Schoemaker dan Brown, 1978 dalam Cavevascini dan Gattlen, 1981)

- a. Aktivitas selulotik *T. Reesei* diukur berdasarkan kadar glukosa yang terbentuk selama fermentasi (dari pengukuran kadar gula reduksi dengan metode Nelson-Somogyi) dibagi dengan 0,18 mg/ml dikalikan dengan 1 NCU (Nitrogen Conversion Unit)

Prosedur Analisis Persentase Selulosa Yang Terhidrolisis (Modifikasi Prosedur Analisis Dhoni, 2002)

- a. Ditimbang bubuk rumput laut untuk mengetahui berat awalnya.
- b. Bubur rumput laut difermentasi selama 2, 4, dan 6 hari (sesuai perlakuan).
- c. Campuran media fermentasi disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm untuk memisahkan padatan (ampas bubuk rumput laut) dengan cairan glukosa.

- d. Residu dikeringkan di dalam oven pada suhu 110⁰C sampai berat konstan. Kemudian dilakukan penimbangan sehingga didapatkan berat bubuk rumput laut akhir

Persentase selulosa yang terhidrolisis didapatkan dari rumus:

$$\frac{\text{Berat bubuk rumput laut awal}-\text{Berat rumput laut akhir}}{\text{Berat bubuk rumput laut awal}} \times A$$

Keterangan: A adalah faktor konversi kadar selulosa rumput laut

Total Warna (Metode L*a*b*Twinter) (Susanto dan Yuwono, 1998)

- Pengujian dilakukan dengan *color reader*.
- Disisipkan sampel yang akan dianalisis. Jika sampel cair, maka ditaruh di gelas.
- Color reader* dihidupkan dan target pembacaannya ditentukan, yaitu pembacaan L*a*b* *color space*.
- Diukur warna sampel yang telah disiapkan, yaitu dengan menempelkan lensanya pada sampel

Keterangan:

L : parameter kecerahan (*lightness*)

a dan b : koordinat kromatisitas

Prosedur Pemilihan Perlakuan Terbaik (Zeleny, 1982)

Untuk menentukan kombinasi perlakuan terbaik digunakan metode *multiple attribute* dengan prosedur pembobotan sebagai berikut:

1. Menentukan nilai ideal pada masing-masing parameter

Nilai ideal adalah nilai yang sesuai dengan pengharapan, yaitu maksimal atau minimal dari suatu parameter. Untuk parameter dengan rerata semakin tinggi semakin baik, maka nilai terendah sebagai nilai terjelek dan nilai tertinggi sebagai nilai terbaik.

Sebaliknya untuk parameter dengan nilai terendah semakin baik, maka nilai tertinggi sebagai nilai terjelek dan nilai terendah sebagai nilai terbaik

2. Menghitung derajat kerapatan (d^*i) (metode *multiple attribute*)

Derajat kerapatan dihitung berdasarkan nilai ideal untuk masing-masing parameter. Bila nilai ideal (d^*i) minimum, maka:

$$d^*i = \frac{\text{nilai kenyataan yang mendekati ideal}}{\text{nilai ideal dari masing-masing alteratif}}$$

Bila nilai ideal (d^*i) maksimum, maka:

$$d^*i = \frac{\text{nilai ideal dari masing-masing alteratif}}{\text{nilai kenyataan yang mendekati ideal}}$$

Keterangan

$$d^*i = \text{Derajat Kerapatan}$$

3. Menghitung jarak kerapatan (Lp) ((metode *multiple attribute*)

Dengan asumsi semua parameter penting, jarak kerapatan dihitung berdasarkan jumlah parameter = $1/\text{jumlah parameter}$

$L1$ = menjumlah derajat kerapatan dari semua parameter pada masing-masing perlakuan. Kemudian hasil penjumlahan dikurangkan 1

$$L1 = (\lambda k) = 1 - \sum_{i=1}^n (\lambda_{11} \times d^{ki})$$

$$L2 = [\sum \lambda_i^2 (1 - d^{ki})^2]^2$$

$$L\infty = \text{maks} [\lambda_i (1 - d^{ki})]$$

Keterangan

Lp = Jarak kerapatan

$L1$ = jarak Kerapatan Maksimum

$L2$ = Jarak Kerapatan minimum

$L\infty$ = Jarak Kerapatan Optimum

Lampiran 1. Persentase Glukosa

Rerata Glukosa

Perlakuan	Ulangan			Rerata Glukosa (%)
	1	2	3	
R ₁ P ₁	2.156	2.279	2.320	2.252
R ₂ P ₁	4.251	4.456	4.333	4.346
R ₃ P ₁	5.010	4.990	4.887	4.962
R ₁ P ₂	3.901	3.901	4.025	3.943
R ₂ P ₂	4.538	4.661	4.497	4.565
R ₃ P ₂	5.072	5.175	5.359	5.202
R ₁ P ₃	4.435	4.374	4.394	4.401
R ₂ P ₃	4.825	4.949	4.867	4.880
R ₃ P ₃	5.339	5.298	6.140	5.592
R ₁ P ₄	4.148	4.168	4.189	4.168
R ₂ P ₄	4.805	4.846	4.723	4.791
R ₃ P ₄	5.483	5.400	5.421	5.435

Analisis Ragam Glukosa

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Persentase Glukosa

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F hitung	F 1%	F 5%
Corrected Model	25.477(a)	11	2.316	95.065		
Intercept	743.607	1	743.607	30521.65		
R	15.679	2	7.839	321.765	5.61**	3.40*
P	6.419	3	2.140	87.828	4.72**	3.01*
R * P	3.379	6	.563	23.116	3.67**	2.51*
Error	.585	24	.024			
Total	769.669	36				
Corrected Total	26.062	35				

a. R Squared = .978 (Adjusted R Squared = .967)

Ket :

* = Beda nyata

** = Sangat beda nyata

Persentase Glukosa

Duncan ^{a,b}

Perlakuan	N	Subset untuk alpha 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1% 2 hari	3	2.25167								
1% 4 hari	3		3.94233							
1% 8 hari	3		4.16833	4.16833						
3% 2 hari	3			4.34667	4.34667					
1% 6 hari	3			4.40100	4.40100					
3% 4 hari	3				4.56533	4.56533				
3% 8 hari	3					4.79133	4.79133			
3% 6 hari	3						4.88033			
5% 2 hari	3						4.96233	4.96233		
5% 4 hari	3							5.20200	5.20200	
5% 8 hari	3								5.43467	5.43467
5% 6 hari	3									5.59233
Sig.		1.000	.089	.096	.117	.089	.217	.072	.080	.228

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .024.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

Descriptive Statistics

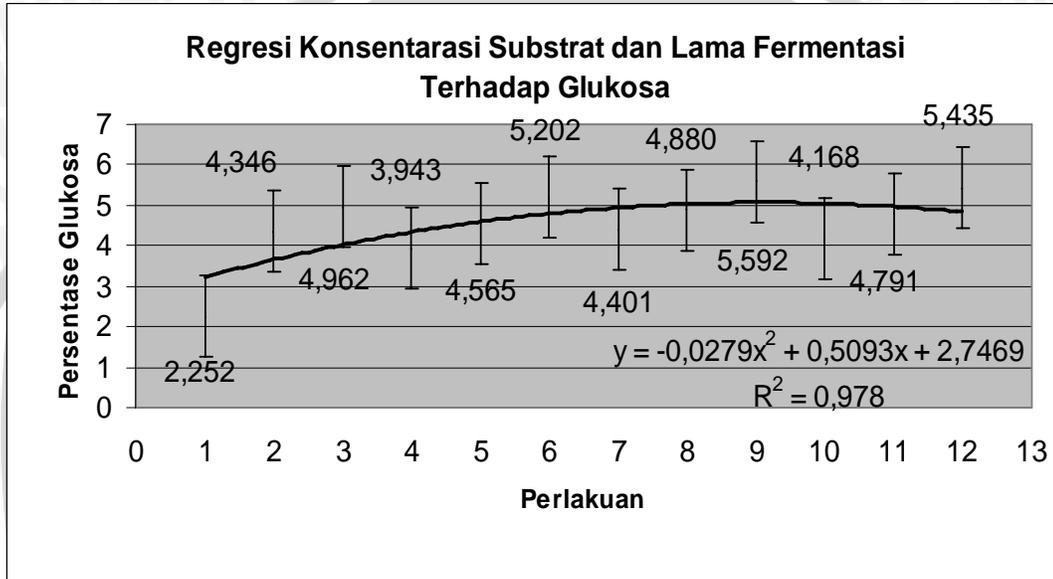
Dependent Variable: Persentase Glukosa

Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
1% 2 hari	2.25167	0.085348	3
3% 2 hari	4.34667	0.103181	3
5% 2 hari	4.96233	0.066003	3
1% 4 hari	3.94233	0.071591	3
3% 4 hari	4.56533	0.085348	3
5% 4 hari	5.20200	0.145393	3
1% 6 hari	4.40100	0.031097	3
3% 6 hari	4.88033	0.063066	3
5% 6 hari	5.59233	0.474736	3
1% 8 hari	4.16833	0.020502	3
3% 8 hari	4.79133	0.062629	3
5% 8 hari	5.43467	0.043155	3
Total	4.54486	0.862913	36

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Persentase Glukosa

Equation	Model Summary					
	R Square	F	Constant	b1	b2	b3
Linear	.355	18.693	3.6420	.049		
Quadratic	.978	23.116	2.7469	.509	-.002	
Cubic	.593	15.560	2.0070	.443	-.022	.000



Lampiran 2. Total Padatan Terlarut

Rerata Total Padatan Terlarut

Perlakuan	Ulangan			Rerata Total Padatan Terlarut (%Brix)
	1	2	3	
R ₁ P ₁	1.3	1.1	1.2	1.2
R ₂ P ₁	1.3	1.3	1.4	1.3
R ₃ P ₁	1.5	1.6	1.5	1.5
R ₁ P ₂	1.5	1.4	1.5	1.5
R ₂ P ₂	1.7	1.7	1.8	1.7
R ₃ P ₂	2.0	1.9	1.9	1.9
R ₁ P ₃	1.8	1.7	2.1	1.9
R ₂ P ₃	2.0	1.8	2.1	2.0
R ₃ P ₃	2.2	1.9	2.1	2.1
R ₁ P ₄	2.0	2.2	2.0	2.1
R ₂ P ₄	2.4	2.3	2.3	2.3
R ₃ P ₄	2.4	2.4	2.4	2.4

Analisi RagamPadatan Terlarut

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Total Padatan Terlarut

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F hitung	F 1%	F 5%
Corrected Model	6.557(a)	11	.596	45.656		
Intercept	127.690	1	127.690	9780.511		
R	1.062	2	.531	40.660	5.61**	3.40*
P	5.201	3	1.734	132.794	4.72**	3.01*
R * P	.294	6	.049	3.752	3.67**	2.51*
Error	.313	24	.013			
Total	134.560	36				
Corrected Total	6.870	35				

a R Squared = .793 (Adjusted R Squared = .753)

Ket :

* = Beda nyata

** = Sangat beda nyata

Total Padatan Terlarut

Duncan^{a,b}

Perlakuan	N	Subset						
		1	2	3	4	5	6	7
1% 2 hari	3	1.200						
3% 2 hari	3	1.333	1.333					
1% 4 hari	3		1.467					
5% 2 hari	3		1.533					
3% 4 hari	3			1.733				
1% 8 hari	3			1.867	1.867			
5% 4 hari	3			1.933	1.933	1.933		
1% 6 hari	3				2.067	2.067		
5% 8 hari	3					2.133		
3% 6 hari	3						2.333	
3% 8 hari	3						2.367	
5% 6 hari	3							2.633
Sig.		.166	.052	.052	.052	.052	.724	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .013.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Total Padatan Terlarut

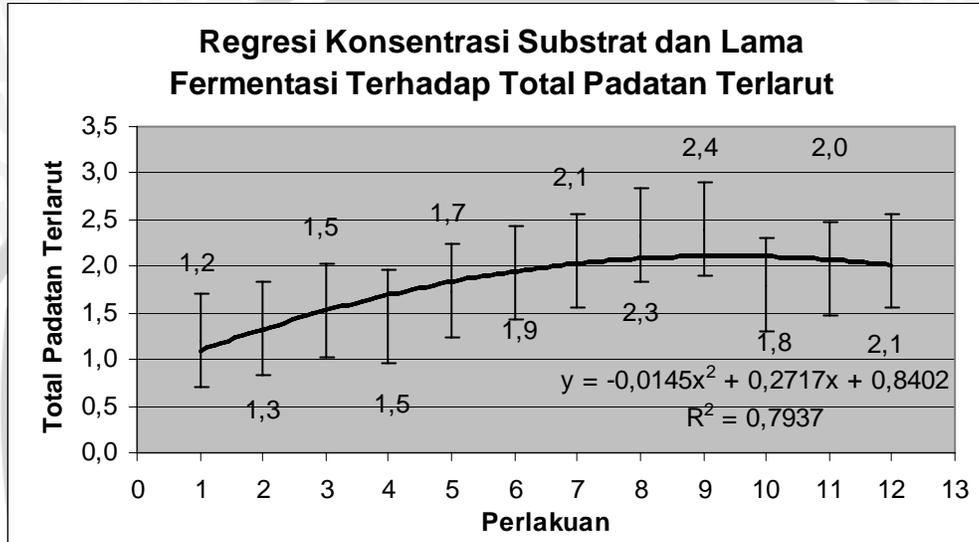
Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
1% 2 hari	1.200	0.1000	3
3% 2 hari	1.333	0.0577	3
5% 2 hari	1.533	0.0577	3
1% 4 hari	1.467	0.0577	3
3% 4 hari	1.733	0.0577	3
5% 4 hari	1.933	0.0577	3
1% 6 hari	2.067	0.1155	3
3% 6 hari	2.333	0.0577	3
5% 6 hari	2.633	0.1528	3
1% 8 hari	1.867	0.2082	3
3% 8 hari	2.367	0.1528	3
5% 8 hari	2.133	0.1528	3
Total	1.883	0.4430	36

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Total Padatan Terlarut

Equation	Model Summary					Parameter Estimates			
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	.672	69.628	1	34	.000	1.209	.104		
Quadratic	.794	51.419	2	33	.000	.842	.261	-.014	
Cubic	.757	41.053	3	32	.000	1.210	-.023	.040	-.003

The independent variable is Perlakuan.



