

LAPORAN RISET

KKC
KIS
LP. 278/10
PUS
P

PENGEMBANGAN AGROBISNIS ENZIM LIGNOSELULASE DALAM MENINGKATKAN KETAHANAN PANGAN NASIONAL



PROGRAM INSENTIF

PERCEPATAN DIFUSI DAN PEMANFAATAN IPTEK

No. Pendaftaran On-Line : DF-2009-2594

Fokus Bidang Prioritas : KETAHANAN PANGAN

Nama Koordinator : Dr. Bambang Sektiari L.,DEA.,drh.

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA
MASYARAKAT – UNIVERSITAS AIRLANGGA
KAMPUS C – UNAIR, MULYOREJO, SURABAYA 60115**
Telepon :0315995246/ Fax: 0315962066/ HP: 081330770619/
e-mail : infolemlit@unair.ac.id

16 NOPEMBER 2009

LEMBAR PENGESAHAN

- | | |
|---------------------------|--|
| 1. Judul Penelitian | : Pengembangan Agrobisnis Enzim Lignoselulase dalam Meningkatkan Ketahanan Pangan Nasional |
| 2. Bidang fokus kegiatan | : Ketahanan Pangan |
| 3. Lokasi Kegiatan | : 1. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga
2. Sentra Pertanian dan Peternakan terkait di Jawa Timur |
| 4. Fokus Bidang Prioritas | : Ketahanan Pangan |
| 5. Program Insentif | : Percepatan Difusi dan Pemanfaatan IPTEK |
| 6. Peneliti Utama | |
| Nama Lengkap | : Dr. Ni Nyoman Tri Puspaningsih,MSi |
| Jenis kelamin | : Perempuan |
| 7. Lama Penelitian | : Satu Tahun |
| Tahun Dimulai | : Tahun 2009 |
| Tahun Berakhir | : Tahun 2009 |
| 8. Surat Perjanjian | |
| Nomor | : 034/DF/D.PSIPTN/Insentif/PPK/I/2009 |
| Tanggal | : 20 Januari 2009 |
| 9. Biaya Tahun 2009 | : Rp. 293.567.000,- |
| Tahap I (30%) | : Rp. 88.070.100,- |
| Tahap II (50%) | : Rp. 146.783.500,- |
| Tahap III (20%) | : Rp. 58.713.400,- |




Ketua Lembaga Penelitian,

Prof. Dr. Bambang Sektiari, DEA
NIP. 131837004

Surabaya, 16 Nopember 2009

Koordinator Penelitian,


Dr. Ni Nyoman Tri Puspaningsih, MSi
NIP. 131 653 446

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	i
DAFTAR ISI	ii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1. Latar belakang signifikansi dan pentingnya teknologi yang didifusikan bagi pembangunan	1
2. Perumusan permasalahan	4
3. Tujuan	4
4. Sasaran	5
5. Lokasi Kegiatan	5
6. Kelayakan Teknis	5
7. pemnafaatan Hasil	6
BAB II. STUDI PUSTAKA	8
BAB III. PROSEDUR DAN METODOLOGI	19
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	21
BAB V. KESIMPULAN	35
LAMPIRAN	

BAB I

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang Signifikansi dan Pentingnya Teknologi yang Didifusikan Bagi Pembangunan

Indonesia sebagai negara agraris memiliki potensi yang sangat besar dalam sektor pertanian. Sebagian besar masyarakat Indonesia masih menjadikan pertanian sebagai sumber usaha dan profesi. Dewasa ini, banyak berkembang industri pengolahan pangan yang berbasis pada komoditas lokal selain padi, diantaranya gandum, jagung, pisang, kelapa sawit, singkong, ubi jalar dan sagu. Seiring berkembangnya industri tersebut maka jumlah limbah pertanian yang dihasilkan juga semakin meningkat. Limbah pertanian ini antara lain berupa jerami padi (54,66 juta ton), tandan kelapa sawit (100 juta ton), daun jagung, batang jagung, tongkol jagung (12,14 juta ton), daun kedelai (781 ribu ton), daun kacang tanah (18.541 ton), dan ubi kayu (468.950 ton) yang masih kaya akan kandungan lignoselulosa (*Berita Resmi Statistik No.57/IX /1 November 2006*). Oleh karena itu sering disebut sebagai limbah lignoselulosa.

Setiap tahunnya limbah lignoselulosa yang dihasilkan sangat berlimpah mencapai 169 juta ton. Selama ini limbah lignoselulosa kurang dimanfaatkan secara optimal. Sebagian besar limbah tersebut hanya dimusnahkan dengan pembakaran. Proses pembakaran yang berkelanjutan dapat mengakibatkan terakumulasinya CO₂ di udara yang berdampak pada pemanasan global. Bila dikaji lebih dalam, limbah lignoselulosa tersusun atas hemiselulosa, selulosa dan lignin memiliki potensi besar sebagai bahan baku berbagai industri. Disamping itu, fraksinasi limbah ini menjadi komponen penyusunnya akan meningkatkan pendayagunaan dalam berbagai industri.

Penyediaan pakan hijauan memegang peranan yang penting dalam produksi ternak ruminansia di daerah tropis seperti Indonesia, namun adanya musim kemarau yang relatif panjang kekurangan pakan hijauan merupakan problem yang belum dapat diatasi, hal ini akan memberikan peluang bagi limbah

pertanian sebagai pakan ternak alternatif. Adanya intensifikasi pangan berakibat produksi padi (*Oryza sativa*) meningkat setiap tahun. Setiap musim panen tiba banyak peternak membakar limbah jerami padi dengan maksud mendapatkan unsur mineral untuk musim tanam berikutnya. Pembakaran jerami padi menghasilkan emisi karbon yang menyumbang terjadinya pemanasan global akibat timbulnya asap yang akan berpengaruh terhadap lingkungan, namun sebaliknya apabila jerami padi diolah menjadi pakan ternak berkualitas akan bermanfaat bagi ternak ruminansia mengingat jerami padi mengandung bahan organik termasuk N yang cukup potensial sebagai pemasok energi bagi ternak ruminansia.

Pada tahun 2006, dengan luas lahan pertanian di Indonesia 11,855 juta ha mampu menghasilkan produksi Gabah Kering Giling (GKG) sebesar 54,663.599 juta ton (Departemen Pertanian, 2007). Jerami padi merupakan sumber selulosa dan hemiselulosa, dengan produksi total bahan kering (BK) sebesar 58.599.377 juta ton akan dihasilkan 26.369.719 juta ton selulosa dan 17.579.813 juta ton hemiselulosa, yang sangat potensial sebagai sumber energi bagi ternak ruminansia. Disisi lain jerami padi mempunyai kendala yaitu kandungan serat kasar tinggi (selulosa, hemiselulosa, lignin), protein kasar dan kecernaanya yang rendah, sehingga pemanfaatan jerami padi sebagai pakan ternak terbatas.

Van Soest (1994) menyatakan bahwa selulosa dan hemiselulosa dalam rumen ternak ruminansia mengalami proses fermentasi yang menghasilkan *Volatile Fatty Acid* (VFA) yang dapat memenuhi 50 – 60 % kebutuhan energi. Bahan limbah serat khususnya limbah pertanian akan menjadi bahan bernilai tinggi apabila disamping tingginya kandungan selulosa dan hemiselulosa, juga diwaktu yang sama kedua komponen tersebut harus dapat dihidrolisis menjadi senyawa yang mudah terfermentasi. Hidrolisis hemiselulosa akan menghasilkan xilosa 50 – 70 %, arabinosa 5 – 15 % dan hidrolisis selulosa akan menghasilkan glukosa (Pessoa *et al.*, 1997).

Jerami padi mempunyai karakteristik yang berbeda dengan jerami sereal lainnya. Karakteristik nutrisi jerami padi umumnya tinggi kandungan serat kasar,

rendah protein kasar, komposisi mineral tidak seimbang, konsumsi dan pencernaan nutrisi rendah. Pencernaan yang rendah terjadi karena laju degradasi oleh mikroba rumen pada jerami padi relatif rendah dan sangat terbatas. Untuk meningkatkan pencernaan jerami padi perlu dilakukan suatu pemrosesan baik dengan menggunakan bahan kimia (hidrolisis basa serta amoniasi) ataupun biologis. Perlakuan biologi menggunakan enzim lignoselulase mampu memperbaiki potensi pakan berserat dan lebih ramah lingkungan. Perubahan yang terjadi tidak hanya kandungan kimia tetapi diikuti perubahan struktur lignoselulosa dan lignohemiselulosa, sehingga akan lebih memudahkan degradasi fraksi hemiselulosa pada jerami padi secara efisien dan optimal. Penggunaan enzim bertujuan untuk meningkatkan kualitas pakan dengan kandungan serat kasar tinggi. Penelitian Tricarico dan Dawson (1999) yang disitasi Kusmartono (2008) melaporkan penambahan enzim xilanase dan selulase dapat meningkatkan pencernaan jerami padi secara *in vitro* dari 45% menjadi 63%. Pemanfaatan enzim dalam bioproses secara industri mempunyai beberapa keuntungan. Pertama, enzim sebagai biokatalisator mengkatalis terjadinya reaksi dengan cepat, juga penggunaan enzim ramah lingkungan karena tidak menyebabkan pencemaran terhadap lingkungan. Keuntungan lain, enzim hanya bekerja pada substrat spesifik, hal ini merupakan salah satu keunggulan enzim yang tidak dimiliki oleh mikroba bila digunakan dalam proses fermentasi.

Penelitian eksplorasi, karakterisasi dan kloning gen penyandi enzim lignoselulase telah dilakukan oleh Ketua Peneliti bersama tim sejak tahun 2003 menghasilkan *cluster gene* enzim hemiselulase termofilik di pTP510. Enzim rekombinan yang diekspresikan oleh pTP510 terdiri dari *exo-xylanase*, α -L-arabinofuranosidase, dan β -xylosidase. Ketiga gen tersebut telah terdaftar di GeneBank dengan *accession number* DQ387047, DQ487046, dan DQ345777. Sub-kloning ketiga gen tersebut ke dalam pET system telah pula menghasilkan pET-exoxyl, pET-abfa dan pET-xyl. Eksplorasi kelompok enzim selulase dan *endo-xilanase* dari sumber bakteri lain juga telah dilakukan baik menggunakan bakteri termofilik maupun mesofilik. Enzim lignoselulase tersebut di atas telah

pula diaplikasikan melalui penelitian pendahuluan sebagai campuran pakan ternak ruminansia dan pupuk organik. Penelitian tersebut dapat membantu permasalahan nasional pada penyediaan bahan pakan ternak dan pupuk yang harganya semakin mahal dan sulit diperoleh oleh masyarakat. Teknologi enzim lignoselulase yang akan ditambahkan dalam pakan ternak dan pupuk organik diharapkan akan mampu meningkatkan mutu pakan berbasis limbah pertanian, sehingga akan berdampak terhadap ketahanan pangan nasional. Demikian pula dengan penyediaan pupuk organik lokal.