Lampiran 3. Viskositas

Rerata viskositas

Perlakuan	Ulangan			Rerata Viskositas (cp)
	1	2	3	
R ₁ P ₁	0.924	0.926	0.922	0.924
R ₂ P ₁	0.931	0.932	0.930	0.931
R ₃ P ₁	0.945	0.946	0.944	0.945
R ₁ P ₂	0.927	0.928	0.935	0.927
R ₂ P ₂	0.944	0.946	0.945	0.945
R ₃ P ₂	0.997	0.999	1.000	0.999
R ₁ P ₃	0.937	0.935	0.936	0.936
R ₂ P ₃	0.971	0.972	0.970	0.971
R ₃ P ₃	1.036	1.034	1.035	1.035
R ₁ P ₄	0.944	0.942	0.940	0.942
R ₂ P ₄	0.981	0.982	0.980	0.981
R ₃ P ₄	1.066	1.064	1.062	1.064

Analisi Ragam Viskositas Relatif

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Viskositas Relatif

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F hitung	F 1%	F 5%
Corrected Model	.068(a)	11	.006	3303.776		
Intercept	33.638	1	33.638	18074185.090		
R	.039	2	.019	10361.388	5.61**	3.40*
P	.020	3	.007	3616.731	4.72**	3.01*
R * P	.009	6	.001	794.761	3.67**	2.51*
Error	4.467E-05	24	1.861E-06			
Total	33.706	36				
Corrected Total	.068	35				

a R Squared = .999 (Adjusted R Squared = .999)

Ket :

* = Beda nyata

** = Sangat beda nyata

Viskositas Relatif

Duncan^{a,b}

Perlakuan	N	Subset											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
1% 2 hari	3	.924											
1% 4 hari	3		.927										
3% 2 hari	3			.931									
1% 6 hari	3				.936								
1% 8 hari	3					.942							
5% 2 hari	3						.945						
3% 4 hari	3						.945						
3% 6 hari	3							.971					
3% 8 hari	3								.981				
5% 4 hari	3									.99867			
5% 6 hari	3										1.035		
5% 8 hari	3											1.064	
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 1.86E-006.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Viskositas Relatif

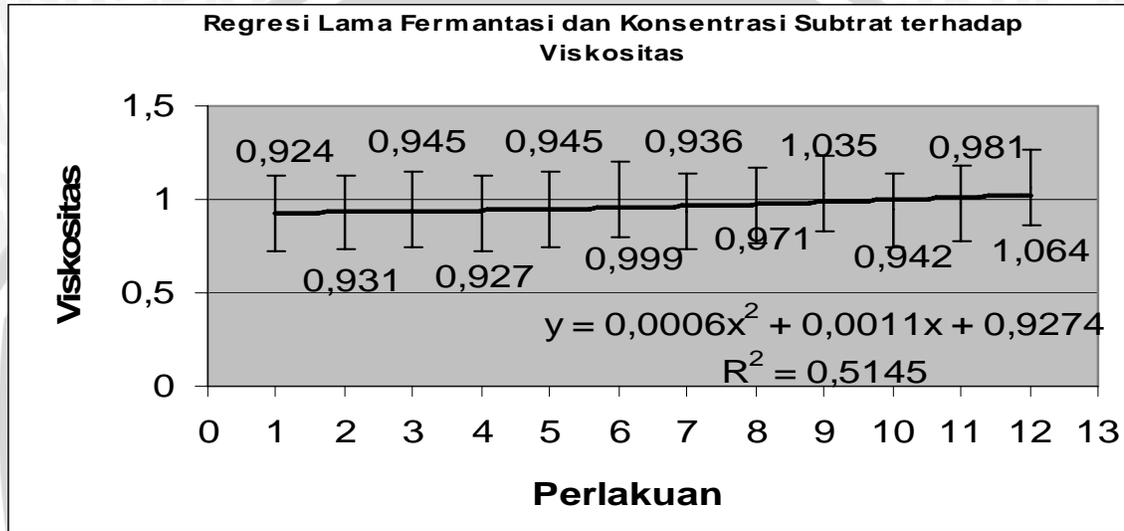
Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
1% 2 hari	.92400	.002000	3
3% 2 hari	.93100	.001000	3
5% 2 hari	.94500	.001000	3
1% 4 hari	.92700	.001000	3
3% 4 hari	.94500	.001000	3
5% 4 hari	.99867	.001528	3
1% 6 hari	.93600	.001000	3
3% 6 hari	.97100	.001000	3
5% 6 hari	1.03500	.001000	3
1% 8 hari	.94200	.002000	3
3% 8 hari	.98100	.001000	3
5% 8 hari	1.06400	.002000	3
Total	.96664	.043974	36

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Viskositas Relatif

Equation	Model Summary					Parameter Estimates			
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	.494	33.168	1	34	.000	.909	.009		
Quadratic	.515	17.520	2	33	.000	.927	.001	.001	
Cubic	.542	12.633	3	32	.000	.896	.025	-.004	.000

The independent variable is Perlakuan.



Lampiran 4. pH

Rerata pH

Perlakuan	Ulangan			Rerata pH
	1	2	3	
R ₁ P ₁	7.4	7.6	7.5	7.5
R ₂ P ₁	7.5	7.6	7.7	7.6
R ₃ P ₁	8.0	8.1	8.1	8.1
R ₁ P ₂	7.9	7.9	7.9	7.9
R ₂ P ₂	8.1	8.2	8.0	8.1
R ₃ P ₂	8.3	8.3	8.3	8.3
R ₁ P ₃	8.5	8.8	8.7	8.7
R ₂ P ₃	9.0	9.0	9.0	9.0
R ₃ P ₃	9.4	9.3	9.2	9.3
R ₁ P ₄	8.6	8.5	8.7	8.6
R ₂ P ₄	8.7	8.8	8.9	8.8
R ₃ P ₄	9.0	9.0	9.0	9.0

Analisi Ragam pH

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: pH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F hitung	F 1%	F 5%
Corrected Model	11.136(a)	11	1.012	140.178		
Intercept	2541.840	1	2541.840	351947.115		
R	1.514	2	.757	104.808	5.61**	3.40*
P	9.505	3	3.168	438.705	4.72**	3.01*
R * P	.117	6	.020	2.705	3.67**	2.51*
Error	.173	24	.007			
Total	2553.150	36				
Corrected Total	.068	35				

a. R Squared = .985 (Adjusted R Squared = .978)

Ket :

* = Beda nyata

** = Sangat beda nyata

pH

Duncan^{a,b}

Perlakuan	N	Subset							
		1	2	3	4	5	6	7	8
1% 2 hari	3	7.500							
3% 2 hari	3	7.600							
1% 4 hari	3		7.900						
5% 2 hari	3			8.067					
3% 4 hari	3			8.100					
5% 4 hari	3				8.300				
1% 8 hari	3					8.600			
1% 6 hari	3					8.667	8.667		
3% 8 hari	3						8.800		
3% 6 hari	3							9.000	
5% 8 hari	3							9.000	
5% 6 hari	3								9.300
Sig.		.162	1.000	.635	1.000	.346	.067	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .007.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

Descriptive Statistics

Dependent Variable: pH

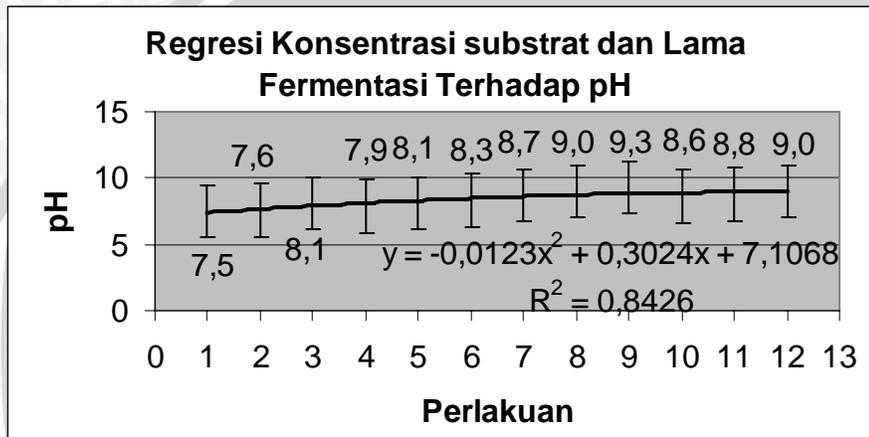
Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
1% 2 hari	7.500	.1000	3
3% 2 hari	7.600	.1000	3
5% 2 hari	8.067	.0577	3
1% 4 hari	7.900	.0000	3
3% 4 hari	8.100	.1000	3
5% 4 hari	8.300	.0000	3
1% 6 hari	8.667	.1528	3
3% 6 hari	9.000	.0000	3
5% 6 hari	9.300	.1000	3
1% 8 hari	8.600	.1000	3
3% 8 hari	8.800	.1000	3
5% 8 hari	9.000	.0000	3
Total	8.403	.5684	36

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: pH

Equation	Model Summary					Parameter Estimates			
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	.783	122.937	1	34	.000	7.469	.144		
Quadratic	.834	82.994	2	33	.000	7.106	.299	-.012	
Cubic	.815	62.746	3	32	.000	7.458	.027	.038	-.003

The independent variable is Perlakuan.



Analisi Ragam Total Kapang

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Total Kapang *Trichoderma reesei*

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F hitung	F 1%	F 5%
Corrected Model	86924.576(a)	11	7902.234	14.347		
Intercept	1469146.007	1	1469146.007	2667.398		
R	54361.722	2	27180.861	49.350	5.61**	3.40*
P	23405.076	3	7801.692	14.165	4.72**	3.01*
R * P	9157.778	6	1526.296	2.771	3.67**	2.51*
Error	13218.687	24	550.779			
Total	1569289.270	36				
Corrected Total	100143.263	35				

a. R Squared = .868 (Adjusted R Squared = .808)

Ket :

* = Beda nyata

** = Sangat beda nyata

Total Kapang *Trichoderma reesei*

Duncan^{a,b}

Perlakuan	N	Subset				
		1	2	3	4	5
1% 2 hari	3	146.833				
1% 8 hari	3	157.333	157.333			
3% 2 hari	3	161.333	161.333			
1% 4 hari	3	163.000	163.000			
3% 8 hari	3	170.667	170.667			
3% 4 hari	3	189.500	189.500	189.500		
1% 6 hari	3	189.667	189.667	189.667		
5% 2 hari	3		194.000	194.000		
3% 6 hari	3			224.000	224.000	
5% 4 hari	3				235.667	
5% 8 hari	3					289.500
5% 6 hari	3					302.667
Sig.		.061	.106	.111	.548	.499

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 550.779.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Total Kapang Trichoderma reseei

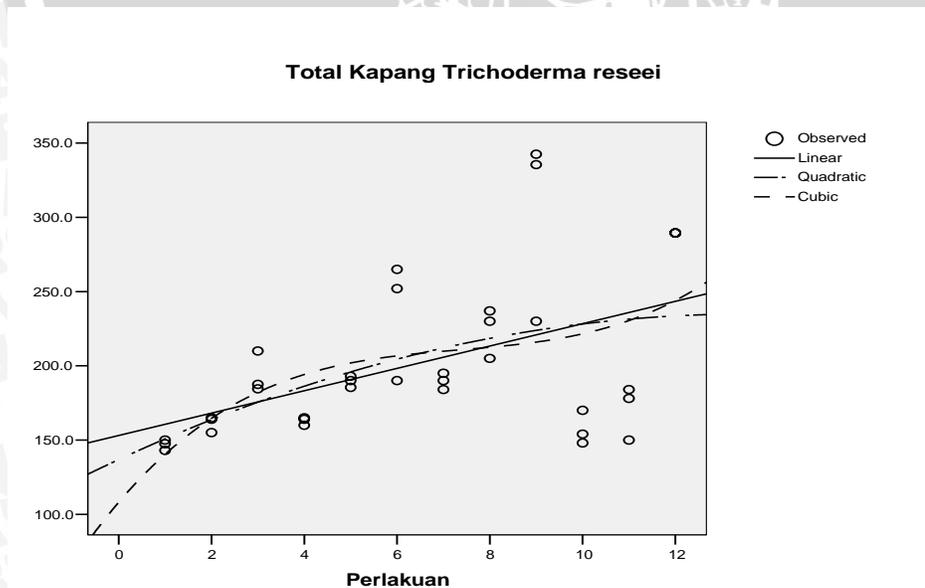
Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
1% 2 hari	146.833	3.5473	3
3% 2 hari	161.333	5.5076	3
5% 2 hari	194.000	13.9374	3
1% 4 hari	163.000	2.6458	3
3% 4 hari	189.500	3.7749	3
5% 4 hari	235.667	40.0791	3
1% 6 hari	189.667	5.5076	3
3% 6 hari	224.000	16.8226	3
5% 6 hari	302.667	63.0284	3
1% 8 hari	157.333	11.3725	3
3% 8 hari	170.667	18.1475	3
5% 8 hari	289.500	.1000	3
Total	202.014	53.4905	36

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Total Kapang Trichoderma reseei

Equation	Model Summary					Parameter Estimates			
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	.243	10.894	1	34	.002	153.093	7.526		
Quadratic	.254	5.622	2	33	.008	136.845	14.490	-.536	
Cubic	.269	3.935	3	32	.017	108.123	36.689	-4.639	.210

The independent variable is Perlakuan.