2. Perumusan Permasalahan (*Problem Statement*)

- a. Persaingan kebutuhan dan penggunaan bahan baku pangan menjadi bahan bioenergi
- b. Semakin mahalnya harga kebutuhan untuk produksi pertanian dan peternakan
- c. Limbah pertanian belum dimanfaatkan secara optimal sebagai bahan baku pakan ternak dan pupuk yang murah dan berlimpah
- d. Pengolahan limbah pertanian kaya akan polisakarida secara enzimatis belum diaplikasikan dalam teknologi pakan ternak dan juga pupuk organik

3. Tujuan

Tujuan Umum :

- a. Sosialisasi penggunaan enzim lignoselulase produk lokal kepada masyarakat peternak dan petani
- b. Formulasi penggunaan enzim hemiselulase dan selulase dalam bentuk tunggal maupun konsorsium dalam meningkatkan mutu ternak maupun pupuk organik
- c. Meningkatkan ketahanan pangan nasional melalui peningkatan mutu pakan dan pupuk secara enzimatis
- d. Meningkatkan fungsi limbah pertanian kaya polisakarida sebagai bahan baku pakan ternak dan pupuk.

Tujuan Khusus :

- a. memproduksi enzim hemiselulase dan selulase termofilik maupun mesofilik
- b. memformulasikan kandungan enzim lignoselulase tunggal dan konsorsiumnya sebagai campuran bahan pakan ternak maupun komposting
- c. diseminasi hasil formulasi enzim lignoselulase kepada kelompok UMKM peternak maupun petani khususnya di daerah Jawa Timur melalui kegiatan lokakarya
- d. melakukan kerjasama program penggunaan enzim dalam campuran pakan ternak maupun pupuk dengan Pemda, UMKM petani dan peternak

4. Sasaran

- a. Produsen pakan ternak dan pupuk organik khususnya di wilayah Jawa Timur
- b. Petani dan peternak , khususnya di wilayah Jawa Timur
- c. Pemerintah Daerah Tingkat I maupun Tingkat II Jawa Timur

5. Lokasi kegiatan

- a. Laboratorium Kimia Organik-Biokimia, Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga
- b. Sentra-sentra peternakan dan pertanian di wilayah Jawa Timur
- c. Balai-balai pertanian dan peternakan di wilayah Jawa Timur

6. Kelayakan Teknis

- a. Produksi enzim dilakukan dengan menggunakan peralatan dan teknologi serta kondisi optimum yang telah diteliti sebelumnya

- b. Tempat produksi pupuk dan pengemasannya disesuaikan dengan standar yang berlaku
- c. Tempat produksi pakan ternak dan pengemasannya disesuaikan dengan standar yang berlaku
- d. Pengemasan produk enzim disesuaikan dengan karakteristik enzim yang diproduksi

7. Pemanfaatan Hasil

a. Pemanfaatan hasil riset bagi industri

Hasil riset penggunaan enzim lignoselulase dalam meningkatkan mutu pakan dan hasil pertanian akan membantu industri terkait dalam meningkatkan kualitas produknya sehingga mempunyai nilai manfaat yang relatif tinggi bahkan dapat mempromosikan produknya kepada *stakeholder* nasional maupun internasional terutama bagi negara tropis. Sedangkan efek langsung terhadap industri mitra akan dirasakan dengan meningkatnya omzet penjualan enzim lokal dengan harga yang dapat bersaing dengan produk import yang berdampak peningkatan kegiatan industri dan ekonomi nasional dalam meningkatkan ketahanan pangan nasional.

b. Pemanfaatan hasil riset bagi ekonomi

Produk enzim lokal akan mampu bersaing dengan produk enzim sejenis yang import, sehingga meringankan petani dan peternak dalam ketersediaan produk pertanian dan peternakan. Peningkatan hasil mutu ternak dan hasil panen setelah penggunaan enzim akan meningkatkan nilai jual bagi petani dan peternak dalam memasarkan ternak dan hasil panennya. Hal ini diharapkan akan meningkatkan pendapatan petani dan peternak. Selain itu rendahnya harga gabah akan dapat teratasi mengingat gabah ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku alternatif pakan. Peningkatan pendapatan petani akan memicu jalannya roda perekonomian nasional. Perlu diketahui bahwa Indonesia masih didominasi oleh kegiatan pertanian dan peternakan.

c. Pemanfaatan hasil riset bagi masyarakat

Problema kekurangan pangan yang menjadi ancaman masyarakat di Indonesia maupun di negara lainnya akan dapat diantisipasi dengan memanfaatkan semua aspek pemanfaatan limbah pertanian menjadi produk yang bermanfaat yang diolah secara enzimatis. Kesadaran masyarakat untuk bertindak ceroboh dalam membakar biomassa hasil pertanian juga dapat dikurangi, sehingga efek pemanasan global dapat diminimalkan.

BAB II

STUDI PUSTAKA

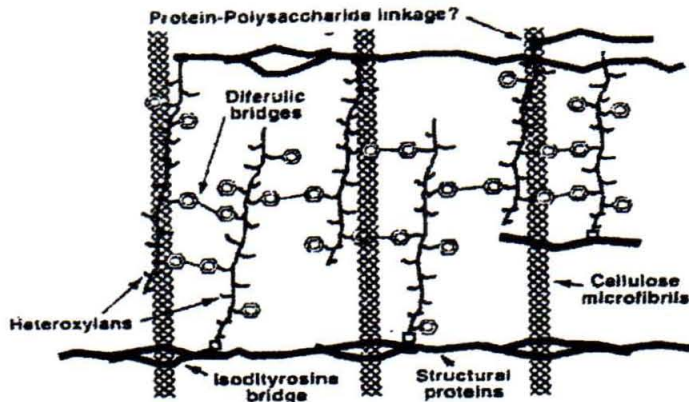
2.1. Hemiselulosa

Tumbuhan mengandung sekitar 20 – 30 % hemiselulosa. Biomassa ini merupakan sumber daya alam terbarui (*renewable*) yang sangat melimpah karena menduduki urutan kedua terbanyak setelah selulosa. Klasifikasi hemiselulosa bergantung pada gula penyusunnya. Hemiselulosa merupakan polimer karbohidrat kompleks yang mempunyai berat molekul lebih rendah dari selulosa. Monomer-monomer penyusun hemiselulosa adalah xilosa, mannososa, galaktosa, glukosa, arabinosa, glukoronic, galakturonic dan glukoronic acids (Perez *et al.*, 2002)

Hemiselulosa memiliki kesamaan dengan selulosa yaitu merupakan polimer dari unit-unit gula yang terikat oleh ikatan glikosidik, tetapi hemiselulosa berbeda dengan selulosa dilihat dari segi komponen unit gula yang menyusunnya, panjang rantai molekul dan percabangan rantai molekul. Unit gula yang membentuk hemiselulosa terdiri dari pentosa, heksosa, asam heksironat dan deoksiheksosa. Rantai utama hemiselulosa dapat terdiri dari satu unit (homopolimer), misalnya xilan, tetapi dapat juga terdiri dari dua unit gula atau lebih (heteropolimer), misalnya glukomanan (Fengel dan Wegener, 1995). Sebagian besar hemiselulosa berbentuk amorf dengan rantai bercabang pendek. Derajat polimerisasinya hanya 200 sehingga lebih mudah mengalami reaksi oksidasi dan degradasi dibandingkan selulosa (Sjostrom, 1995).

Hemiselulosa merupakan kesatuan yang membangun komposisi serat. Hemiselulosa mempunyai peranan yang penting karena bersifat hidrofilik sehingga dapat berfungsi sebagai perekat antar selulosa yang menunjang kekuatan fisik serat. Kehilangan hemiselulosa akan menyebabkan terjadinya lubang diantara fibril dan kurangnya ikatan antar serat (Fengel dan Wegener , 1995).

Hemiselulosa sangat dekat asosiasinya dengan selulosa dalam dinding sel tanaman. Lima gula netral yaitu heksosa (glukosa, manosa, galaktosa) dan pentosa (xilosa dan arabinosa) merupakan konstituen utama hemiselulosa (Saha, 2003). Keberadaan heteroxilan sebagai salah satu penyusun dinding sel tanaman dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Lokasi Heteroxilan sebagai Salah Satu Penyusun Dinding Sel Tumbuhan (Saha, 2003)

Komposisi beberapa biomassa lignoselulosa terutama pada berbagai hasil Pertanian terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Lignoselulosa dari Berbagai Hasil Pertanian

Hasil Pertanian	Komposisi (% BK)		
	Selulosa	Hemiselulosa	Lignin
Serat jagung	15	35	8
Tongkol jagung	45	35	15
Batang jagung	40	25	17
Jerami padi	35	25	12
Jerami gandum	30	50	20
Bagasse	40	24	25
Rumput	45	30	12
Rumput Coastal bermuda	25	35	6

Sumber : Saha (2003)

2.2. Xilan

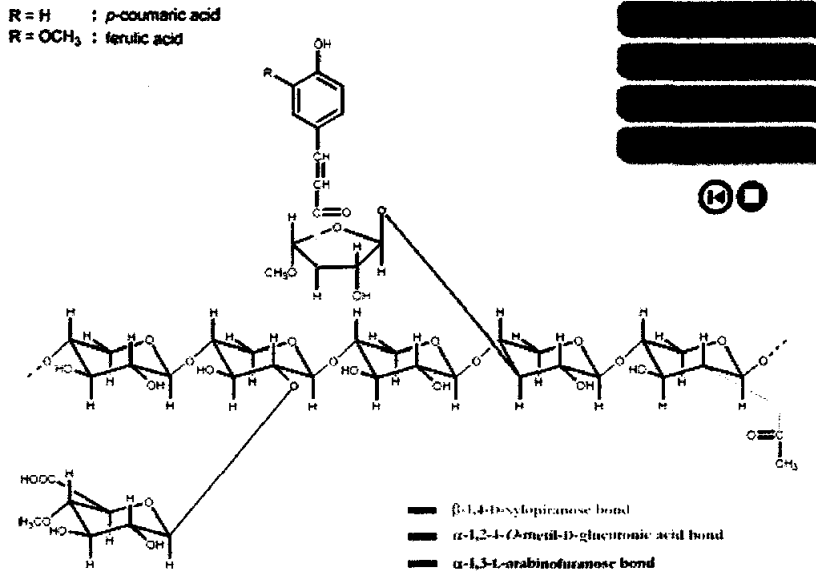
Xilan merupakan komponen utama dari hemiselulosa pada dinding sel tanaman yang terikat pada selulosa, pektin, lignin dan polisakarida lainnya untuk membentuk dinding sel. Xilan adalah heteropolisakarida kompleks dengan rantai tulang punggung homopolimer unit-unit D-xilopiranososa yang terikat β -1,4 (Kulkarni *et al.*, 1999; Subramaniyan dan Prema, 2002). Tulang punggung ini mengikat substituen-substituen seperti O-asetil, α -L-arabinofuranosil, ikatan α -1,2 glukoronat atau asam 4-o-metilglukoronat (Liu *et al.*, 1998, Kulkarni *et al.*, 1999). Kelimpahan xilan di biosfer menjadikan peran enzim xilanase sangat penting (Dung *et al.*, 1993).

Xilan sebagai komponen utama hemiselulosa, memiliki kerangka dasar residu ikatan 1,4- β -D-xilopiranosil yang rantai sampingnya disubstitusi dengan asetil, 4-O-metil-D-glukuronosil dan α -arabinofuranosil (Subramaniyan dan Prema, 2002). Komposisi monomer penyusun xilan dari berbagai sumber tumbuhan berbeda-beda dapat dilihat pada Tabel 2, sedangkan struktur xilan terlihat seperti pada Gambar 3.

Tabel 2. Komposisi Monomer (%) Berbagai Sumber Xilan

Jenis xilan	Xilosa	Arabi nosa	Glukosa	Manosa	Galaktosa	Asam anhidronat	Asam glukoronat
Kayu	89,3	1	1,4			8,3	-
Dedak padi	46	44,9	1,9		6,1	1,1	-
Jerami padi	22,6	2,46	3,81	0,17	2,66	-	-
Biji jagung	46-54	33-35	-		5-11	-	3-6

Sumber : Couglan *et al.* (1993) ; Saha (2003)



Gambar 2. Struktur Xilan Tumbuhan (Beg *et al.*, 2001)

Lokasi pemotongan oleh masing-masing enzim xilanase juga ditunjukkan pada Gambar 3. selain itu ditunjukkan pula lokasi pengikatan xilan dengan lignin melalui pengikatan residu L-arabinosa yang merupakan rantai cabang xilan dengan residu ferulil dan koumarin dari lignin (Beg *et al.*, 2001).

2.3. Enzim–enzim Xilanase

Hidrolisis total xilan membutuhkan beberapa enzim yang berbeda, endo-1,4- β -xilanase (1,4- β -D-xylanohidrolase) menghidrolisis struktur dasar xilan secara acak menjadi xilooligosakarida; 1,4- β -D-xilosidase (1,4- β -D-xylanohidrolase) memutus xilooligosakarida menjadi xilosa. Gugus samping yang menyusun xilan akan dibebaskan oleh α -L-arabinofuranosidase, α -D-glukuronidase, galaktosidase dan asetil xilan esterase menjadi arabinosa, glukuronat, galaktosa dan asetat (Subramaniyan dan Prema, 2002).

A. Enzim β -xilosidase

β -xilosidase yaitu xilanase yang mampu menghidrolisis 1,4- β -D-xilooligosakarida rantai pendek menjadi xilosa. Aktivitas enzim akan menurun dengan meningkatnya rantai oligosakarida. (Dekker, 1983; Reilly, 1991). Enzim ini mampu pula menghidrolisis substrat aril-xilosida. Xilosa selain merupakan hasil hidrolisis juga merupakan inhibitor bagi enzim β -xilosidase. Sebagian enzim β -xilosidase yang berhasil dimurnikan masih menunjukkan adanya aktivitas transferase yang menyebabkan enzim kurang dapat digunakan dalam industri penghasil xilosa.

B. Enzim α -L-arabinofuranosidase

Enzim α -L-arabinofuranosidase menghidrolisis ujung nonpereduksi antara ikatan α -L-arabinofuranosida dengan berbagai polisakarida yang mengandung arabinofuranosidase (Debche *et al.*, 2002). Enzim ini merupakan bagian dari glikosida hidrolase yang berperan dalam proses degradasi hemiselulosa seperti arabinoxilan, arabinogalaktan, dan L-arabinan. Adanya substituen L-arabinofuranosida dalam struktur xilan dapat secara kuat menghambat aktivitas endo-xilanase dan β -xilosidase yang berakibat menghalangi degradasi total dari polimer xilan (Shallom *et al.*, 2002). Hal ini disebabkan oleh struktur L-arabinofuranosida yang cukup besar, sehingga akan terjadi halangan ruang bagi aktivitas endo-xilanase dan xilosidase (Debche *et al.*, 2002; Shallom *et al.*, 2002).

C. Enzim endo- β -xilanase

Endoxilanase mampu memutus ikatan β -1,4 pada bagian dalam rantai xilan secara teratur. Ikatan yang diputus ditentukan berdasarkan panjang rantai substrat, derajat percabangan, ada atau tidaknya gugus substitusi dan pola pemutusan dari enzim hidrolase tersebut. Enzim endo- β -xilanase sebagian besar

dihasilkan oleh mikroba seperti bakteri dan fungi, dan beberapa diantaranya juga dihasilkan oleh tumbuhan dan hewan (Subramaniyan dan Prema, 2002).

Enzim xilanase dapat digunakan untuk beberapa keperluan antara lain untuk (1) proses pemutihan industri pulp dan kertas, (2) meningkatkan mutu pakan ternak, (3) pengolahan bahan makanan (3) meningkatkan kemampuan dalam mendegradasi material tumbuhan, khususnya limbah pertanian (Beg *et al.*, 2001; Subramaniyan dan Prema, 2002; Shallom *et al.*, 2002). Pada pembuatan kertas dan pulp, xilanase digunakan untuk memecah xilan dan menghilangkan lignin dalam proses *bleaching*. Enzim ini digunakan sebagai pengganti cara kimia sehingga pengaruh racun limbah kimia dapat dihindari dan lebih murah (Ruiz-Arribas *et al.*, 1995).

Aktivitas enzim xilanase telah ditemukan pada berbagai bakteri dan fungi, beberapa diantaranya telah pula diklonkan (Blanco dan Pastor, 1993). Bakteri termofilik *Bacillus thermoleovarans* IT-08 yang diperoleh dari sumber air panas Gunung Pancar Bogor menghasilkan tiga produk enzim xilanase yaitu : exo-xilanase, β -xilosidase dan α -L-arabinofuranosidase (Puspaningsih, 2004^a). Ketiga gen penyandi enzim tersebut telah terdaftar pada Gene Bank.

Produksi ternak dapat ditingkatkan dengan penggunaan enzim fibrolitik selama pemberian pakan dengan tujuan untuk meningkatkan pencernaan serat yang akan membantu aktivitas mikroorganisme rumen. Pengukuran pencernaan secara *in-situ* menggunakan enzim xilanase produksi *Aspergillus niger* dan *Trichoderma longibrachiatum* dengan pakan alfafa dapat menurunkan persentase NDF dari 68,31 % menjadi 57,97 % (Lierra *et al.*, 2003).

Fibrobacter succinogenes adalah salah satu bakteri pendegradasi serat di dalam rumen, dan hasil kloningnya memiliki enzim endoxilanase yang menghasilkan produk utamanya xilose dan xilobiose (Zhu, 1994). Pertumbuhan rumen fungi *Neocallimastix frontalis* pada substrat jerami gandum menghasilkan enzim xilanase yang mempunyai aktivitas optimum pada pH 6 dan suhu 50^o C.

Degradasi enzim xilanase menyebabkan kehilangan 43 - 50 % bahan kering yang merupakan indikasi dari pertumbuhan fungi *Neocallimastix frontalis* (Lowe *et al.*, 1987). Suzuki *et al.*, (2001) melaporkan bakteri *Aeromonas caviae* menghasilkan enzim β xilosidase yang mempunyai aktivitas optimal pada pH 6 dan suhu 50 °C, tetapi stabil pada pH 5 – 8 dan suhu di bawah 40 °C.

Pemanfaatan xilanase yang dikombinasikan dengan selulase akan menjadi sangat penting dimasa mendatang untuk menyediakan bahan dasar yang dibutuhkan untuk dikonversi menjadi bahan lain. Aplikasi selulase dan xilanase pada proses silase rumput mampu melepaskan gula pereduksi hasil fermentasi polisakarida struktural dinding sel tanaman, sehingga penggunaan enzim tersebut dapat memperbaiki konsumsi dan pencernaan pakan untuk ternak ruminansia (Spoelstra *et al.*, 1999). Beauchemin *et al.*, (2003) menyatakan bahwa pemberian *feed additive* berupa enzim terutama selulase dan xilanase dapat meningkatkan efisiensi pakan, baik pada sapi potong maupun sapi perah.

Van Paridon *et al.* (1992) telah melakukan penelitian pemanfaatan xilanase untuk campuran pakan ayam boiler dengan melihat pengaruhnya terhadap bobot badan yang dicapai dan efisiensi konversi pakan, serta hubungannya dengan viskositas pencernaan. Hal yang sama juga dilakukan oleh Bedford dan Classen (1992) yang melaporkan bahwa campuran pakan ayam boiler dengan xilanase ternyata mampu mengurangi viskositas pencernaan, sehingga pakan mudah dicerna dan diserap dan dapat meningkatkan bobot badan serta efisiensi konversi pakan.

2.4. Jerami Padi

Salah satu pilihan yang selama ini banyak digunakan para peternak untuk menggantikan hijauan adalah jerami padi. Seperti halnya limbah pertanian lainnya, jerami padi mempunyai kelemahan berupa rendahnya kandungan protein, mineral, vitamin dan karbohidrat yang tersedia, serta rendahnya pencernaan nutrisinya. Jerami padi juga mengandung lignin yang melingkupi dinding selnya sehingga sulit dicerna (Hadjipanayiotou *et al.*, 1993).