Lampiran 6. Aktivitas Selulotik

Rerata Aktivitas Selulotik

Perlakuan	Ulangan			Rerata aktivitas selulotik (%)
	1	2	3	
R1P1	11.978	12.662	12.89	12.51
R2P1	23.613	24.754	24.07	24.146
R3P1	27.834	27.72	27.15	27.568
R1P2	21.674	21.674	22.359	21.902
R2P2	25.211	25.895	24.982	25.363
R3P2	28.177	28.747	29.774	28.899
R1P3	24.64	24.298	24.412	24.45
R2P3	26.808	27.492	27.036	27.112
R3P3	29.66	29.431	34.109	31.067
R1P4	23.043	23.157	23.271	23.157
R2P4	26.694	26.922	26.237	26.617
R3P4	30.458	30.002	30.116	30.192

Analisi RagamAktivitas Selulotik

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Aktivitas Selulotik

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F hitung	F 1%	F 5%
Corrected Model	786.142(a)	11	71.467	95.050		
Intercept	22950.556	1	22950.556	30523.569		
R	483.761	2	241.880	321.694	5.61**	3.40*
P	198.113	3	66.038	87.828	4.72**	3.01*
R * P	104.268	6	17.378	23.112	3.67**	2.51*
Error	18.046	24	.752			
Total	23754.744	36				
Corrected Total	804.188	35				

a R Squared = .978 (Adjusted R Squared = .967)

Ket :

* = Beda nyata

** = Sangat beda nyata

Aktivitas Selulotik

Duncan^{a,b}

Perlakuan	N	Subset								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1% 2 hari	3	12.5104								
1% 4 hari	3		21.90281							
1% 8 hari	3		23.15765	23.15765						
3% 2 hari	3			24.14632	24.14632					
1% 6 hari	3			24.45053	24.45053					
3% 4 hari	3				25.36315	25.36315				
3% 8 hari	3					26.61799	26.61799			
3% 6 hari	3						27.11233			
5% 2 hari	3						27.56864	27.56864		
5% 4 hari	3							28.89954	28.89954	
5% 8 hari	3								30.19241	30.19241
5% 6 hari	3									31.06700
Sig.		1.000	.089	.096	.116	.089	.217	.072	.080	.229

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .752.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Aktivitas Selulotik

Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
1% 2 hari	12.51046	.474941	3
3% 2 hari	24.14632	.574176	3
5% 2 hari	27.56864	.366707	3
1% 4 hari	21.90281	.395175	3
3% 4 hari	25.36315	.474941	3
5% 4 hari	28.89954	.809331	3
1% 6 hari	24.45053	.174256	3
3% 6 hari	27.11233	.348511	3
5% 6 hari	31.06700	2.636967	3
1% 8 hari	23.15765	.114077	3
3% 8 hari	26.61799	.348511	3
5% 8 hari	30.19241	.237470	3
Total	25.24907	4.793411	36

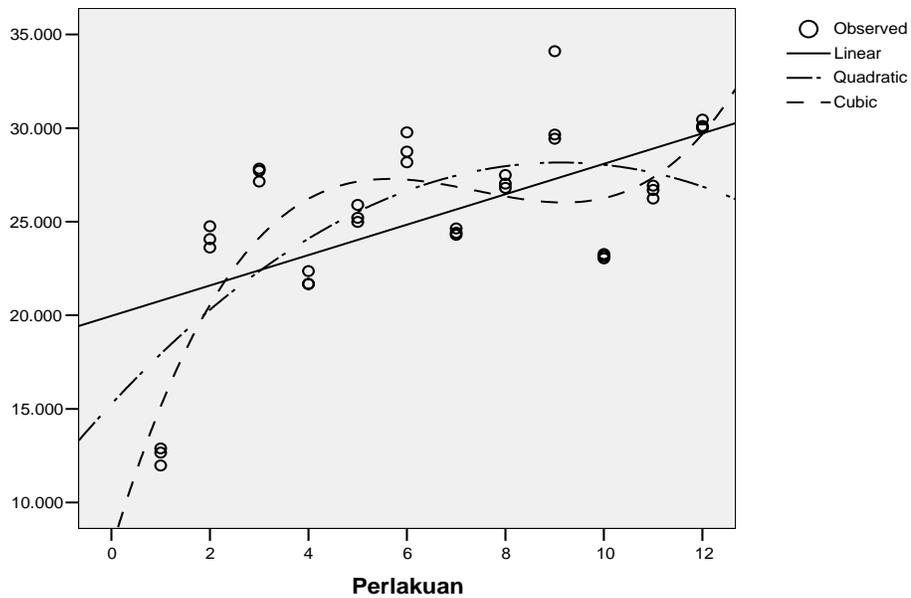
Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Aktivitas Selulotik

Equation	Model Summary					Parameter Estimates			
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	.353	18.511	1	34	.000	19.965	.813		
Quadratic	.472	14.767	2	33	.000	15.260	2.829	-.155	
Cubic	.611	16.755	3	32	.000	7.526	8.807	-1.260	.057

The independent variable is Perlakuan.

Aktivitas Selulotik



Lampiran 7. Selulosa Terhidrolisis

Rerata Selulosa Terhidrolisis

Perlakuan	Ulangan			Rerata selulosa Terhidrolisis (%)
	1	2	3	
R1P1	2.46	2.82	2.90	2.73
R2P1	3.06	3.05	3.04	3.05
R3P1	3.15	3.15	3.34	3.21
R1P2	2.69	2.94	2.91	2.84
R2P2	3.44	3.49	3.48	3.47
R3P2	3.75	3.76	3.72	3.74
R1P3	2.94	3.24	3.26	3.14
R2P3	3.78	3.65	3.63	3.69
R3P3	4.05	4.03	4.04	4.04
R1P4	2.97	2.93	2.91	2.94
R2P4	3.59	3.56	3.59	3.58
R3P4	3.99	4.00	4.04	4.01

Analisis Ragam Selulosa Terhidrolisis

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Selulosa Terhidrolisis

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F hitung	F 1%	F 5%
Corrected Model	6.614(a)	11	.601	56.530		
Intercept	409.051	1	409.051	38458.664		
R	4.312	2	2.156	202.703	5.61**	3.40*
P	1.994	3	.665	62.497	4.72**	3.01*
R * P	.308	6	.051	4.822	3.67**	2.51*
Error	.255	24	.011			
Total	415.920	36				
Corrected Total	6.869	35				

a. R Squared = .963 (Adjusted R Squared = .946)

Ket :

* = Beda nyata

** = Sangat beda nyata

Selulosa Terhidrolisis

Duncan^{a,b}

Perlakuan	N	Subset						
		1	2	3	4	5	6	7
1% 2 hari	3	2.7267						
1% 4 hari	3	2.8467	2.8467					
1% 8 hari	3		2.9367	2.9367				
3% 2 hari	3			3.0500	3.0500			
1% 6 hari	3				3.1467			
5% 2 hari	3				3.2133			
3% 4 hari	3					3.4700		
3% 8 hari	3					3.5800	3.5800	
3% 6 hari	3						3.6867	
5% 4 hari	3						3.7433	
5% 6 hari	3							4.0100
5% 8 hari	3							4.0400
Sig.		.167	.296	.191	.078	.204	.078	.725

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .011.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Selulosa Terhidrolisis

Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
1% 2 hari	2.7267	.23438	3
3% 2 hari	3.0500	.01000	3
5% 2 hari	3.2133	.10970	3
1% 4 hari	2.8467	.13650	3
3% 4 hari	3.4700	.02646	3
5% 4 hari	3.7433	.02082	3
1% 6 hari	3.1467	.17926	3
3% 6 hari	3.6867	.08145	3
5% 6 hari	4.0100	.02646	3
1% 8 hari	2.9367	.03055	3
3% 8 hari	3.5800	.01732	3
5% 8 hari	4.0400	.01000	3
Total	3.3708	.44301	36

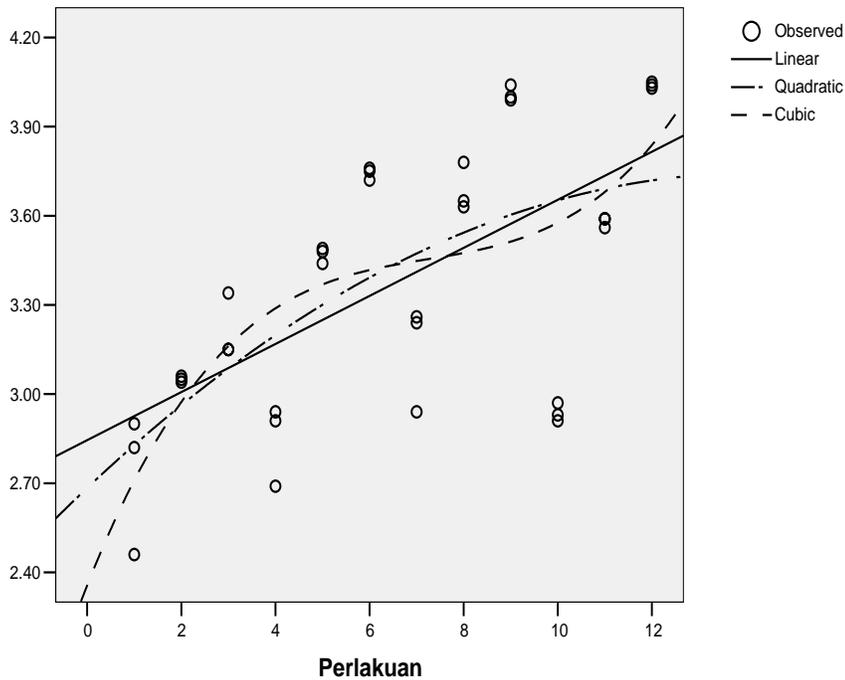
Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Selulosa Terhidrolisis

Equation	Model Summary					Parameter Estimates			
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	.409	23.548	1	34	.000	2.845	.081		
Quadratic	.426	12.222	2	33	.000	2.684	.150	-.005	
Cubic	.455	8.893	3	32	.000	2.356	.403	-.052	.002

The independent variable is Perlakuan.

Selulosa Terhidrolisis





Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Warna L* Glukosa Cair

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F hitung	F 1%	F 5%
Corrected Model	246.218(a)	11	22.383	33.262		
Intercept	73274.881	1	73274.881	108886.070		
P	167.615	3	55.872	83.025	5.61**	3.40*
R	35.828	2	17.914	26.620	4.72**	3.01*
P * R	42.776	6	7.129	10.594	3.67**	2.51*
Error	16.151	24	.673			
Total	73537.250	36				
Corrected Total	262.369	35				

a. R Squared = .938 (Adjusted R Squared = .910)

Warna L Glukosa Cair

Duncan^{a,b}

Perlakuan	N	Subset						
		1	2	3	4	5	6	7
5% 8 hari	3	40.9500						
3% 8 hari	3	41.6000	41.6000					
5% 6 hari	3		42.5667	42.5667				
1% 8 hari	3			43.2000	43.2000			
1% 6 hari	3				44.2967	44.2967		
5% 4 hari	3				44.4433	44.4433		
3% 4 hari	3					44.8500		
5% 2 hari	3						47.1000	
3% 2 hari	3						47.5500	
3% 6 hari	3						47.7500	47.7500
1% 4 hari	3						47.9300	47.9300
1% 2 hari	3							49.1500
Sig.		.342	.162	.354	.091	.444	.269	.058

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .673.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Warna L Glukosa Cair

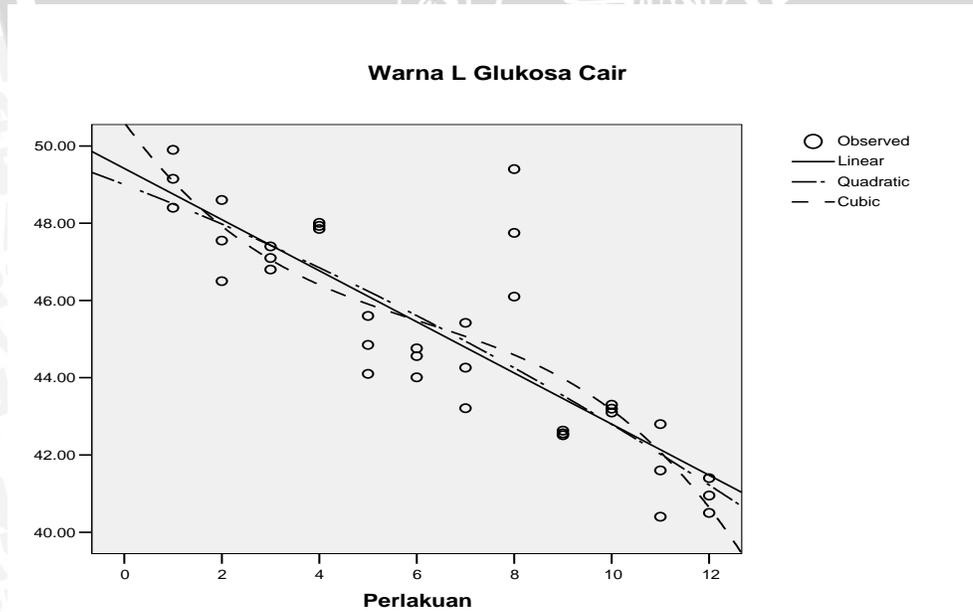
Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
1% 2 hari	49.1500	.75000	3
3% 2 hari	47.5500	1.05000	3
5% 2 hari	47.1000	.30000	3
1% 4 hari	47.9300	.08000	3
3% 4 hari	44.8500	.75000	3
5% 4 hari	44.4433	.38837	3
1% 6 hari	44.2967	1.10546	3
3% 6 hari	47.7500	1.65000	3
5% 6 hari	42.5667	.06028	3
1% 8 hari	43.2000	.10000	3
3% 8 hari	41.6000	1.20000	3
5% 8 hari	40.9500	.45000	3
Total	45.1156	2.73793	36

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Warna L Glukosa Cair

Equation	Model Summary					Parameter Estimates			
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	.716	85.900	1	34	.000	49.418	-.662		
Quadratic	.719	42.288	2	33	.000	49.000	-.483	-.014	
Cubic	.738	29.993	3	32	.000	50.606	-1.724	.216	-.012

The independent variable is Perlakuan.



Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Warna a* Glukosa Cair

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F hitung	F 1%	F 5%
Corrected Model	9.041(a)	11	.822	82.377		
Intercept	1296.840	1	1296.840	129972.842		
P	7.432	3	2.477	248.299	5.61**	3.40*
R	1.356	2	.678	67.968	4.72**	3.01*
P * R	.253	6	.042	4.218	3.67**	2.51*
Error	.239	24	.010			
Total	1306.121	36				
Corrected Total	9.281	35				

a R Squared = .974 (Adjusted R Squared = .962)

Warna a+ Glukosa Cair

Duncan^{a,b}

Perlakuan	N	Subset						
		1	2	3	4	5	6	7
1% 2 hari	3	5.1633						
3% 2 hari	3		5.3833					
5% 2 hari	3		5.4767					
1% 4 hari	3			5.7000				
3% 4 hari	3			5.8233	5.8233			
5% 4 hari	3				5.9467	5.9467		
1% 6 hari	3					6.0100		
1% 8 hari	3					6.0700		
3% 6 hari	3						6.5000	
3% 8 hari	3						6.6000	6.6000
5% 6 hari	3						6.6067	6.6067
5% 8 hari	3							6.7433
Sig.		1.000	.264	.144	.144	.165	.228	.109

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .010.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Warna a+ Glukosa Cair

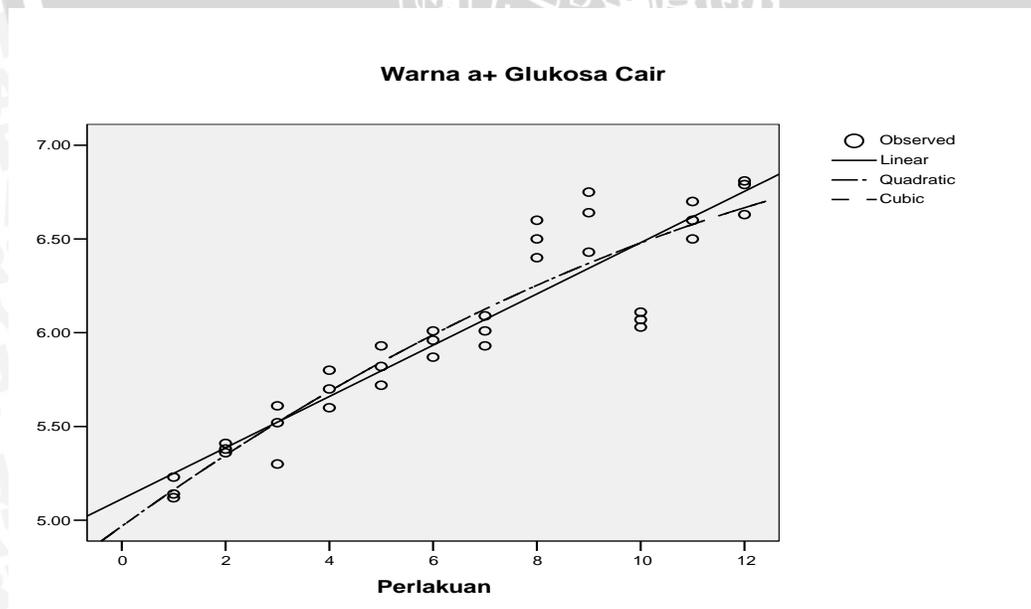
Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
1% 2 hari	5.1633	.05859	3
3% 2 hari	5.3833	.02517	3
5% 2 hari	5.4767	.15948	3
1% 4 hari	5.7000	.10000	3
3% 4 hari	5.8233	.10504	3
5% 4 hari	5.9467	.07095	3
1% 6 hari	6.0100	.08000	3
3% 6 hari	6.5000	.10000	3
5% 6 hari	6.6067	.16258	3
1% 8 hari	6.0700	.04000	3
3% 8 hari	6.6000	.10000	3
5% 8 hari	6.7433	.09866	3
Total	6.0019	.51494	36

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Warna a+ Glukosa Cair

Equation	Model Summary					Parameter Estimates			
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	.864	216.746	1	34	.000	5.113	.137		
Quadratic	.874	114.658	2	33	.000	4.969	.199	-.005	
Cubic	.874	74.123	3	32	.000	4.967	.200	-.005	8.20E-006

The independent variable is Perlakuan.



Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Warna b* Glukosa Cair

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F hitung	F 1%	F 5%
Corrected Model	14.648(a)	11	1.332	48.574		
Intercept	1955.703	1	1955.703	71339.868		
R	2.499	2	1.250	45.584	5.61**	3.40*
P	11.432	3	3.811	139.010	4.72**	3.01*
R * P	.716	6	.119	4.353	3.67**	2.51*
Error	.658	24	.027			
Total	1971.009	36				
Corrected Total	15.306	35				

a R Squared = .957 (Adjusted R Squared = .937)

Ket :

- * = Beda nyata
- ** = Sangat beda nyata

Warna b+ Glukosa Cair

Duncan ^{a,b}

Perlakuan	N	Subset							
		1	2	3	4	5	6	7	8
1% 2 hari	3	6.5400							
3% 2 hari	3	6.6500	6.6500						
5% 2 hari	3	6.7000	6.7000						
1% 4 hari	3		6.8500						
3% 4 hari	3			7.1400					
1% 6 hari	3			7.2000	7.2000				
3% 6 hari	3				7.4500	7.4500			
5% 4 hari	3					7.5500	7.5500		
1% 8 hari	3					7.6500	7.6500		
5% 6 hari	3						7.7933		
3% 8 hari	3							8.1500	
5% 8 hari	3								8.7733
Sig.		.275	.174	.661	.077	.174	.101	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = .027.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b Alpha = .05.

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Warna b+ Glukosa Cair

Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
1% 2 hari	6.5400	.04583	3
3% 2 hari	6.6500	.15000	3
5% 2 hari	6.7000	.20000	3
1% 4 hari	6.8500	.45000	3
3% 4 hari	7.1400	.02646	3
5% 4 hari	7.5500	.09000	3
1% 6 hari	7.2000	.07000	3
3% 6 hari	7.4500	.15000	3
5% 6 hari	7.7933	.01528	3
1% 8 hari	7.6500	.15000	3
3% 8 hari	8.1500	.05000	3
5% 8 hari	8.7733	.02082	3
Total	7.3706	.66129	36

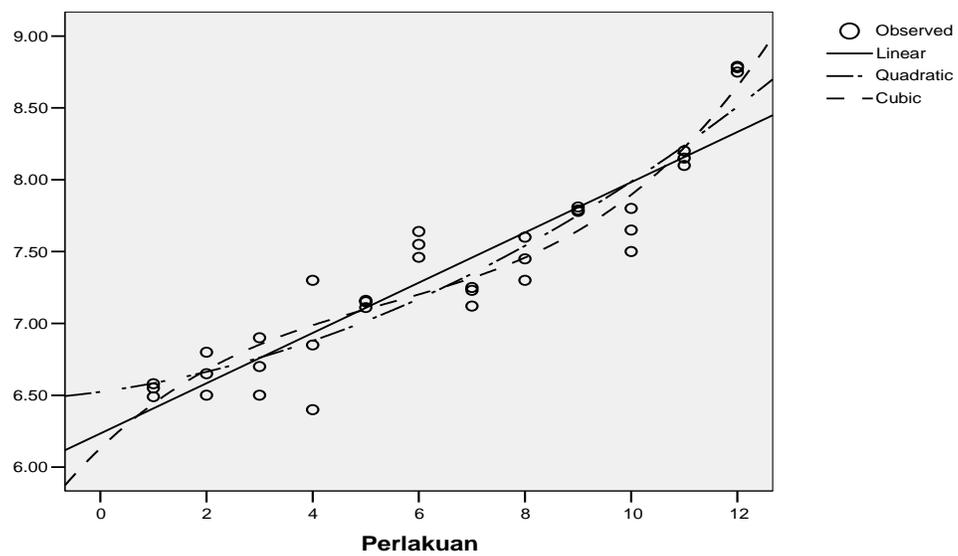
Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Warna b+ Glukosa Cair

Equation	Model Summary					Parameter Estimates			
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	.857	203.979	1	34	.000	6.234	.175		
Quadratic	.881	122.213	2	33	.000	6.524	.051	.010	
Cubic	.900	95.850	3	32	.000	6.131	.354	-.047	.003

The independent variable is Perlakuan.

Warna b+ Glukosa Cair





Lampiran 1. Persentase Glukosa

Rerata Glukosa

Perlakuan	Ulangan			Rerata Glukosa (%)
	1	2	3	
R ₁ P ₁	2.156	2.279	2.320	2.252
R ₂ P ₁	4.251	4.456	4.333	4.346
R ₃ P ₁	5.010	4.990	4.887	4.962
R ₁ P ₂	3.901	3.901	4.025	3.943
R ₂ P ₂	4.538	4.661	4.497	4.565
R ₃ P ₂	5.072	5.175	5.359	5.202
R ₁ P ₃	4.435	4.374	4.394	4.401
R ₂ P ₃	4.825	4.949	4.867	4.880
R ₃ P ₃	5.339	5.298	6.140	5.592
R ₁ P ₄	4.148	4.168	4.189	4.168
R ₂ P ₄	4.805	4.846	4.723	4.791
R ₃ P ₄	5.483	5.400	5.421	5.435

Analisis Ragam Glukosa

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Persentase Glukosa

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F hitung	F 1%	F 5%
Corrected Model	25.477(a)	11	2.316	95.065		
Intercept	743.607	1	743.607	30521.651		
R	15.679	2	7.839	321.765	5.61**	3.40*
P	6.419	3	2.140	87.828	4.72**	3.01*
R * P	3.379	6	.563	23.116	3.67**	2.51*
Error	.585	24	.24			
Total	769.669	36				
Corrected Total	26.062	35				

Ket :

* = Beda nyata

** = Sangat beda nyata

$$F \text{ hitung} = \frac{KT_{perlakuan}}{KT_{acak}}$$

$$= \frac{0.563}{0.024}$$

$$= 23.116$$

$$BNT \ 1\% = \sqrt{\frac{2KT_{acak}}{ulangan}} \times t \text{ tabel } 1\%$$

$$= \sqrt{\frac{2 * 0.24}{3}} \times 2.797$$

$$= 1.1188$$

$$BNT \ 5\% = \sqrt{\frac{2KT_{acak}}{ulangan}} \times t \text{ tabel } 5\%$$

$$= \sqrt{\frac{2 * 0.24}{3}} \times 2.064$$

$$= 0.8256$$



Descriptive Statistics

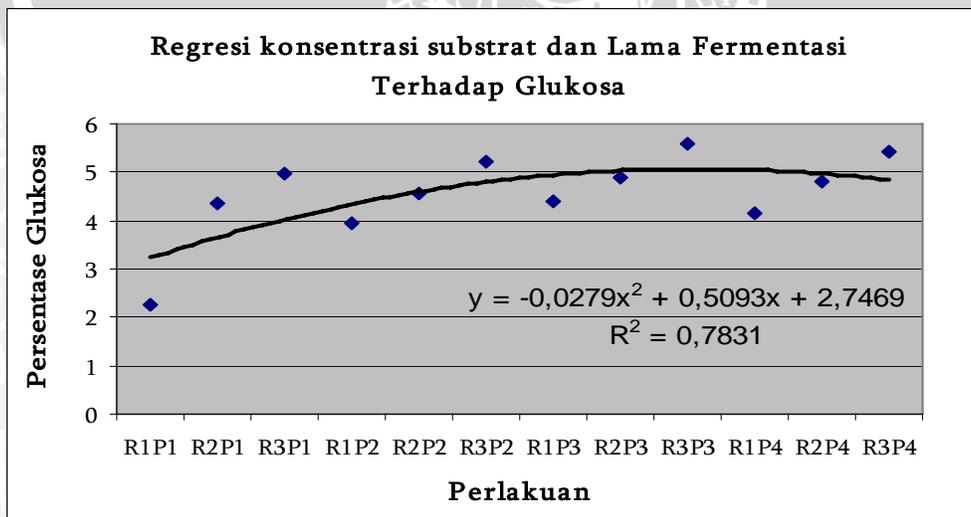
Dependent Variable: Persentase Glukosa

Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
1% 2 hari	2.25167	0.085348	3
3% 2 hari	4.34667	0.103181	3
5% 2 hari	4.96233	0.066003	3
1% 4 hari	3.94233	0.071591	3
3% 4 hari	4.56533	0.085348	3
5% 4 hari	5.20200	0.145393	3
1% 6 hari	4.40100	0.031097	3
3% 6 hari	4.88033	0.063066	3
5% 6 hari	5.59233	0.474736	3
1% 8 hari	4.16833	0.020502	3
3% 8 hari	4.79133	0.062629	3
5% 8 hari	5.43467	0.043155	3
Total	4.54486	0.862913	36

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Persentase Glukosa

Equation	Model Summary		Parameter Estimates			
	R Square	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	.455	.000	3.642	.049		
Quadratic	.783	.000	2.746	.509	-.002	
Cubic	.693	.000	2.007	.443	-.022	.000