Keterbatasan penggunaan jerami padi sebagai pakan ternak disebabkan karakteristik dinding selnya yang berbeda dari dinding sel jerami tanaman sereal lainnya. Sebagai limbah tanaman tua, jerami padi telah mengalami lignifikasi lanjut, menyebabkan terjadinya ikatan kompleks antara lignin, selulosa dan hemiselulosa (lignoselulosa dan lignohemiselulosa) (Chuzaeami, 1994; Karunanandaa *et al.*, 1995). Struktur lignoselulosa pada jerami padi merupakan polimer dari *phenyl-prophyl* yang berikatan kompleks membentuk tiga dimensi yang tidak larut dalam air dan merupakan bahan yang *amorf*. Kristal silika mengelilingi struktur tiga dimensi dan ruang antar sel dari lignoselulosa (Flegel dan Melvootisom, 1986). Molekul selulosa sebagian besar telah berubah dari bentuk *amorf* menjadi bentuk kristal. Selulosa diikat oleh ikatan β -1,4 glukosida dan diperkuat dengan ikatan hidrogen antara gugus hidroksil pada C₁ dan gugus hidroksil pada C₆ sehingga menurunkan pemanfaatan dan pencernaan selulosa dan hemiselulosa sebagai sumber energi (Chuzaeami, 1994; Hatfield *et al.*, 1999).

Kualitas jerami padi sangat bervariasi, kandungan protein kasar berkisar 2 – 7 % serta *Acid Detergent Fiber* (ADF) berkisar 41 – 56 % berdasarkan bahan kering (Drake *et al.*, 2002). Van Thu *et al.* (1999) melaporkan komposisi kimia jerami padi terdiri dari : Protein kasar 3,94 %, selulosa, 40,4 %, hemiselulosa, 32,1 %, *Neutral Detergent Fiber* (NDF) 79,0 %, *Acid Detergent Fiber* (ADF) 46,9 % dan lignin 6,55 %, sedangkan Doyle *et al.* (1986) menyatakan bahwa jerami padi tersusun dari 4,1% protein kasar serta 86% dinding sel.

Chuzaeami (1994) menyatakan bahwa pakan hasil sisa pertanian baik yang berasal dari tanaman rumput-rumputan maupun leguminosa komposisinya sangat ditentukan oleh komponen penyusun dinding sel yang mewakili 80 % dari keseluruhan sel, sehingga pencernaan jerami padi disebut pencernaan dinding sel. Van Soest (1994) melaporkan selulosa dan hemiselulosa dalam rumen ternak ruminansia akan mengalami proses fermentasi yang menghasilkan *volatile fatty acid* (VFA) yang dapat memenuhi 50 – 60 % kebutuhan energi.

Produksi padi di Indonesia tahun 2005 mencapai 54.151.097 juta ton dan pada tahun 2006 mencapai 54,663.599 54,09 juta ton yang berarti naik 0.95 %

dari tahun sebelumnya (Departemen Pertanian, 2007), sedangkan di Jawa Timur produksi padi pada tahun 2005 sebesar 9,1 juta ton. Bila produksi padi : jerami adalah 1 : 1 (Doyle *et al.*, 1986), maka produksi padi di Indonesia mencapai 54,663.599 juta ton dan 9,1 juta ton di Jawa Timur. Pemanfaatan jerami padi untuk pakan ternak ruminansia sangat terbatas, yaitu sekitar 31 - 39 %, sedangkan 36 - 62 % dibakar atau dikembalikan ke tanah sebagai kompos dan sisanya 7 - 16 % untuk keperluan industri (Komar, 1984).

Penggunaan jerami padi dapat mencapai 20 % pada musim hujan dan semakin meningkat pada musim kemarau sampai mencapai 43 % dari total bahan organik pakan yang dikonsumsi (Soetanto dan Marjuki, 1997). Jerami padi mengandung bahan lignoselulosa dan lignohemiselulosa yang potensial. Jerami padi mengandung 80 % BK dengan kandungan selulosa sekitar 50 % dan hemiselulosa sekitar 30 % (Chuzaemi, 1994; Van Thu, 1999), yang memungkinkan dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi bagi ternak ruminansia, namun pencernaan jerami padi hanya sebesar 45 – 50 % dari total BK (Prasetyo *dkk.*, 2001).

2.5. DAFTAR PUSTAKA

- Beg QKM, Kapoor L, Mahajan G, Hoondal S. 2001. Microbial xylanase and their industrial application : a review, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 56: 326-338.
- Biswas S dan Vashishtha N. 2003. Xylitol : Technology & Business Opportunities. Internet.
- Clark EM, Tenkanen M, Nakni-Setana T and Pentika M. 1996. Cloning of gene encoding α -L-arabinofuranosidase and β -xylosidase from *Trichoderma reesei* by expression in *Saccharomyces cerevisiae*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 62: 3840-3846.
- Christakopoulos, P *et al.* 2002. Antimicrobial activity of acidic xylo-oligosaccharides produced by family 10 and 11 endo-xylanases, *International Journal of Biological Macromolecules*, 31 : 171-175
- Dominique H *et al.* 2003, Xylo-oligosaccharides : Properties and Production Technologies, *Electronic Journal Environmen. Agric. Food. Chem.*, ISSN : 1579-4377.

Gupta N, Reddy SV, Maiti S, Ghosh A. 2000. Cloning, Expression and sequence Analysis of The Gene Encoding the Alkali-Stable, Thermostable Endo-1,4- β -xylanase from Alkaliphilic, Mesophilic *Bacillus* sp. Strain NG-27, *Appl. Environ. Microbiol.* 66:2631-2635.

Hilge M, Gloor S, Winterhalter K, Zimmermann W, Piontek K. 1996. Crystallization and Preliminary Crystallographic Analysis of Two β -Mannanase Isoform from *Thermotomonospora fusca* KW3, *Acta Cryst. D* 52:1224-1225.

Horikoshi K. 1999. Alkaliphilic : Some Applications of their Products for biotechnology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 63: 735-750

Kulkarni NA, Shendye, dan Rao M. 1999. Molecular and biotechnological aspects of xylanases. *FEMS. Microbiol. Rev.*, 23: 411-456.

Nanmori T, Watanabe T, Shinke R, Kohno A and Kawamura Y. 1990. Purification and properties of thermostable xylanase and β -xylosidase produced by a newly isolated *Bacillus stearothermophilus* strain, *J. of Bact.*, 172: 6669-6672.

Ni Nyoman Tri Puspaningsih. 2002. Pemurnian dan Karakterisasi Enzim Xilanolitik dari *Bacillus thermoleovorans* IT-08, Penelitian S3-IPB Bogor dan JSPS-Short-course Program, Juli-Oktober, Osaka Prefecture University, Jepang

Ni Nyoman Tri Puspaningsih. 2003. Kloning Gen Penyandi Enzim Xilanolitik di *E. coli* DH5 α , Penelitian S3-IPB, Bogor dan JSPS-Short Course Program, September-November, Mie University, Jepang.

Ni Nyoman Tri Puspaningsih dkk. 2005 dan 2006. Kloning, Over-ekspresi Gen Penyandi Enzim Xilanolitik di sistem pET101/D-TOPO, KNAW Mobility Program, The Netherlands

Ni Nyoman Tri Puspaningsih dkk, 2005 dan 2006. Degradasi Limbah Kelapa Sawit dengan Enzim Xilanolitik Rekombinan, Penelitian RUT XII (berakhir 2006), Menristek, Jakarta

Saha BC. 2003. Hemicellulose bioconversion, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 30: 279-291.

Schwarz HW, Adelsberger H, Jauris S, Herte C, Funk B, Staudenbauer LW. 1990. Xylan Degradation by The Thermophilic *Clostridium stercorarium* : Cloning and Expression of Xylanase, β -D-xylosidase, and α -L-arabinofuranosidase Genes in *Escherichia coli*, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 170 : 368-374

Shallom D, Belakhov V, Solomon D, Shoham G, Baasov T, Shoham Y.2002. Detailed Kinetic Analysis and Identification of the Nucleophile in α -L-arabinofuranosidase from *Geobacillus stearothermophilus* T6, a Family 51 Glycoside Hydrolase, *J.Biol.Chem.*, 277: 436667-43673.

BAB III

PROSEDUR DAN METODOLOGI

3.1. Metodologi

3.1.1. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan selama 10 bulan, dimulai pada bulan februari sampai dengan Nopember 2009

3.1.2. Tempat penelitian

1. Laboratorium Proteomik, Lembaga Penyakit Tropis, Universitas Airlangga, Surabaya
2. Laboratorium Pengujian PTPN X, Pusat penelitian Gula, Kediri, Jawa Timur
3. Laboratorium Pakan ternak, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

3.1.3. Sampel penelitian

1. Enzim xilanolitik termofilik rekombinan (pTP510, pET-abfa, pET-abfa) yang merupakan koleksi peneliti utama
2. Enzim mesofilik selulase dan endo-xilanase asal rumen sapi hasil penelitian salah satu anggota peneliti (Mirni Lamid)
3. Bahan baku limbah medium jamur dari PT Etirta Timur Raya, Pasuruan, Jawa Timur sebagai bahan baku pupuk organik

3.1.4. Prosedur kerja

1. **Produksi koleksi enzim lignoselulase termofilik maupun mesofilik dari galur lokal terseleksi.**

Tim Pengusul telah memiliki enzim hemiselulase rekombinan maupun non-rekombinan yang bersifat termofilik. Enzim hemiselulase dan selulase non-rekombinan yang bersifat mesofilik juga telah dihasilkan oleh tim pengusul. Enzim diproduksi menggunakan media teridentifikasi (*defined medium*).

2. Formulasi enzim lignoselulase tunggal dan konsorsium mesofilik maupun termofilik

Formulasi enzim hemiselulase dan selulase mesofilik maupun termofilik secara tunggal maupun konsorsium dilakukan dengan memvariasi unit aktivitas enzim tunggal dan konsorsiumnya. Formulasi tersebut juga disesuaikan dengan aplikasi di lapangan baik sebagai campuran pakan ternak maupun pupuk.