Lampiran 2. Total Padatan Terlarut

Rerata Total Padatan Terlarut

Perlakuan	Ulangan			Rerata Total Padatan Terlarut (%Brix)
	1	2	3	
R ₁ P ₁	1.3	1.1	1.2	1.2
R ₂ P ₁	1.3	1.3	1.4	1.3
R ₃ P ₁	1.5	1.6	1.5	1.5
R ₁ P ₂	1.5	1.4	1.5	1.5
R ₂ P ₂	1.7	1.7	1.8	1.7
R ₃ P ₂	2.0	1.9	1.9	1.9
R ₁ P ₃	1.8	1.7	2.1	1.9
R ₂ P ₃	2.0	1.8	2.1	2.0
R ₃ P ₃	2.2	1.9	2.1	2.1
R ₁ P ₄	2.0	2.2	2.0	2.1
R ₂ P ₄	2.4	2.3	2.3	2.3
R ₃ P ₄	2.4	2.4	2.4	2.4

Analisi Ragam Padatan Terlarut

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Total Padatan Terlarut

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F hitung	F 1%	F 5%
Corrected Model	6.557(a)	11	.596	45.656		
Intercept	127.690	1	127.690	9780.511		
R	1.062	2	.531	40.660	5.61**	3.40*
P	5.201	3	1.734	132.794	4.72**	3.01*
R * P	.294	6	.049	3.752	3.67**	2.51*
Error	.313	24	.013			
Total	134.560	36				
Corrected Total	6.870	35				

Ket :

* = Berpengaruh nyata

** = Berpengaruh sangat nyata

UJI BNT Total padatan terlarut

perlakuan	Rerata	1,2	1,3	1,5	1,5	1,7	1,8	1,9	2,0	2,1	2,1	2,3	2,4	Notasi
R ₁ P ₁	1,2	0												a
R ₂ P ₁	1,3	0,1*	0											b
R ₃ P ₁	1,5	0,3**	0,2*	0										b
R ₁ P ₂	1,5	0,3**	0,1*	0,0	0									b
R ₂ P ₂	1,7	0,5**	0,4**	0,2*	0,2*	0								b
R ₁ P ₄	1,8	0,6**	0,5**	0,3**	0,3**	0,1*	0							b
R ₃ P ₂	1,9	0,7**	0,6**	0,4**	0,5**	0,2*	0,1*	0						b
R ₂ P ₄	2,0	0,8**	0,6**	0,4**	0,5**	0,2*	0,2*	0,0	0					b
R ₃ P ₄	2,1	0,9**	0,7**	2,1**	0,6**	0,3**	0,3**	0,1*	0,1*	0				b
R ₁ P ₃	2,1	0,9**	0,7**	0,5**	0,6**	0,3**	0,3**	0,1*	0,1*	0,0*	0			b
R ₂ P ₃	2,3	1,1**	1,0**	0,8**	0,9**	0,6**	0,5**	0,4**	0,4**	0,3**	0,3**	0		c
R ₃ P ₃	2,4	1,2**	1,1**	0,9**	0,9**	0,7**	0,6**	0,5**	0,4**	0,3**	0,3**	0,1**	0	c

Ket: BNT 5%= 0.185576 dan BNT 1%=0.25173

* Berbeda nyata

**Berbeda sangat nyata

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Total Padatan Terlarut

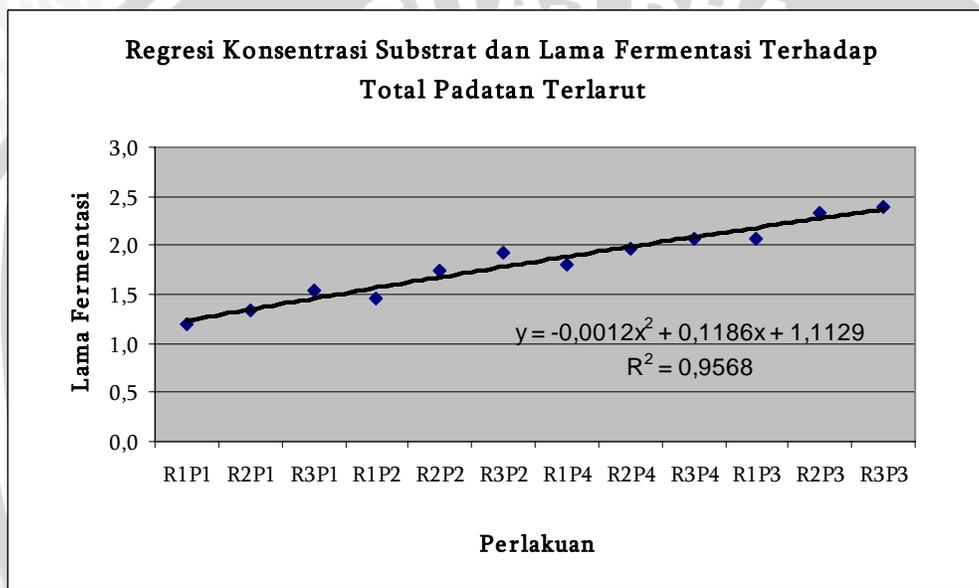
Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
1% 2 hari	1.200	0.1000	3
3% 2 hari	1.333	0.0577	3
5% 2 hari	1.533	0.0577	3
1% 4 hari	1.467	0.0577	3
3% 4 hari	1.733	0.0577	3
5% 4 hari	1.933	0.0577	3
1% 6 hari	2.067	0.1155	3
3% 6 hari	2.333	0.0577	3
5% 6 hari	2.633	0.1528	3
1% 8 hari	1.867	0.2082	3
3% 8 hari	2.367	0.1528	3
5% 8 hari	2.133	0.1528	3
Total	1.883	0.4430	36

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Total Padatan Terlarut

Equation	Model Summary		Parameter Estimates			
	R Square	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	.872	.000	1.209	.104		
Quadratic	.956	.000	1.112	.118	-.001	
Cubic	.941	.000	1.210	-.023	.040	-.003

The independent variable is Perlakuan.



Lampiran 3. Viskositas

Rerata viskositas

Perlakuan	Ulangan			Rerata Viskositas (cp)
	1	2	3	
R ₁ P ₁	0.924	0.926	0.922	0.924
R ₂ P ₁	0.931	0.932	0.930	0.931
R ₃ P ₁	0.945	0.946	0.944	0.945
R ₁ P ₂	0.927	0.928	0.935	0.927
R ₂ P ₂	0.944	0.946	0.945	0.945
R ₃ P ₂	0.997	0.999	1.000	0.999
R ₁ P ₃	0.937	0.935	0.936	0.936
R ₂ P ₃	0.971	0.972	0.970	0.971
R ₃ P ₃	1.036	1.034	1.035	1.035
R ₁ P ₄	0.944	0.942	0.940	0.942
R ₂ P ₄	0.981	0.982	0.980	0.981
R ₃ P ₄	1.066	1.064	1.062	1.064

Analisi Ragam Viskositas Relatif

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Viskositas Relatif

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F hitung	F 1%	F 5%
Corrected Model	.068(a)	11	.006	3303.776		
Intercept	33.638	1	33.638	18074185.090		
R	.039	2	.019	10361.388	5.61**	3.40*
P	.020	3	.007	3616.731	4.72**	3.01*
R * P	.009	6	.001	794.761	3.67**	2.51*
Error	4.467E-05	24	1.861E-06			
Total	33.706	36				
Corrected Total	.068	35				

Ket :

* = Berpengaruh nyata

** = Berpengaruh sangat nyata



Descriptive Statistics

Dependent Variable: Viskositas Relatif

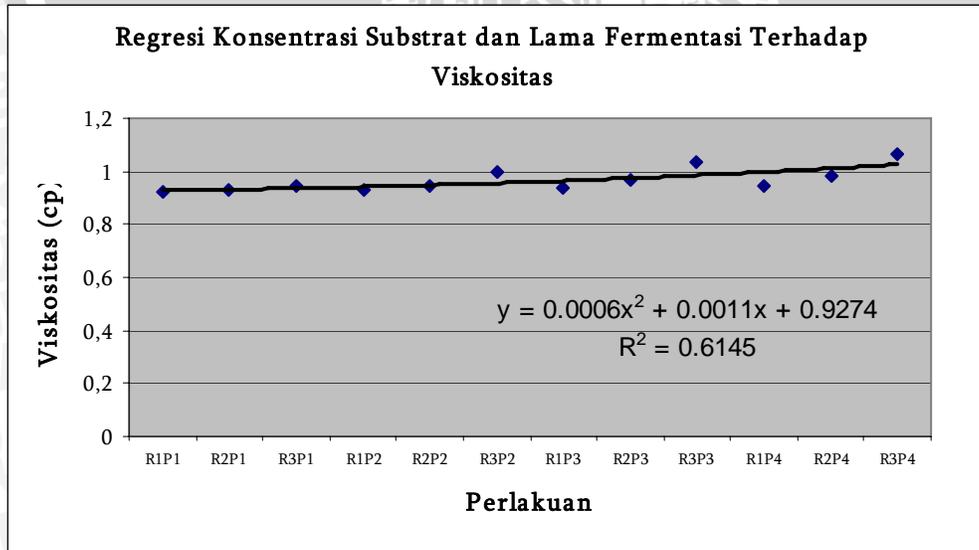
Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
1% 2 hari	.92400	.002000	3
3% 2 hari	.93100	.001000	3
5% 2 hari	.94500	.001000	3
1% 4 hari	.92700	.001000	3
3% 4 hari	.94500	.001000	3
5% 4 hari	.99867	.001528	3
1% 6 hari	.93600	.001000	3
3% 6 hari	.97100	.001000	3
5% 6 hari	1.03500	.001000	3
1% 8 hari	.94200	.002000	3
3% 8 hari	.98100	.001000	3
5% 8 hari	1.06400	.002000	3
Total	.96664	.043974	36

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Viskositas Relatif

Equation	Model Summary		Parameter Estimates			
	R Square	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	.494	.000	.909	.009		
Quadratic	.614	.000	.927	.001	.0006	
Cubic	.553	.000	.896	.025	-.0004	.000

The independent variable is Perlakuan.



Lampiran 4. pH

Rerata pH

Perlakuan	Ulangan			Rerata pH
	1	2	3	
R ₁ P ₁	7.4	7.6	7.5	7.5
R ₂ P ₁	7.5	7.6	7.7	7.6
R ₃ P ₁	8.0	8.1	8.1	8.1
R ₁ P ₂	7.9	7.9	7.9	7.9
R ₂ P ₂	8.1	8.2	8.0	8.1
R ₃ P ₂	8.3	8.3	8.3	8.3
R ₁ P ₃	8.5	8.8	8.7	8.7
R ₂ P ₃	9.0	9.0	9.0	9.0
R ₃ P ₃	9.4	9.3	9.2	9.3
R ₁ P ₄	8.6	8.5	8.7	8.6
R ₂ P ₄	8.7	8.8	8.9	8.8
R ₃ P ₄	9.0	9.0	9.0	9.0

Analisi Ragam pH

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: pH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F hitung	F 1%	F 5%
Corrected Model	11.136(a)	11	1.012	140.178		
Intercept	2541.840	1	2541.840	351947.115		
R	1.514	2	.757	104.808	5.61**	3.40*
P	9.505	3	3.168	438.705	4.72**	3.01*
R * P	.117	6	.020	2.705	3.67**	2.51*
Error	.173	24	.007			
Total	2553.150	36				
Corrected Total	.068	35				

Ket :

* = Berpengaruh nyata

** = Berpengaruh sangat nyata

UJI BNT pH

Perlakuan	Rerata	7,5	7,6	7,9	8,1	8,1	8,3	8,6	8,7	8,8	9,0	9,0	9,3	Notasi
R ₁ P ₁	7,5	0												a
R ₂ P ₁	7,6	0,1*	0											a
R ₁ P ₂	7,9	0,4**	0,3**	0										b
R ₃ P ₁	8,1	0,6**	0,5**	0,2**	0									c
R ₂ P ₂	8,1	0,6**	0,5**	0,2**	0,0	0								c
R ₃ P ₂	8,3	0,8**	0,7**	0,4**	0,2**	0,2*	0							b
R ₁ P ₄	8,6	1,1**	1,0**	0,7**	0,5**	0,5**	0,3**	0						b
R ₁ P ₃	8,7	1,2**	1,1**	0,8**	0,6**	0,6**	0,4**	0,1*	0					b
R ₂ P ₄	8,8	1,3**	1,2**	0,9**	0,7**	0,7**	0,5**	0,2*	0,1*	0				c
R ₂ P ₃	9,0	1,5**	1,4**	1,1**	0,9**	0,9**	0,7**	0,4**	0,3**	0,2*	0			b
R ₃ P ₄	9,0	1,5**	1,4**	1,1**	0,9**	0,9**	0,7**	0,4**	0,3**	0,2*	0,0	0		c
R ₃ P ₃	9,3	1,8**	1,7**	1,4**	1,2**	1,2**	1,0**	0,7**	0,6**	0,5**	0,3**	0,3**	0	c

Ket: BNT 5%= 0.1409 dan BNT 1%=0.19019

* Berbeda nyata

**Berbeda sangat nyata

Descriptive Statistics

Dependent Variable: pH

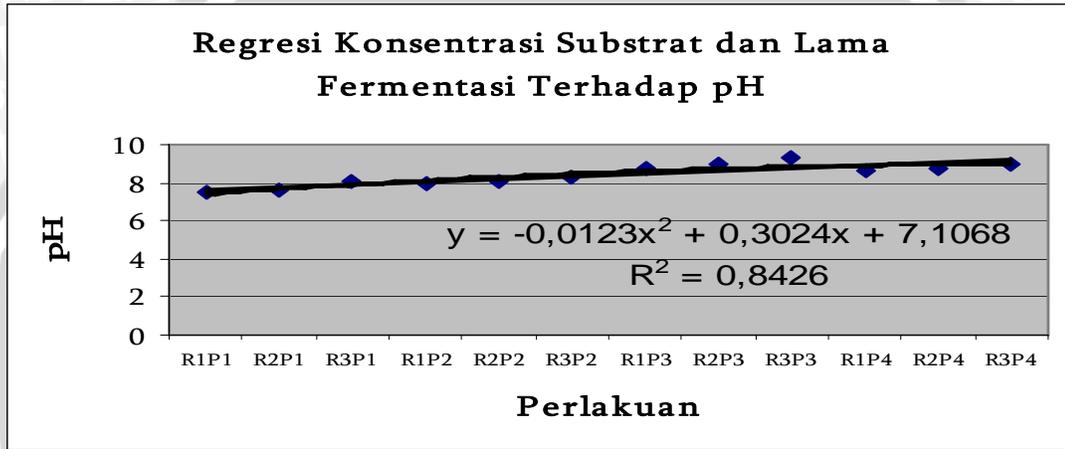
Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
1% 2 hari	7.500	.1000	3
3% 2 hari	7.600	.1000	3
5% 2 hari	8.067	.0577	3
1% 4 hari	7.900	.0000	3
3% 4 hari	8.100	.1000	3
5% 4 hari	8.300	.0000	3
1% 6 hari	8.667	.1528	3
3% 6 hari	9.000	.0000	3
5% 6 hari	9.300	.1000	3
1% 8 hari	8.600	.1000	3
3% 8 hari	8.800	.1000	3
5% 8 hari	9.000	.0000	3
Total	8.403	.5684	36

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: pH

Equation	Model Summary		Parameter Estimates			
	R Square	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	.783	.000	7.469	.144		
Quadratic	.842	.000	7.106	.302	-.012	
Cubic	.834	.000	7.458	.027	.038	-.003

The independent variable is Perlakuan.