3. Lokakarya penggunaan enzim lignoselulase kepada masyarakat dan *stakeholder* , khususnya wilayah Jawa Timur

Kegiatan lokakarya dilakukan dengan rangkaian kegiatan sosialisasi produk enzim lignoselulase kepada para pengguna bagi pemahaman peran enzim tersebut yang akan diaplikasikan oleh para pengguna (masyarakat, *stakeholder*)

4. Mekanisme Difusi

Mekanisme difusi pengenalan teknologi enzim kepada masyarakat petani dan peternak, khususnya di wilayah Jawa Timur akan dilakukan dengan melakukan kunjungan ke beberapa industri pupuk organik dan juga peternak. Harapannya komersialisasi produk enzim lokal dalam industri pakan ternak dan pupuk organik akan mampu mengatasi permasalahan ketersediaan produk pertanian maupun peternakan di dalam mengantisipasi masalah ketahanan pangan nasional. Selain itu, meningkatkan nilai ekonomi satuan usaha akademik bagi perguruan tinggi, khususnya Universitas Airlangga.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Enzim Lignoselulase dalam Pembuatan Pupuk Organik

4.1.1. Proses Pengomposan Secara Aerobik

Pada saat pertama kali bahan kompos tertumpuk, suhu dan pH-nya masih sama dengan kondisi lingkungan yaitu $\text{pH} \pm 6$ dan suhu rata-rata $18^{\circ}\text{C} - 25^{\circ}\text{C}$ tergantung pada lokasi pembuatannya. Masing-masing bahan organik yang tertumpuk ini mengeluarkan panas. Panas tertinggi akan berada atau terkumpul pada bagian tengah tumpukan bahan atau disebut *hot spot*. Panas ini akan menyebar dan mengeluarkan kandungan air pada bahan sehingga kelembapan bahan meningkat. Akibatnya, tercipta kondisi lingkungan yang sedikit demi sedikit menguntungkan bagi kehidupan mikroorganisme pada bahan. Setelah beberapa hari, mikroorganisme sudah memulai aktivitasnya dalam bahan sehingga suhu meningkat dan pH turun (menjadi asam).

Pengomposan aerobik berjalan dengan kondisi terbuka. Dalam hal ini, udara bebas bersentuhan langsung dengan bahan kompos. Pengontrolan terhadap kadar air, suhu, pH, kelembapan, ukuran bahan, volume tumpukan bahan dilakukan secara intensif untuk mempertahankan proses pengomposan agar stabil sehingga diperoleh pengomposan yang optimal baik kualitas maupun kecepatannya. Selain itu, untuk memperlancar udara masuk ke dalam bahan kompos maka dilakukan dengan proses aerasi secara intensif yaitu pembalikan tumpukan bagian atas menjadi bagian bawah dan sebaliknya serta dilakukan pemberian lubang pada plastik penutup. Faktor kualitas dan kecepatan sangat menentukan kredibilitas suatu usaha yang bergerak di bidang komposting karena mempengaruhi biaya operasional. Hasil akhir pengomposan aerobik berupa bahan yang menyerupai tanah berwarna hitam dan kecoklatan, remah dan gembur, suhunya normal dan cenderung konstan.

Kadar air bahan yang diinginkan dalam pengomposan aerobik adalah 40 -50%. Kondisi ini harus dijaga agar mikroorganisme aerobik dalam kompos dapat bekerja baik dan tidak mati. Kadar air yang sesuai sangat membantu

pergerakan mikroba dalam bahan, transportasi makanan untuk mikroba. Terlalu banyak kadar air akan berakibat bahan semakin padat, melumerkan sumber makanan yang dibutuhkan mikroba dan memblokir oksigen untuk masuk. Namun apabila air terlalu sedikit maka bahan menjadi kering dan tidak mendukung kehidupan mikroba. Cara sederhana untuk mengetahuinya adalah dengan mengambil bahan dan meremasnya dalam genggaman. Bahan kompos dapat dikepal meskipun hancur lagi. Pada saat kompos ditumpuk, maka titik panas yang tertinggi berada di bagian tengah tumpukan. Hal ini mengakibatkan mikroorganisme pada bagian tengah lebih aktif sehingga penguapan yang terhebat terjadi pada bagian ini. Oleh karena itu, pengontrolan suhu dan kelembaban dilakukan secara intensif pada bagian tengah tumpukan. Apabila bahan menjadi kering, mikroorganisme sukar melakukan aktivitas pengomposan dan suhu biasanya akan turun. Pada Penelitian ini dilakukan proses pengomposan dalam 3 variasi yaitu, variasi pupuk : Pupuk A (Limbah media jamur + starter kotoran sapi dan BiomixZyme), Pupuk B (Limbah media jamur +starter BiomixZyme), dan Pupuk C (Limbah media jamur + ExcelZyme murni). Parameter-parameter yang diukur pada proses pengomposan pupuk organik dari limbah media jamur

1. Temperatur dan kelembapan

Suhu ideal untuk pengomposan aerobik adalah 45°C - 65°C. Suhu kompos organik dijaga agar tetap stabil dengan cara mengatur kadar air dalam proses aerasi. Sedangkan untuk kelembapan yang terbaik untuk proses pengomposan adalah 50 %- 60 %. Pada proses pengomposan pupuk organik dari limbah media jamur dilakukan pengontrolan suhu dan kelembapan permukaan tumpukan pupuk pada setiap hari. Dibawah ini data pengamatan suhu dan kelembapan pada ketiga variasi pupuk yaitu A, B, dan C :

Tabel 3. Hasil pengamatan suhu dan kelembapan pada Pupuk A, B, dan C

Hari ke-	Pupuk A		Pupuk B		Pupuk C	
	Suhu rata-rata (°C)	Kelembapan rata-rata (%)	Suhu rata-rata (°C)	Kelembapan rata-rata (%)	Suhu rata-rata (°C)	Kelembapan rata-rata (%)
1	47,5	-	47,5	-	-	-
2	46,75	-	41,5	-	38,75	75
3	45,25	67,5	43	55	37	60
4	39,75	57,5	39,25	52,5	38,25	57,5
5	36,875	55	37,125	75	37	57,5
6	38,5	75	39	72,5	36,75	55
7	35,5	57,5	35,5	55	35,5	72,5
8	35,5	65	37	65	34,5	70
9	34	65	34	70	34,75	57,5
10	32,5	65	32,75	65	32	57,5
11	32,25	60	32,75	80	-	-
12	32	60	32	65	-	-

Selain itu juga dilakukan pengukuran suhu dalam tumpukan pupuk pada bagian tengah yang diduga terjadi pegomposan yang lebih cepat yang menyebabkan titik panas tertinggi. Pengukuran suhu dalam dilakukan dengan membelah sedikit bagian puncak tumpukan dan mengukur suhu bagian tersebut. Dibawah ini merupakan data suhu dalam yang diperoleh dari ketiga variasi pupuk pupuk yang dilakukan setiap hari :

Tabel 4. Hasil pengamatan suhu (°C) dari pupuk A, B, dan C

Hari ke-	Suhu Dalam (°C)		
	Pupuk A	Pupuk B	Pupuk C
4	-	-	38,5
5	-	-	40
6	38	38,5	38,5
7	38	37	37

8	38	36,5	36,75
9	37	34,5	36,5
10	35	34,25	34,5
11	34,5	35	-
12	32,5	34	-

2. Derajat keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) yang terbaik untuk proses pengomposan aerobik adalah pada kondisi pH netral. Untuk komposting aerobik pH berkisar antara 6-8. Kondisi asam pada proses pengomposan biasanya diatasi dengan pemberian kapur. Namun pemantauan suhu dan perlakuan dengan membolak-balikkan bahan kompos secara tepat waktu dan benar sudah dapat mempertahankan kondisi pH tetap pada titik netral. Dengan demikian, proses pengukuran pH setiap waktu tidak perlu dilakukan. Setelah proses pengomposan selesai pupuk organik dilakukan uji derajat keasaman (pH) dengan menggunakan pH indikator, diperoleh pH netral yaitu 7.

3. Aerasi

Udara mutlak diperlukan oleh mikroba aerobik. Pada komposting aerobik dikondisikan agar setiap bagian kompos mendapatkan suplai udara yang cukup. Suhu kompos yang meningkat akan membuat bahan hancur dengan cepat dan akhirnya memadat. Kurangnya oksigen dapat juga disebabkan oleh kelembaban bahan terlalu tinggi sehingga bahan melekat satu sama lain. Pematatan pada bahan ini akan menghambat suplai O_2 yang dibutuhkan mikroba. Akibatnya mikroba tidak dapat bertahan hidup. Agar aerasi lancar, pengomposan dilakukan ditempat terbuka sehingga udara dapat masuk dari berbagai sisi dan secara berkala dilakukan pembalikan kompos.



Gambar 3. Proses Komposting

Hal yang dilakukan untuk tahapan awal proses pengomposan yaitu :

1. Penentuan lokasi pengomposan
2. Pengaturan ukuran bahan
3. Penumpukan di daerah pengomposan
4. Perlakuan selama proses pengomposan
5. Finishing (pematangan)
6. Pengayakan (penyaringan)

4.1.2. Penentuan lokasi pengomposan

Lokasi pengomposan yang dipilih pada pembuatan pupuk organik dari limbah media jamur adalah rumah kaca. Pemilihan lokasi ini disebabkan karena rumah kaca beratap untuk melindungi kompos dari sinar matahari dan air hujan. Sinar matahari dan air hujan yang mengenai kompos secara langsung akan mempengaruhi kadar air bahan sehingga kompos dapat menjadi terlalu kering atau terlalu basah. Hal ini dapat mempengaruhi kehidupan bakteri dan menghambat bakteri aerobik dapat bertahan hidup. Lokasi penyemprotan ini mempunyai drainase yang baik karena lantainya berupa tanah yang dapat menyerap air. Sehingga tidak menyebabkan terdapatnya genangan air dari sisa-sisa air siraman yang turun ke dasar yang dapat mematikan bakteri aerobik pada bagian dasaran bahan.

4.1.3. Pengaturan ukuran bahan

Semakin kecil ukuran bahan, proses penyemprotan akan lebih cepat dan lebih baik karena mikroorganisme lebih mudah beraktivitas dan membentuk koloni pada bahan yang sudah lembut (substrat) daripada bahan dengan ukuran besar. Sehingga pada penelitian ini digunakan bahan media jamur yang sudah digiling dan diserbukkan sehingga mikroorganisme lebih mudah mencernanya.



Gambar 4. Pencampuran bahan

4.1.4. Penumpukan di daerah pengomposan

Penumpukan bahan pengomposan sebaiknya tidak terlalu tipis, begitu juga lebar dan panjangnya. Apabila tumpukan terlalu tipis, kelembaban akan cepat berkurang tumpukan bahan tidak perlu dipadatkan karena pemadatan akan membuat sirkulasi udara terhambat dan tumpukan tipis akan mempercepat penguapan. Selanjutnya, tumpukan bahan disiram dengan air apabila tumpukan bahan kering dan dibolak-balikkan apabila terlalu besar. Pada tumpukan tersebut diberikan celah atau lubang untuk sirkulasi udara sehingga pada bagian dalam akan mendapatkan suplai oksigen bagi bakteri arobik.

Selain itu, pada tumpukan ini juga ditutup dengan plastik yang berlubang untuk mengurangi proses penguapan oleh sinar matahari dan terhindar dari air hujan.

4.1.5. Perlakuan selama proses pengomposan

Selama proses pengomposan beberapa perlakuan perlu dilakukan agar proses pengomposan dapat berlangsung optimal sehingga dihasilkan kompos

dengan kualitas baik dalam waktu relatif cepat. Pemeliharaan kondisi suhu, kelembapan, pematangan dan pengayakan.

4.1.6. Finishing (pematangan)

Tahap finishing (pematangan) adalah tahap perlakuan lanjutan setelah bahan dinyatakan "sudah menjadi kompos". Tanda-tanda bahan sudah menjadi kompos adalah sebagai berikut.

- Bahan menyerupai tanah, berwarna coklat tua kehitaman.
- Suhu bahan tidak dapat naik lagi atau suhu cenderung turun dan menjadi stabil kurang dari 32°C selama sehari-hari yang merupakan suhu lingkungan.
- Terjadi penyusutan berat hingga mencapai 50% dari berat awal.

Finishing ini dilakukan untuk meyakinkan bahwa kompos benar-benar sudah matang dan aman digunakan untuk tanaman. Apabila suhu cenderung turun selama hari tersebut, hingga kurang dari 35°C, berarti kompos sudah mencapai fase pendinginan atau matang.

Apabila suhu kompos masih naik, berarti masih ada sisa-sisa bahan yang belum matang sehingga pembalikan masih perlu dilakukan kembali. Jika kondisinya demikian, kompos jangan digunakan sebelum masuk fase pendinginan. Suhu kompos harus dipastikan tidak naik lagi, yaitu tetap kurang dari 35°C. Setelah yakin bahwa kompos sudah matang maka kompos dapat digunakan pada tanaman secara langsung atau dikemas untuk dijual.

4.1.7. Pengayakan (penyaringan)

Pengayakan bertujuan untuk mendapatkan kualitas kompos yang baik, yaitu ukuran butiran kompos yang seragam. Pengayakan dilakukan dengan bantuan alat pengayak (penyaring) yang sederhana. Ukuran lubang penyaringan bervariasi 1 mm x 1 mm hingga 5 mm x 5 mm. Semakin kecil ukuran lubangnya maka kompos yang didapatkan semakin halus. Hal ini tergantung selera dan permintaan.

4.1.8. Penjemuran (pengeringan)

Setelah dilakukan proses pengayakan kompos dan diperoleh ukuran serbuk, maka serbuk ini dikeringkan dengan bantuan sinar matahari. Dan kompos yang sudah kering ini siap untuk digranul.



Gambar 5. Tahapan pengeringan pupuk organik

4.1.9. Proses penggranulan pupuk

Kompos yang sudah matang hendaknya dikemas yang disesuaikan dengan permintaan para pengguna. Biasanya pupuk kompos disajikan dalam bentuk granul, hal ini disebabkan karena pupuk kompos dengan bentuk granul ini memudahkan dalam proses penggunaan pupuk dalam tanaman. Pupuk bentuk granul memiliki kelebihan dibandingkan dalam bentuk serbuk, yaitu jika pupuk kompos dalam bentuk serbuk diaplikasikan dengan cara disebar maka akan mengalami kesulitan dibandingkan bentuk granul.



Gambar 6. Tahapan granulisasi pupuk organik

4.1.10. Hasil Analisis Pupuk Organik

Pupuk Organik A, B, dan C yang telah dihasilkan, selanjutnya dilakukan analisis fisiko-kimia di PT Perkebunan Nusantara X, Pusat penelitian Gula, Kediri, Jawa Timur. Hasil analisis tertera dalam Tabel 5 berikut.

Tabel 5. Hasil uji mutu pupuk A, B, dan C

No.	Uraian	N (%)	P ₂ O ₅ (%)	K ₂ O (%)	BO (%)	pH H ₂ O	C/N ratio
1.	Kompos A	1,78	3,15	3,77	26,91	7,16	15
2.	Kompos B	1,40	2,36	1,83	19,84	7,08	14
3.	Kompos C	1,16	2,01	3,23	19,37	7,06	17
4.	Serbuk Awal	1,69	3,61	4,64	26,00	7,38	15

Hasil analisis menunjukkan bahwa penambahan pupuk A (limbah media jamur + kotoran sapi + Starter Biomixzyme) memberikan hasil yang baik bila dibandingkan pupuk B dan C. Hal ini menunjukkan bahwa enzim lignoselulase yang ditambahkan dalam campuran starter memberikan kualitas lebih baik dibandingkan hanya ditambahkan enzim saja tanpa starter (pupuk C). Keberadaan kotoran sapi tetap diperlukan sebagai stimulant dalam proses aktivasi pengkomposan.

4.2. Enzim Lignoselulase dalam Formulasi Pakan Ruminansia

Penelitian menggunakan sampel isolat bakteri lignoselulolitik yang berasal dari cairan rumen sapi potong, dan jerami padi IR-64. Enzim lignoselulase diproduksi dari isolat bakteri lignoselulolitik yang telah diuji aktivitasnya dengan gula pereduksi dengan metode Miller (1960). Bahan untuk pakan lengkap : jerami padi yang sudah diolah, bungkil kopra, tepung ikan, dedak, cairan bakteri lignoselulolitik, mineral, urea, tetes.

Tabel 6. Komposisi Kimia Jerami Padi

Kandungan Nutrisi	Jerami Padi
Bahan Kering (%)	95.39
Serat Kasar (%)	33.53
Protein Kasar (%)	5.46
Abu ((%)	20.43
Bahan Organik (%)	74.96

4.2.1. Potensi Enzim Lignoselulase pada Biodegradasi Jerami Padi dengan Waktu Inkubasi Berbeda

Jerami padi dipotong potong (dicacah) 2 - 5 cm dan ditimbang masing-masing seberat 1 kg. Selanjutnya jerami padi disemprot larutan enzim lignoselulase secara merata dengan level persentase berbeda sebagai berikut : P0 = jerami padi (kontrol) ; P1 = jerami padi + 5 % enzim lignoselulase; P2 = jerami padi + 10 % enzim lignoselulase; P3 = jerami padi + 15 % enzim lignoselulase

Faktor pemeraman dibagi dalam 4 taraf variasi waktu :

T1 = tanpa pemeraman (0 hari); T2 = perlakuan pemeraman 3 hari; T3 = perlakuan pemeraman 5 hari; T4 = perlakuan pemeraman 7 hari

Perlakuan ini menggunakan percobaan faktorial 4 x 4 dengan 2 ulangan, sehingga diperoleh $4 \times 4 \times 2 = 32$ perlakuan

4.2. 2. Formulasi pakan lengkap

Formulasi pakan lengkap tertera pada tabel 7 berikut.

Tabel 7. Komposisi bahan pakan lengkap

Bahan	Hijauan : Konsentrat 50% : 50% (PL1)	Hijauan : Konsentrat 60% : 40% (PL2)	Hijauan : Konsentrat 70% : 30% (PL3)
J padi terolah	50	60	70
Dedak	27,5	20	6
Bungkil kopra	10	11	8

Tepung ikan	9,5	11	14
Tetes	2,0	2	1
Urea	0,5	0,5	0,5
Mineral	0,5	0,5	0,5
Total	100	100	100
Kandungan protein	8,58%	8,51%	8,57%

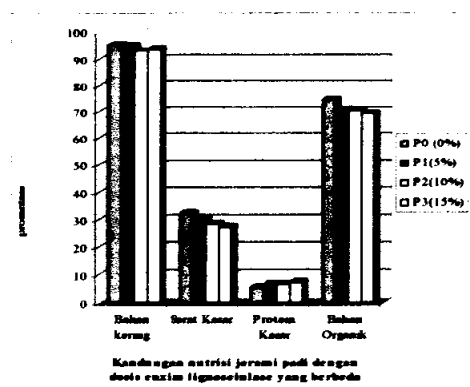
Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap, 3 perlakuan dengan 7 ulangan yang terdiri dari : PL1 = 50 Hijauan + 50 % konsentrat; PL1 = 60 Hijauan + 40 % konsentrat; PL1 = 70 Hijauan + 30 % konsentrat. Semua pakan perlakuan diberi dosis 15% (campuran enzim + isolat bakteri), selanjutnya diperam selama 1 minggu.

Hasil penelitian ditunjukkan oleh Tabel 8 dan Gambar 7 berikut ini.