Analisi Ragam Total Kapang

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Total Kapang *Trichoderma reesei*

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F hitung	F 1%	F 5%
Corrected Model	86924.576(a)	11	7902.234	14.347		
Intercept	1469146.007	1	1469146.007	2667.398		
R	54361.722	2	27180.861	49.350	5.61**	3.40*
P	23405.076	3	7801.692	14.165	4.72**	3.01*
R * P	9157.778	6	1526.296	2.771	3.67**	2.51*
Error	13218.687	24	550.779			
Total	1569289.270	36				
Corrected Total	100143.263	35				

Ket :

* = Berpengaruh nyata

** = Berpengaruh sangat nyata

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Total Kapang *Trichoderma reesei*

Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
1% 2 hari	146.833	3.5473	3
3% 2 hari	161.333	5.5076	3
5% 2 hari	194.000	13.9374	3
1% 4 hari	163.000	2.6458	3
3% 4 hari	189.500	3.7749	3
5% 4 hari	235.667	40.0791	3
1% 6 hari	189.667	5.5076	3
3% 6 hari	224.000	16.8226	3
5% 6 hari	302.667	63.0284	3
1% 8 hari	157.333	11.3725	3
3% 8 hari	170.667	18.1475	3
5% 8 hari	289.500	.1000	3
Total	202.014	53.4905	36

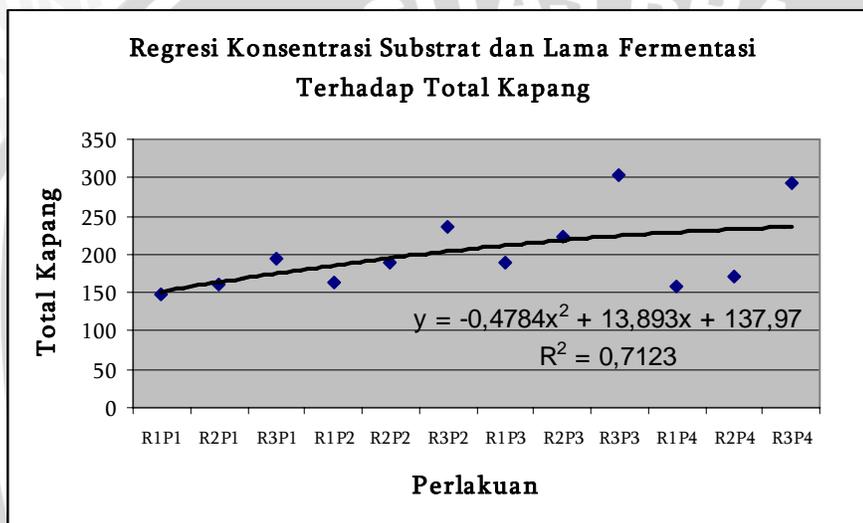


Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Total Kapang Trichoderma reseei

Equation	Model Summary		Parameter Estimates			
	R Square	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	.561	.002	153.093	7.526		
Quadratic	.712	.008	137.975	13.893	-.4784	
Cubic	.692	.017	108.123	36.689	-4.639	.210

The independent variable is Perlakuan.



Lampiran 6. Aktivitas Selulotik

Rerata Aktivitas Selulotik

Perlakuan	Ulangan			Rerata aktivitas selulotik (%)
	1	2	3	
R1P1	11.978	12.662	12.89	12.51
R2P1	23.613	24.754	24.07	24.146
R3P1	27.834	27.72	27.15	27.568
R1P2	21.674	21.674	22.359	21.902
R2P2	25.211	25.895	24.982	25.363
R3P2	28.177	28.747	29.774	28.899
R1P3	24.64	24.298	24.412	24.45
R2P3	26.808	27.492	27.036	27.112
R3P3	29.66	29.431	34.109	31.067
R1P4	23.043	23.157	23.271	23.157
R2P4	26.694	26.922	26.237	26.617
R3P4	30.458	30.002	30.116	30.192

Analisi RagamAktivitas Selulotik

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Aktivitas Selulotik

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F hitung	F 1%	F 5%
Corrected Model	786.142(a)	11	71.467	95.050		
Intercept	22950.556	1	22950.556	30523.569		
R	483.761	2	241.880	321.694	5.61**	3.40*
P	198.113	3	66.038	87.828	4.72**	3.01*
R * P	104.268	6	17.378	23.112	3.67**	2.51*
Error	18.046	24	.752			
Total	23754.744	36				
Corrected Total	804.188	35				

Ket :

* = Berpengaruh nyata

** = Berpengaruh sangat nyata



Descriptive Statistics

Dependent Variable: Aktivitas Selulotik

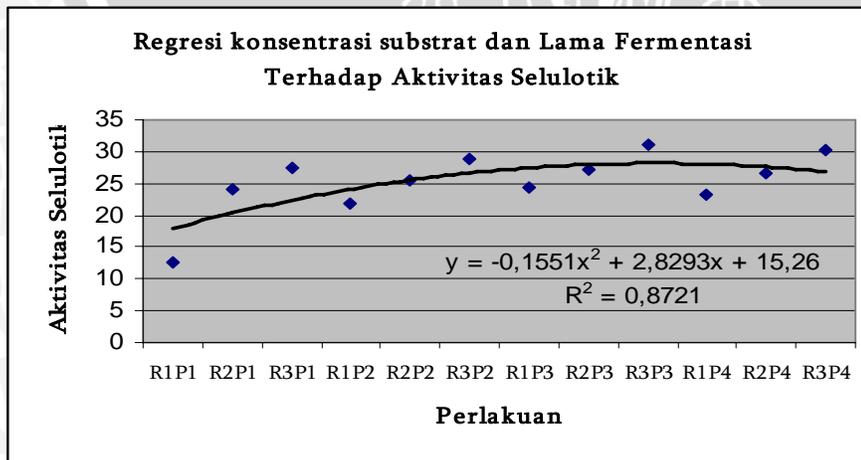
Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
1% 2 hari	12.51046	.474941	3
3% 2 hari	24.14632	.574176	3
5% 2 hari	27.56864	.366707	3
1% 4 hari	21.90281	.395175	3
3% 4 hari	25.36315	.474941	3
5% 4 hari	28.89954	.809331	3
1% 6 hari	24.45053	.174256	3
3% 6 hari	27.11233	.348511	3
5% 6 hari	31.06700	2.636967	3
1% 8 hari	23.15765	.114077	3
3% 8 hari	26.61799	.348511	3
5% 8 hari	30.19241	.237470	3
Total	25.24907	4.793411	36

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Aktivitas Selulotik

Equation	Model Summary		Parameter Estimates			
	R Square	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	.553	.000	19.965	.813		
Quadratic	.872	.000	15.260	2.829	-.155	
Cubic	.611	.000	7.526	8.807	-1.260	.057

The independent variable is Perlakuan.



Lampiran 7. Selulosa Terhidrolisis

Rerata Selulosa Terhidrolisis

Perlakuan	Ulangan			Rerata selulosa Terhidrolisis (%)
	1	2	3	
R1P1	2.46	2.82	2.90	2.73
R2P1	3.06	3.05	3.04	3.05
R3P1	3.15	3.15	3.34	3.21
R1P2	2.69	2.94	2.91	2.84
R2P2	3.44	3.49	3.48	3.47
R3P2	3.75	3.76	3.72	3.74
R1P3	2.94	3.24	3.26	3.14
R2P3	3.78	3.65	3.63	3.69
R3P3	4.05	4.03	4.04	4.04
R1P4	2.97	2.93	2.91	2.94
R2P4	3.59	3.56	3.59	3.58
R3P4	3.99	4.00	4.04	4.01

Analisi Ragam Selulosa Terhidrolisis

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Selulosa Terhidrolisis

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F hitung	F 1%	F 5%
Corrected Model	6.614(a)	11	.601	56.530		
Intercept	409.051	1	409.051	38458.664		
R	4.312	2	2.156	202.703	5.61**	3.40*
P	1.994	3	.665	62.497	4.72**	3.01*
R * P	.308	6	.051	4.822	3.67**	2.51*
Error	.255	24	.011			
Total	415.920	36				
Corrected Total	6.869	35				

Ket :

* = Berpengaruh nyata

** = Berpengaruh sangat nyata



Descriptive Statistics

Dependent Variable: Selulosa Terhidrolisis

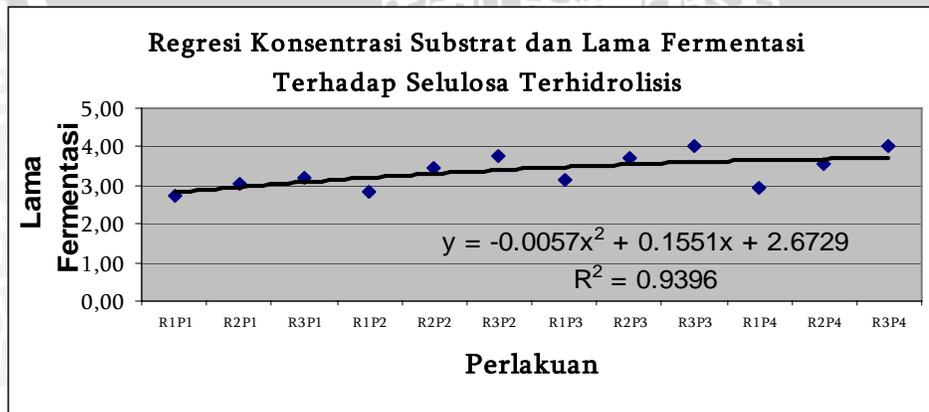
Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
1% 2 hari	2.7267	.23438	3
3% 2 hari	3.0500	.01000	3
5% 2 hari	3.2133	.10970	3
1% 4 hari	2.8467	.13650	3
3% 4 hari	3.4700	.02646	3
5% 4 hari	3.7433	.02082	3
1% 6 hari	3.1467	.17926	3
3% 6 hari	3.6867	.08145	3
5% 6 hari	4.0100	.02646	3
1% 8 hari	2.9367	.03055	3
3% 8 hari	3.5800	.01732	3
5% 8 hari	4.0400	.01000	3
Total	3.3708	.44301	36

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Selulosa Terhidrolisis

Equation	Model Summary		Parameter Estimates			
	R Square	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	.897	.000	2.845	.081		
Quadratic	.939	.000	2.672	.155	-.005	
Cubic	.913	.000	2.356	.403	-.052	.002

The independent variable is Perlakuan.





Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Warna L* Glukosa Cair

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F hitung	F 1%	F 5%
Corrected Model	246.218(a)	11	22.383	33.262		
Intercept	73274.881	1	73274.881	108886.070		
P	167.615	3	55.872	83.025	5.61**	3.40*
R	35.828	2	17.914	26.620	4.72**	3.01*
P * R	42.776	6	7.129	10.594	3.67**	2.51*
Error	16.151	24	.673			
Total	73537.250	36				
Corrected Total	262.369	35				

Ket :

* = Berpengaruh nyata

** = Berpengaruh sangat nyata

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Warna L Glukosa Cair

Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
1% 2 hari	49.1500	.75000	3
3% 2 hari	47.5500	1.05000	3
5% 2 hari	47.1000	.30000	3
1% 4 hari	47.9300	.08000	3
3% 4 hari	44.8500	.75000	3
5% 4 hari	44.4433	.38837	3
1% 6 hari	44.2967	1.10546	3
3% 6 hari	47.7500	1.65000	3
5% 6 hari	42.5667	.06028	3
1% 8 hari	43.2000	.10000	3
3% 8 hari	41.6000	1.20000	3
5% 8 hari	40.9500	.45000	3
Total	45.1156	2.73793	36

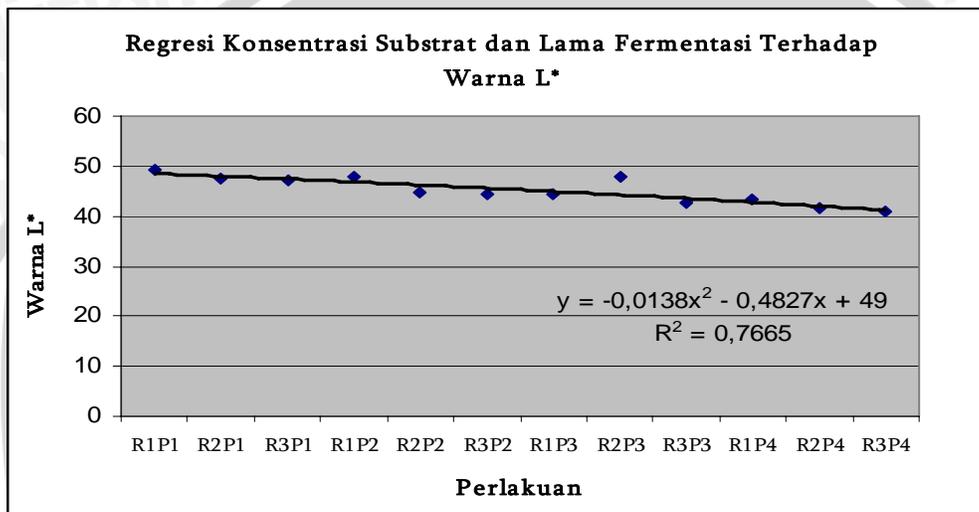


Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Warna L Glukosa Cair

Equation	Model Summary		Parameter Estimates			
	R Square	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	.716	.000	49.418	-.662		
Quadratic	.766	.000	49.000	-.483	-.014	
Cubic	.738	.000	50.606	-1.724	.216	-.012

The independent variable is Perlakuan.



Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Warna a* Glukosa Cair

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F hitung	F 1%	F 5%
Corrected Model	9.041(a)	11	.822	82.377		
Intercept	1296.840	1	1296.840	129972.842		
P	7.432	3	2.477	248.299	5.61**	3.40*
R	1.356	2	.678	67.968	4.72**	3.01*
P * R	.253	6	.042	4.218	3.67**	2.51*
Error	.239	24	.010			
Total	1306.121	36				
Corrected Total	9.281	35				

Ket :

- * = Berpengaruh nyata
- ** = Berpengaruh sangat nyata

UJI BNT Warna a*

	5,50	5,60	5,70	5,85	5,91	6,03	6,08	6,30	6,50	6,60	6,61	6,74	Notasi	
R ₁ P ₁	5,50	0											a	
R ₂ P ₁	5,60	0,10	0										a	
R ₁ P ₂	5,70	0,20*	0,10	0									b	
R ₃ P ₁	5,85	0,35**	0,25**	0,15	0								b	
R ₁ P ₃	5,91	0,41**	0,31**	0,21*	0,06	0							b	
R ₁ P ₄	6,03	0,53**	0,43**	0,33**	0,18*	0,12	0						b	
R ₂ P ₂	6,08	0,58**	0,48**	0,38**	0,23**	0,17*	0,04	0					b	
R ₃ P ₂	6,30	0,80**	0,70**	0,60**	0,45**	0,39**	0,27**	0,22*	0				b	
R ₂ P ₃	6,50	1,00**	0,90**	0,80**	0,65**	0,59**	0,47**	0,42**	0,20*	0			b	
R ₂ P ₄	6,60	1,10**	1,00**	0,90**	0,75**	0,69**	0,57**	0,52**	0,30**	0,10	0		b	
R ₃ P ₃	6,61	1,11**	1,01**	0,91**	0,76**	0,70**	0,57**	0,53**	0,31**	0,11	0,01	0	b	
R ₃ P ₄	6,74	1,24**	1,14**	1,04**	0,89**	0,83**	0,71**	0,66**	0,44**	0,24**	0,14	0,13	0	b

Ket: BNT 5%= 0.1168 dan BNT 1%=0.228

- * Berbeda nyata
- **Berbeda sangat nyata

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Warna a+ Glukosa Cair

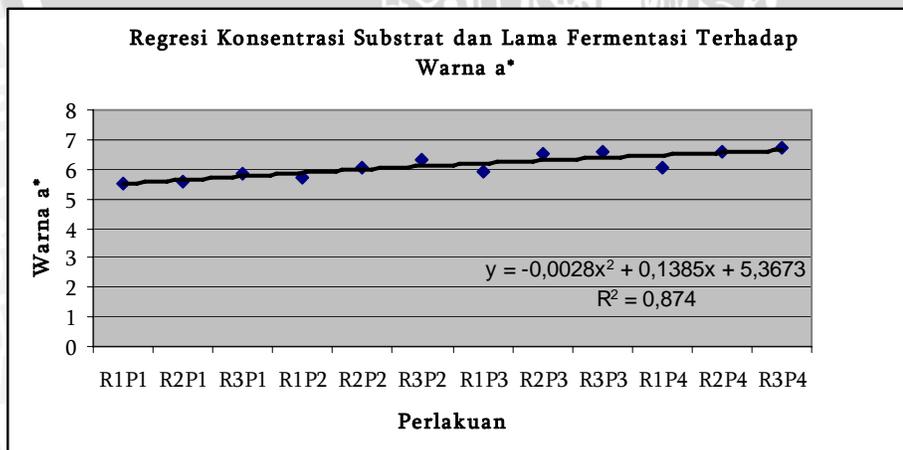
Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
1% 2 hari	5.1633	.05859	3
3% 2 hari	5.3833	.02517	3
5% 2 hari	5.4767	.15948	3
1% 4 hari	5.7000	.10000	3
3% 4 hari	5.8233	.10504	3
5% 4 hari	5.9467	.07095	3
1% 6 hari	6.0100	.08000	3
3% 6 hari	6.5000	.10000	3
5% 6 hari	6.6067	.16258	3
1% 8 hari	6.0700	.04000	3
3% 8 hari	6.6000	.10000	3
5% 8 hari	6.7433	.09866	3
Total	6.0019	.51494	36

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Warna a+ Glukosa Cair

Equation	Model Summary		Parameter Estimates			
	R Square	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	.864	.000	5.1137	.1372		
Quadratic	.874	.000	5.3673	.1385	-.002	
Cubic	.873	.000	4.9676	.2001	-.005	8.20E-006

The independent variable is Perlakuan.



Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Warna b* Glukosa Cair

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F hitung	F 1%	F 5%
Corrected Model	14.648(a)	11	1.332	48.574		
Intercept	1955.703	1	1955.703	71339.868		
R	2.499	2	1.250	45.584	5.61**	3.40*
P	11.432	3	3.811	139.010	4.72**	3.01*
R * P	.716	6	.119	4.353	3.67**	2.51*
Error	.658	24	.027			
Total	1971.009	36				
Corrected Total	15.306	35				

Ket :

- * = Berpengaruh nyata
- ** = Berpengaruh Sangat nyata

UJI BNT Warna b*

Perlakuan	Rerata	6,54	6,65	6,80	6,85	7,14	7,20	7,45	7,55	7,65	7,79	8,15	8,77	Notasi
R ₁ P ₁	6,54	0												a
R ₂ P ₁	6,65	0,11	0											a
R ₃ P ₁	6,80	0,26	0,15	0										a
R ₁ P ₂	6,85	0,31*	0,20	0,05	0									b
R ₂ P ₂	7,14	0,60**	0,49**	0,34*	0,29*	0								b
R ₁ P ₃	7,20	0,66**	0,55**	0,40**	0,35*	0,06	0							b
R ₂ P ₃	7,45	0,91**	0,80**	0,65**	0,60**	0,31*	0,25	0						b
R ₃ P ₂	7,55	1,01**	0,90**	0,75**	0,70**	0,41**	0,35*	0,10	0					b
R ₁ P ₄	7,65	1,11**	1,00**	0,85**	0,80**	0,51**	0,45**	7,41**	0,10	0				b
R ₃ P ₃	7,79	1,25**	1,14**	0,99**	0,94**	0,65**	0,59**	0,34**	0,24*	0,14	0			b
R ₂ P ₄	8,15	1,61**	1,50**	1,35**	1,30**	1,01**	0,95**	0,70**	0,60**	0,50**	0,36*	0		b
R ₃ P ₄	8,77	2,23**	2,12**	1,97**	1,92**	1,63**	1,57**	1,32**	1,22**	1,12**	0,98**	0,62**	0	c

Ket: BNT 5%= 0.276 dan BNT 1%=0.374

- * Berbeda nyata
- **Berbeda sangat nyata

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Warna b+ Glukosa Cair

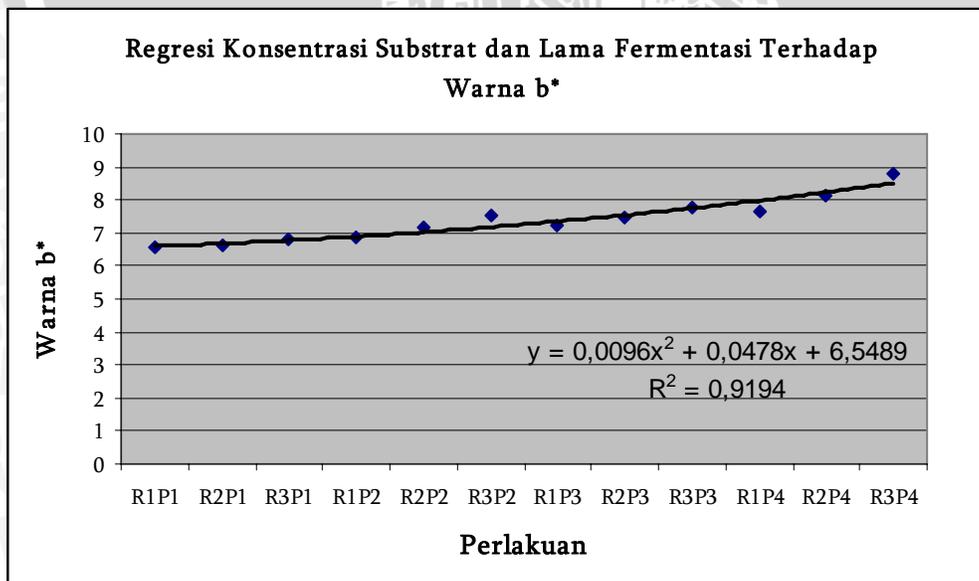
Perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
1% 2 hari	6.5400	.04583	3
3% 2 hari	6.6500	.15000	3
5% 2 hari	6.7000	.20000	3
1% 4 hari	6.8500	.45000	3
3% 4 hari	7.1400	.02646	3
5% 4 hari	7.5500	.09000	3
1% 6 hari	7.2000	.07000	3
3% 6 hari	7.4500	.15000	3
5% 6 hari	7.7933	.01528	3
1% 8 hari	7.6500	.15000	3
3% 8 hari	8.1500	.05000	3
5% 8 hari	8.7733	.02082	3
Total	7.3706	.66129	36

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Warna b+ Glukosa Cair

Equation	Model Summary		Parameter Estimates			
	R Square	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	.857	.000	6.234	.175		
Quadratic	.919	.000	6.548	.047	.009	
Cubic	.888	.000	6.131	.354	-.047	.003

The independent variable is Perlakuan.



Lampiran 9. Perlakuan Terbaik

Paramenter	Kombinasi Perlakuan												Terbaik
	R ₁ P ₁	R ₂ P ₁	R ₃ P ₁	R ₁ P ₂	R ₂ P ₂	R ₃ P ₂	R ₁ P ₃	R ₂ P ₃	R ₃ P ₃	R ₁ P ₄	R ₂ P ₄	R ₃ P ₄	
	1. Kadar Glukosa	2.252	4.346	4.962	3.943	4.565	5.202	4.401	4.880	5.592	4.168	4.791	
2. TPT	1.2	1.3	1.5	1.5	1.7	1.9	2.1	2.3	2.4	2.0	1.9	2.6	2.6
3. Viskositas	0.924	0.931	0.945	0.927	0.945	0.999	0.936	0.971	1.035	0.942	0.981	1.064	1.064
4. pH	7.5	7.6	8.1	7.9	8.1	8.3	9	8.9	9.3	8.6	8.8	9	7.5
5. Total Kapang	146.8 x 10 ⁴	161.3 x 10 ⁴	194.0 x 10 ⁴	163.0x 10 ⁴	189.5 x 10 ⁴	235.7 x 10 ⁴	189.7 x 10 ⁴	224.0 x 10 ⁴	302.7 x 10 ⁴	157.3x 10 ⁴	170.7 x 10 ⁴	293.5x 10 ⁴	302.7x 10 ⁴
6. Akt Selulotik	12.510	24.146	27.568	21.902	25.363	28.899	24.450	27.112	31.067	23.157	26.617	30.192	31.067
7. Selulosa terhidrolisis	2.73	3.05	3.21	2.84	3.47	3.74	3.14	3.69	4.04	2.94	3.58	4.01	4.04
8. Warna L*	49.15	47.55	47.10	47.93	44.85	44.44	44.30	42.75	42.57	43.20	41.60	40.95	40.95
9. Warna a*	5.16	5.38	5.48	5.70	5.82	5.95	6.01	6.50	6.61	6.07	6.60	6.74	5.16
10. Warna b*	6.54	6.65	6.80	6.85	7.14	7.55	7.20	7.45	7.79	7.65	8.15	8.77	6.54