Tabel 8. Kandungan nutrisi jerami padi dengan dosis enzim lignoselulase yang berbeda

Dosis enzim	Bahan kering	Serat Kasar	Protein Kasar	Bahan Organik
P0 (0%)	95,30 ^b	32,14 ^d	5,62 ^a	74,68 ^c
P1(5%)	95,02 ^b	30,22 ^c	6,62 ^b	70,98 ^b
P2(10%)	93,09 ^a	28,43 ^b	6,63 ^b	70,35 ^{ab}
P3(15%)	93,81 ^a	27,24 ^a	7,45 ^c	69,46 ^a

a,b,c,d superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0.05$)

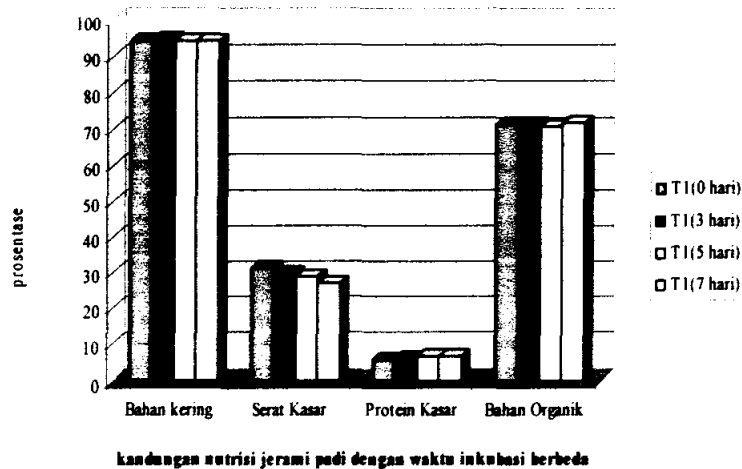


Gambar 7 . Kandungan nutrisi jerami padi dengan dosis enzim lignoselulase yang berbeda

Tabel 9. Kandungan nutrisi jerami padi dengan waktu inkubasi berbeda

Dosis enzim	Bahan kering	Serat Kasar	Protein Kasar	Bahan Organik
T1(0 hari)	94,25	31,67 ^c	6,10 ^a	71,46
T1(3 hari)	94,75	29,93 ^b	6,48 ^b	71,38
T1(5 hari)	93,96	29,08 ^b	6,75 ^{bc}	70,91
T1(7 hari)	94,25	27,36 ^a	7,00 ^c	71,71

^{a,b,c} superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0.05$)

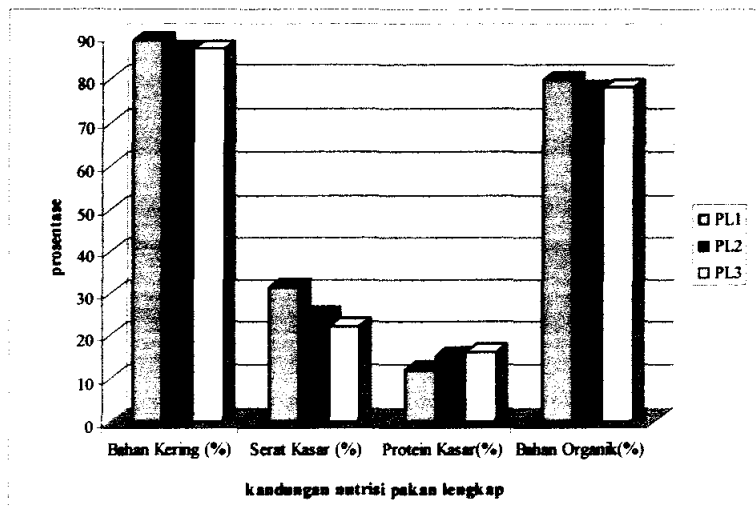
**Gambar 8. Kandungan nutrisi jerami padi dengan waktu inkubasi berbeda****Tabel 10. Komposisi Kimia Jerami Padi**

Kandungan Nutrisi	Jerami Padi	Jerami Padi + Enzim lignoselulase
Bahan Kering (%)	95,39	92,37
Serat Kasar (%)	33,83	24,14
Protein Kasar (%)	5,46	7,47
Abu ((%)	20,43	20,33
Bahan Organik (%)	74,96	72,03

Tabel 11. Kandungan nutrisi pakan lengkap dengan rasio hijauan dan konsentrat berbeda

Peralakuan	Bahan Kering (%)	Serat Kasar (%)	Protein Kasar(%)	Bahan Organik(%)
PL1	89,06 ^b	31,48 ^a	12,04 ^a	79,87
PL2	86,90 ^b	24,87 ^b	15,26 ^b	77,64
PL3	87,16 ^a	22,24 ^a	16,16 ^b	78,04

^{a,b,c}superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0.05$)



Gambar 9. Kandungan nutrisi pakan lengkap dengan rasio hijauan dan konsentrat berbeda

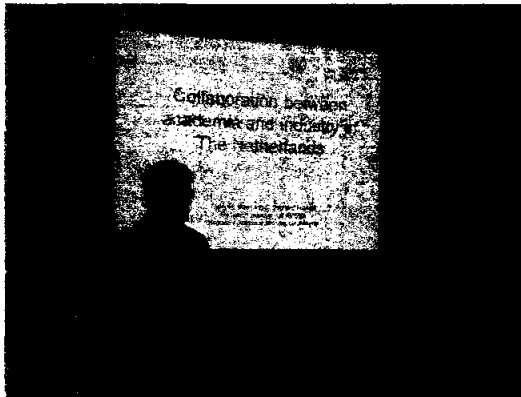
4.3. Lokakarya penggunaan enzim dalam pembuatan pupuk organik dan pakan ternak

Diseminasi hasil penelitian penggunaan enzim lignoselulase dalam campuran pupuk organik dan pakan ternak telah dilakukan melalui :

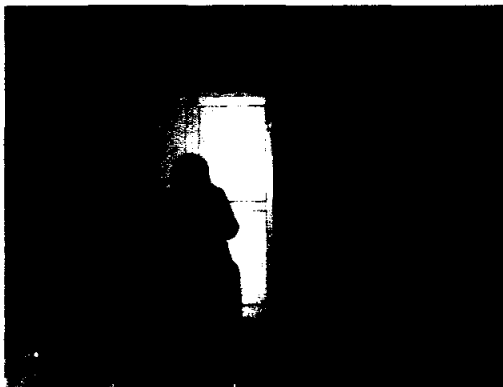
1. Kunjungan ke PT Pupuk Kaltim, Bontang, Kalimantan Timur
2. Kunjungan Ke PT Petro-organik, Petrokimia, Gresik, Jawa Timur
3. Kunjungan ke PT Etira Timur raya, industri jamur putih, Pasuruan, Jawa timur
4. Kunjungan ke peternak Sidoarjo, Jawa Timur

Selain kunjungan tersebut, juga diselenggarakan Lokakarya dengan tema **Enzim sebagai Komoditi Agrobisnis menuju Industri Hijau** pada tanggal 13 Oktober 2009. Lokakarya dihadiri oleh perwakilan dari Pemkab Bontang, Bojonegoro, Jombang, Mojokerto, dan Sidoarjo. Selain itu juga hadir perwakilan dari PT Sorini, PT Pupuk Kaltim, PT Pupuk Kujang, PT Etira Timur Raya. Dalam kegiatan tersebut jug hadir pembicara tamu dari University of Groningen, prof. Marck van der Maarel yang sekaligus sebagai Manager AVEBE Food Belanda. Beliau menyampaikan strategi kerjasama antara Perguruan Tinggi dan Industri yang sangat penting dalam pengembangan industri di Indonesia. Selain pembicara tamu, maka tim peneliti juga mempresentasikan hasil penelitiannya. Selsai lokakarya, para undangan diberi sampel enzim dan pupuk untuk diujicobakan di laboratorium masing-masing. Antusiasme peserta terlihat dari tindak lanjut komunikasi setelah acara lokakarya, yaitu rencana kerjasama Unair dengan PT Pupuk kaltim dalam pengembangan Pupuk Organik, demikian pula dengan rencana uji coba enzim di PT Pupuk Kujang.

(A).



(B).



Gambar 10. Kegiatan Lokakarya.
 (A). Presentasi oleh Prof. Marc van der Maarel ,
 (B). Peserta Lokakarya, dan
 (C). Presentasi oleh salah satu tim peneliti oleh Dr. Mimi Lamid.

BAB V

KESIMPULAN

1. Enzim lignoselulase dapat meningkatkan kualitas pupuk organik dan pakan ternak ruminansia
2. Dosis enzim lignoselulase 15% dalam formulasi pakan ruminansia dapat meningkatkan kandungan protein dan menurunkan kandungan serat kasar, dengan waktu pemeraman 5 hari
3. Rasio hijauan : konsentrat 70:30 dan 60:40 dengan penambahan campuran enzim dan isolat bakteri lignoselulase 15%, dan waktu pemeraman 14 hari dapat meningkatkan kualitas pakan lengkap untuk ternak ruminansia
4. Produk enzim lignoselulase untuk diaplikasikan dalam campuran pupuk organik dan pakan ternak telah didaftarkan patent dengan No.D002009029534

LAMPIRAN



**PT. PERKEBUNAN NUSANTARA X (PERSERO)
PUSAT PENELITIAN GULA**

**LABORATORIUM PENGUJIAN TANAH DAN PUPUK
ANALYTICAL LABORATORIES FOR SOIL AND FERTILIZER
P.O BOX 6 Kediri - Jawa Timur 64131
Telp./ Fax : 0354 - 441928 e-mail : puslitbang_gula@plasa.com**

**HASIL ANALISA
REPORT OF ANALYSIS**

NO. : 05
OUR REF : P.22/09.06/X1
No. Order

The sample was submitted by customer with the following identification :
Contoh disampaikan oleh pelanggan dengan keterangan sebagai berikut

CUSTOMER : Gyta D. F. Dewi (Mahasiswi UNAIR)
Pelanggan

TYPE OF SAMPLE : Kompos
Jenis Contoh

RECEIVED ON : 21 Maret 2009
Tgl. Penerimaan

TEST REQUIRED : N,P,K BO,C/N Ratio, KA
Analisa/Uji yang diminta

DESCRIPTION OF SAMPLE : Kemasan yang dikirim dalam bentuk tas plastik,
Keterangan Contoh pupuk berbentuk powder kasar

SAMPLE IDENTIFICATION : 6 (enam) contoh
Identifikasi Contoh

DATE OF REPORT ISSUED : 04 April 2009
Tgl. Penerbitan Report

NO. OF PAGE INCLUDING COVER : 2 (dua) halaman
Jml. Hal. termasuk hal muka

REPORT OF ANALYSIS : Terlampir
Hasil Analisa

Page : 1 of 2

This report shall not be reproduced without the written approval from Puslit Gula
Laporan ini dilarang diperbanyak tanpa persetujuan tertulis dari Puslit Gula

F. HA - 3



**PT. PERKEBUNAN NUSANTARA X (PERSERO)
PUSAT PENELITIAN GULA**

No. : 05

Page : 2 of 2

**HASIL ANALISA
REPORT OF ANALYSIS**

NO	URAIAN	N %	P205 %	K2O %	BO %	PH H2O	C/N RATIO	KA 105°C
1	Kompos A	1.78	3.15	3.77	26.91	7.16	15	58.82
2	Kompos B	1.40	2.36	1.83	19.84	7.08	14	-
3	Kompos C	1.16	2.01	3.23	19.37	7.06	17	-
4	Kompos D	1.10	2.01	2.24	17.23	7.18	16	-
5	Serbuk Awal	1.69	3.61	4.64	26.00	7.38	15	63.08
6	TKKS	0.75	0.45	2.90	15.49	8.15	21	0

Ket. Metode Analisa :

- pH H2O : pH meter
- Bahan organik : Walkey & Black
- NPK pupuk organik : Destruksi (kjeldhal, spektrophotometer, flamephotometer)
- Kadar Air : Oven 105°C 4 jam

PT. PERKEBUNAN NUSANTARA X (PERSERO)
Pusat Penelitian Gula
Laboratorium Pengujian Tanah dan Pupuk

Ir. Budi Walujo
 Manager Puncak

Hasil analisa hanya berlaku untuk contoh yang bersangkutan

This report shall not be reproduced without the written approval from Puslit Gula
 Laporan ini dilarang diperbanyak tanpa persetujuan tertulis dari Puslit Gula

F. HA - 3



KESEPAKATAN KERJASAMA PENELITIAN

Antara

**PT. EKA TIMUR RAYA,
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

dan

PT. BERKAH TANI MAKMUR

Perjanjian kerjasama dibuat pada hari Rabu, tanggal 04 Februari 2009, yang selanjutnya disebut dengan **"PERJANJIAN KERJASAMA"**

antara

PT. EKA TIMUR RAYA (selanjutnya disebut dengan **PIHAK PERTAMA**), sebuah perusahaan yang bergerak di bidang produksi dan pengolahan jamur, beralamat di Jl. Raya Nongkojajar Km. 1,4 Purwodadi, Pasuruan.