Paramenter	λ	Derajat Kerapatan												Min
		R ₁ P ₁	R ₂ P ₁	R ₃ P ₁	R ₁ P ₂	R ₂ P ₂	R ₃ P ₂	R ₁ P ₃	R ₂ P ₃	R ₃ P ₃	R ₁ P ₄	R ₂ P ₄	R ₃ P ₄	
1. Kadar Glukosa	0.10	0.403	0.777	0.887	0.705	0.816	0.930	0.787	0.873	1.000	0.745	0.857	0.972	
2. Total Padatan Terlarut	0.10	0.462	0.500	0.577	0.577	0.654	0.731	0.808	0.885	0.923	0.769	0.731	1.000	
3. Viskositas Relatif	0.10	0.868	0.875	0.888	0.871	0.888	0.939	0.880	0.913	0.973	0.885	0.922	1.000	
4. pH	0.10	1.000	0.987	0.926	0.949	0.926	0.904	0.833	0.843	0.806	0.872	0.852	0.833	
5. Total Kapang	0.10	0.485	0.533	0.641	0.538	0.626	0.779	0.627	0.740	0.970	0.520	0.564	1.000	
6 Aktivitas Selulotik	0.10	0.403	0.777	0.887	0.705	0.816	0.930	0.787	0.873	1.000	0.745	0.857	0.972	
7 Selulosa Terhidrolisis	0.10	0.675	0.755	0.795	0.704	0.859	0.927	0.778	0.913	1.000	0.727	0.886	0.993	
8. Target Warna L	0.10	0.833	0.861	0.869	0.854	0.913	0.921	0.924	0.958	0.962	0.948	0.984	1.000	
9. Target Warna a+	0.10	1.000	0.959	0.942	0.905	0.887	0.867	0.859	0.794	0.781	0.850	0.782	0.766	
10. Target Warna b+	0.10	1.000	0.932	0.912	0.905	0.868	0.821	0.861	0.832	0.796	0.810	0.761	0.707	
L1		0.287	0.204	0.168	0.228	0.175	0.125	0.186	0.138	0.079	0.213	0.180	0.076	
L2		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
L∞		0.060	0.050	0.042	0.046	0.037	0.027	0.037	0.026	0.022	0.048	0.044	0.029	



Lampiran 5. Total Kapang

Rerata Total Kapang

Perlakuan	1				2				3				Rerata
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	Jumlah	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	Jumlah	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	Jumlah	
R ₁ P ₁	45	25	3	148	40	26	10	150	36	25	15	143	146.8
R ₂ P ₁	60	25	10	155	50	26	20	165	58	27	12	164	161.3
R ₃ P ₁	75	30	15	188	70	35	23	210	69	30	2	184.5	194.0
R ₁ P ₂	48	28	12	164	50	28	19	165	60	26	3	160	163.0
R ₂ P ₂	76	31	15	193	80	30	21	190	81	29	10	185.5	189.5
R ₃ P ₂	84	42	21	252	80	45	5	265	70	31	5	190	235.7
R ₁ P ₃	60	32	5	190	70	32	20	195	68	30	20	184	189.7
R ₂ P ₃	80	38	14	230	84	39	24	237	80	33	15	205	224.0
R ₃ P ₃	101	57	12	336	85	60	18	342.5	80	38	6	230	302.7
R ₁ P ₄	46	25	9	148	48	26	17	154	40	30	24	170	157.3
R ₂ P ₄	56	30	6	178	58	31	18	184	50	25	2	150	170.7
R ₃ P ₄	96	54	23	218	90	55	20	320	85	40	3	242.5	293.5

Lampiran 8 Warna

Rerata Warna Glukosa Cair

Perlakuan	Target L				Target a+				Target b+			
	1	2	3	Rerata	1	2	3	Rerata	1	2	3	Rerata
R ₁ P ₁	48.40	49.90	49.15	49.15	5.50	5.30	5.70	5.50	6.49	6.58	6.55	6.54
R ₂ P ₁	46.50	48.60	47.55	47.55	5.60	5.70	5.50	5.60	6.65	6.80	6.50	6.65
R ₃ P ₁	47.40	46.80	47.10	47.10	5.85	5.30	6.40	5.85	6.80	6.70	6.90	6.80
R ₁ P ₂	47.85	48.01	47.93	47.93	5.80	5.70	5.60	5.70	6.85	7.30	6.40	6.85
R ₂ P ₂	44.10	44.85	45.60	44.85	6.01	6.09	6.13	6.08	7.15	7.16	7.11	7.14
R ₃ P ₂	44.56	44.76	44.01	44.44	6.10	6.30	6.50	6.30	7.64	7.55	7.46	7.55
R ₁ P ₃	45.42	44.26	43.21	44.30	5.90	5.87	5.96	5.91	7.12	7.23	7.25	7.20
R ₂ P ₃	49.40	47.75	46.10	47.75	6.60	6.40	6.50	6.50	7.30	7.45	7.60	7.45
R ₃ P ₃	42.56	42.63	42.51	42.57	6.64	6.43	6.75	6.61	7.79	7.81	7.78	7.79
R ₁ P ₄	43.20	43.10	43.30	43.20	6.01	6.05	6.04	6.03	7.80	7.65	7.50	7.65
R ₂ P ₄	41.60	42.80	40.40	41.60	6.60	6.70	6.50	6.60	8.20	8.15	8.10	8.15
R ₃ P ₄	40.95	41.40	40.50	40.95	6.63	6.79	6.81	6.74	8.78	8.75	8.79	8.77

UJI BNT Persentase Glukosa

Perlakuan	Rerata	2,252	3,943	4,168	4,346	4,401	4,565	4,791	4,880	4,962	5,202	5,435	5,592	notasi
R ₁ P ₁	2,252	0												a
R ₁ P ₂	3,943	1,691	0											a
R ₁ P ₄	4,168	1,916**	0,226	0										b
R ₂ P ₁	4,346	2,094**	0,404	0,178	0									b
R ₂ P ₃	4,401	2,149**	0,459	0,233	0,055	0								b
R ₂ P ₂	4,565	2,471**	0,623	0,397	0,219	0,164	0							b
R ₂ P ₄	4,791	2,642**	0,849*	0,623	0,445	0,390	0,226	0						b
R ₃ P ₃	4,880	2,409**	0,938*	0,712	0,534	0,479	0,315	0,089	0					b
R ₃ P ₁	4,962	2,320**	1,020*	0,794	0,616	0,561	0,397	0,171	0,082	0				b
R ₃ P ₂	5,202	2,793**	1,259**	1,034*	0,856*	0,801*	0,637	0,411	0,322	0,240	0			b
R ₃ P ₄	5,435	3,114**	1,492**	1,266**	1,088*	1,034*	0,869*	0,643	0,554	0,472	0,233	0		b
R ₃ P ₃	5,592	2,799**	1,650**	1,424**	1,246**	1,191**	1,027*	0,801*	0,712	0,630	0,390	0,157	0	b

Ket: BNT 5% = 0.8256 dan BNT 1% = 1.1188

* Berbeda nyata

**Berbeda sangat nyata

UJI BNT Viskositas

perlakuan	rerata	0,92	0,93	0,931	0,936	0,942	0,945	0,945	0,97	1,035	1,064	1,931	1,999	Notasi
R ₁ P ₁	0,924	0												a
R ₁ P ₂	0,927	0	0											a
R ₂ P ₁	0,931	0,01**	0	0										b
R ₁ P ₃	0,936	0,01**	0,01**	0,005**	0									c
R ₁ P ₄	0,942	0,02**	0,01**	0,011**	0,006**	0								c
R ₃ P ₁	0,945	0,02**	0,02**	0,014**	0,009**	0,003*	0							b
R ₂ P ₂	0,945	0,02**	0,02**	0,014**	0,009**	0,003*	0	0						b
R ₂ P ₃	0,971	0,05**	0,04**	0,04**	0,035**	0,029*	0,026*	0,026*	0					b
R ₃ P ₃	1,035	0,11**	0,11**	0,104**	0,099**	0,093**	0,09**	0,09**	0,06**	0				c
R ₃ P ₄	1,064	0,14**	0,14**	0,133**	0,128**	0,122**	0,119**	0,119**	0,09**	0,029*	0			b
R ₂ P ₂	1,931	1,93**	1**	1**	0,995**	0,989**	0,986**	0,986**	0,96**	0,896**	0,867**	0		c
R ₃ P ₃	1,999	1,08**	1,07**	1,068**	1,063**	1,057**	1,054**	1,054**	1,03**	0,964**	0,935**	0,068**	0	c

Ket: BNT 5% = 0.00227 dan BNT 1% = 0.00307

* Berbeda nyata

** Berbeda sangat nyata

UJI BNT Total Kapang

perlakuan	rerata	147,0	157,3	161,3	163,0	170,7	189,5	189,7	194,0	224,0	235,7	293,5	302,7	Nnotasi
R ₁ P ₁	147,0	0												a
R ₁ P ₄	157,3	10,3	0											a
R ₂ P ₁	161,3	14,3	4,0	0										a
R ₁ P ₂	163,0	16,0	5,7	1,7	0									a
R ₂ P ₄	170,7	23,7	13,3	9,3	7,7	0								a
R ₂ P ₂	189,5	42,5*	32,2	28,2	26,5	18,8	0							b
R ₁ P ₃	189,7	42,7*	32,3	28,3	26,7	19,0	0,2	0						b
R ₃ P ₁	194,0	47,0*	36,7	32,7	31,0	23,3	4,5	4,3	0					b
R ₂ P ₃	224,0	77,0**	66,7**	62,7**	61,0**	53,3**	34,5	34,3	30,0	0				b
R ₃ P ₂	235,7	88,7**	78,3**	74,3**	72,7**	65,0**	46,2*	46,0*	41,7*	11,7	0			b
R ₃ P ₄	293,5	146,5**	136,2**	132,2**	130,5**	122,8**	104,0**	103,8**	99,5**	69,5**	57,8**	0		c
R ₃ P ₃	302,7	155,7**	145,3**	141,3**	139,7**	132,0**	113,2**	113,0**	108,7**	78,7**	67,0**	9,2	0	b

Ket: BNT 5%= 40.45 dan BNT 1%=53.59

* Berbeda nyata

**Berbeda sangat nyata

UJI BNT Aktivitas selulotik

	12,51	21,902	23,157	24,146	24,45	25,363	26,617	27,112	27,568	28,899	30,192	31,067	Notasi	
R1P1	12,51	0											a	
R1P2	21,902	9,392**	0										c	
R1P4	23,157	10,647**	1,255	0									b	
R2P1	24,146	11,636**	2,244**	0,989	0								b	
R1P3	24,45	11,94**	2,548**	1,293*	0,304	0							b	
R2P2	25,363	12,853**	3,461**	2,206**	1,217*	0,913	0						b	
R2P4	26,617	14,107**	4,715**	3,46**	2,617**	2,167*	1,254	0					b	
R2P3	27,112	14,602**	5,21**	3,955**	2,966**	2,662**	1,749*	0,495	0				b	
R3P1	27,568	15,058**	27,568**	3,422**	3,422**	3,118**	2,205**	0,951	0,456	0			b	
R3P2	28,899	28,899**	6,997**	5,742**	4,753**	4,449**	3,536**	2,282**	1,787*	1,331*	0		b	
R3P4	30,192	17,682**	6,997**	7,035**	6,046**	5,742**	4,829**	3,575**	3,08**	2,624**	1,293*	0	b	
R3P3	31,067	18,557**	9,165**	7,91**	6,921**	6,617**	5,704**	4,45**	3,955**	3,499**	2,168**	0,875	0	b

Ket: BNT 5%= 0.8256 dan BNT 1%=1.1188

* Berbeda nyata

**Berbeda sangat nyata

UJI BNT Warna L*

Perlakuan	Rerata	40,95	41,60	42,57	43,20	44,30	44,44	44,85	47,10	47,55	47,75	47,93	49,15	Notasi
R ₃ P ₄	40,95	0												a
R ₂ P ₄	41,60	0,65	0											a
R ₃ P ₃	42,57	1,62*	0,97	0										b
R ₁ P ₄	43,20	2,25**	1,60*	0,63	0									b
R ₁ P ₃	44,30	3,35**	2,70**	1,73*	1,10*	0								b
R ₃ P ₂	44,44	3,49**	2,84**	1,88**	1,24*	0,15	0							b
R ₂ P ₂	44,85	3,90**	3,25**	2,28**	1,65*	0,55*	0,41	0						b
R ₃ P ₁	47,10	6,15**	5,50**	4,53**	3,90**	2,80**	2,66**	2,25**	0					c
R ₂ P ₁	47,55	6,60**	5,95**	4,98**	4,35**	3,25**	3,11**	2,70**	0,45	0				b
R ₂ P ₃	47,75	6,80**	6,15**	5,18**	4,775**	3,45**	3,31**	2,90**	0,65	0,20	0			b
R ₁ P ₂	47,93	6,98**	6,33**	5,36**	4,73**	3,63**	3,49**	3,08**	0,83	0,38	0,18	0		b
R ₁ P ₁	49,15	8,20**	7,55**	6,58**	5,95**	4,85**	4,71**	4,30**	2,05**	1,60*	1,40*	1,22	0	b

Ket: BNT 5%= 1.3808 dan BNT 1%=1.871

* Berbeda nyata

**Berbeda sangat nyata

UJI BNT Selulosa Terhidrolisis

Perlakuan	Rerata	2,73	2,84	2,94	3,05	3,14	3,21	3,47	3,58	3,69	3,74	4,01	4,04	Notasi
R1P1	2,73	0												a
R1P2	2,84	0,12	0											a
R1P4	2,94	0,21	0,09	0										a
R2P1	3,05	0,32	0,20	0,11	0									a
R1P3	3,14	0,42	0,30	0,20	0,09	0								a
R3P1	3,21	0,48	0,37	0,27	0,16	0,07	0							a
R2P2	3,47	0,74*	0,62*	0,53	0,42	0,33	0,26	0						b
R2P4	3,58	0,85**	0,74*	0,64*	0,53	0,44	0,37	0,11	0					b
R2P3	3,69	0,96**	0,84**	0,75*	0,64*	0,54	0,48	0,22	0,11	0				b
R3P2	3,74	1,02**	0,90**	0,81**	0,69*	0,60*	0,53	0,28	0,16	0,06	0			b
R3P4	4,01	1,29**	1,17**	1,07**	0,96**	0,87**	0,80**	0,54	0,43	0,33	0,27	0		b
R3P3	4,04	1,31**	1,19**	1,10**	0,99**	0,90**	0,83**	0,57*	0,46	0,35	0,30	0,03	0	b

Ket: BNT 5%= 0.558 dan BNT 1%=0.75519

* Berbeda nyata

**Berbeda sangat nyata