UNIVERSITAS AIRLANGGA (selanjutnya disebut dengan **PIHAK KEDUA**), beralamat di Jl. Mulyorejo, Kampus C Unair, Surabaya 60111

dan

PT. BERKAH TANI MAKMUR (selanjutnya disebut dengan **PIHAK KETIGA**), sebuah perusahaan yang bergerak di bidang Agrobisnis dan Perdagangan Umum, beralamat di Jl. Jemur Andayani No. 3, Surabaya

PASAL 1

MAKSUD DAN TUJUAN

1. Maksud **"KESEPAKATAN KERJASAMA"** adalah memberikan landasan bagi upaya mensinergikan potensi dan kemampuan yang dimiliki oleh masing-masing **PIHAK** dalam pengembangan teknologi dan aplikasinya dalam kegiatan produksi pupuk.
2. Tujuan **"KESEPAKATAN KERJASAMA"** adalah untuk melakukan kerjasama dalam kegiatan penelitian pembuatan pupuk dari bahan baku media produksi jamur.

PASAL 2

RUANG LINGKUP

Ruang lingkup kerjasama meliputi hal-hal sebagai berikut :

1. Penyediaan BiomixZyme dan Biokultur lainnya untuk produksi pupuk
2. Penyediaan bahan baku organik dari sisa media budidaya jamur
3. Riset produksi pupuk dari media sisa budidaya jamur menggunakan BiomixZyme
4. Pilot plan produksi pupuk dari media produksi jamur berbasis media sisa budidaya jamur menggunakan BiomixZyme.

PASAL 3
IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
PERAN MASING-MASING PIHAK

1. Peran **PIHAK PERTAMA** :

- a. Menentukan tema penelitian
- b. Menyediakan dana penelitian
- c. Menyediakan peralatan pilot plan
- d. Menyediakan lahan percobaan

2. Peran **PIHAK KEDUA** :

- a. Menyediakan sarana dan prasarana yang diperlukan sebatas dimiliki
- b. Menyediakan BiomixZyme dan Biokultur lainnya sebagai bahan campuran pembuatan pupuk.
- c. Menyediakan tenaga peneliti
- d. Menyediakan dana produksi BiomixZyme untuk tahap penelitian
- e. Melaksanakan penelitian

3. Peran **PIHAK KETIGA** :

- a. Menyediakan lahan percobaan
- b. Menyediakan dana penelitian terkait percobaan lapangan

PASAL 4

PELAKSANAAN PENELITIAN

Tim pelaksana penelitian dari **PIHAK PERTAMA** diketuai oleh Assisten Direktur PT. Eka Timur Raya, **Maryono Budi Harjono**, **PIHAK KEDUA** diketuai oleh Dosen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, **Dr. Ni Nyoman Tri Puspaningsih,MSi**, dan **PIHAK KETIGA** diketuai oleh Direktur PT Berkah tani Makmur, **H.R. Muhammad Faried,SH**

PASAL 5

HAK KEPEMILIKAN HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian menjadi hak milik bersama yang selanjutnya dalam aplikasi dan implementasi masing-masing pihak akan tetap menjalin kerjasama.

PASAL 6

HAK PUBLIKASI HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian dapat dipublikasikan secara ilmiah oleh **PIHAK KEDUA** (sebagai **AUTHOR**) sebagai bagian dari kegiatan Tri Dharma Perguruan Tinggi dengan tetap mencantumkan nama tim **PIHAK KEDUA** dan **PIHAK KETIGA** (**CO-AUTHOR**)

PASAL 7

TINDAK LANJUT PELAKSANAAN

Pelaksanaan **KESEPAKATAN KERJASAMA** ini akan dituangkan dan diatur lebih lanjut dalam perjanjian-perjanjian pelaksanaan tersendiri, yang dibuat dan ditandatangani oleh masing-masing **PIHAK**.

PASAL 8**JANGKA WAKTU**

1. **PERJANJIAN KERJASAMA** ini berlaku untuk jangka waktu 3 (tiga) tahun kalender terhitung sejak tanggal ditandatangani **PARA PIHAK** dan dapat diperpanjang berdasarkan persetujuan bersama **PARA PIHAK**
2. Apabila dianggap perlu, masing-masing **PIHAK** dapat mengajukan pemutusan/pengakhiran **PERJANJIAN KERJASAMA** ini, dengan terlebih dahulu **PIHAK** yang hendak memutuskan **PERJANJIAN KERJASAMA** harus memberitahukan maksud tersebut secara tertulis kepada **PIHAK** lainnya selambat-lambatnya 3 (tiga) bulan sebelum tanggal pemutusan/pengakhiran yang dikehendaki untuk disetujui oleh **PIHAK** lainnya

PASAL 9**PENYELESAIAN ATAS PERSELISIHAN**

Apabila terjadi perselisihan di kedua belah pihak, maka akan diselesaikan secara musyawarah dan kekeluargaan.

Demikian **PERJANJIAN KERJASAMA** ini ditandatangani oleh **PARA PIHAK** dalam rangkap 2 (dua) bermaterai cukup yang keduanya mempunyai kekuatan hukum yang sama.

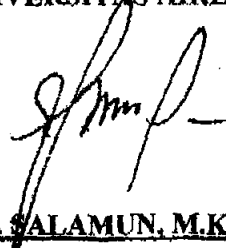
Pasuruan, 4 Februari 2008

PIHAK PERTAMA
PT. EKA TIMUR RAYA



CHOLID A. BAWASIER

PIHAK KEDUA
UNIVERSITAS AIRLANGGA



Drs. SALAMUN, M.Kes.

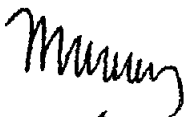
PIHAK KETIGA
PT BERKAH TANI MAKMUR



H.R. MUHAMMAD FARIED, SH.

SAKSI :

PIHAK PERTAMA
PT. EKA TIMUR RAYA



MARYONO BUDI HARJONO

PIHAK KEDUA
UNIVERSITAS AIRLANGGA



Dr. NI NYOMAN TRI
PUSPANINGSIH, MSi

PERMINTAAN PENDAFTARAN MEREK

* Tgl. Masuk : 04 SEP 2009	* Untuk Permintaan Merek : DAGANG
* No. Agenda 100.2009.029534	* Tgl. Penerimaan Permintaan :

Nama Kewarganegaraan dan alamat Pemilik Merek :
 UNIVERSITAS AIRLANGGA
 Jl. Darmawangsa Dalam Selatan 18, RT.010 / RW.002
 Kel. AIRLANGGA, Kec. GUBENG
 SURABAYA 60286

Nama dan alamat kuasa : -

Alamat yang dipilih di Indonesia : -
 (Diisi untuk pemilik merek yang tidak bertempat tinggal di Indonesia).

Nama Negara dan tanggal permintaan Pendaftaran merek yang pertama kali (Diisi untuk permintaan pendaftaran yang diajukan dengan hak prioritas) : -

Warna-warna etiket :
Hitam, Biru dan Kuning

Arti bahasa/huruf/angka asing dalam etiket merek :
EXCELZYME = Suatu Penamaan

Kelas barang/jasa : 1

Etiket merek

Jenis barang/jasa :
Hasil-hasil kimia untuk industri pupuk dan pupuk pertanian.

* diisi oleh kantor merek

Surabaya, Tgl. 4 September 2009

Pemilik / Kuasa



Tanda tangan :
 Nama lengkap : **H. FASICH, DR.**

Lampiran Tanda Terima
 Kepala Seksi Perencanaan

SYARIFUDDIN, S.T.M.H.
 NIP. 040 077 008

TANDA TERIMA

PERMOHONAN PENDAFTARAN MEREK

No. Permohonan	D002009020534	Tanggal Pengajuan Permohonan	04.09.2009
Jenis Permohonan	Dagang		

Permohon	UNIVERSITAS AIRLANGGA		
Alamat	Jl. Darmawangsa Dalam Selatan 18 RT. 010 RW. 002, Kel. Airlangga, Kec. Gubeng Surabaya		
Telepon		Fax	PostCode 60286
Email			

Kuasa Hukum []			
Alamat			
Telepon		Fax	PostCode
Email			

Merek	EXCELZYME		
Kelas Barang / Jasa	01		

- Surat Permohonan Pendaftaran Merek
- Surat Pernyataan Kepemilikan Merek
- 25 Lembar Etiket Merek
- Salinan Akte Yang Telah Dilegatisasi/TBN (Tambahan Berita Negara)
- Surat Kuasa Bermeterai Cukup
- Bukti Pembayaran
- Bukti Prioritas Asli
- Terjemahan Dari Bukti Prioritas
- Salinan Peraturan Penggunaan Merek Kolektif Dan Terjemahan
- Foto Copy KTP

Selanjutnya biaya yang telah dibayar sebesar : Rp. 600 000,-

Tangerang, 4 September 2009

Petugas Locket,

Kasir,

Rr. Tyasworo SA, S.H.
NIP. 04004196



JUNIATUN
NIP. 040058960

Jam : 12:24:33PM

Excelyzyme *Exsly*

Excelyzyme

EXCELYZYM