

# PENYISIHAN SENYAWA KLOOROLIGNIN oleh *Phanerochaete chrysosporium* dengan PENAMBAHAN JERAMI SEBAGAI CO-SUBSTRAT

Dwina Roosmini<sup>1)</sup>, V Sri Harjati Suharti<sup>2)</sup>, Kevin Triadi<sup>3)</sup>, Junianti Roslinda<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Kelompok Keahlian Teknologi Pengelolaan Lingkungan, FTSL – ITB (droosmini@bdg.centrin.net.id)

<sup>2)</sup>Sekolah Ilmu Teknologi dan Hayati ITB

<sup>3)</sup>Program Studi Teknik Lingkungan, FTSL-ITB

## ABSTRACT

*White rot fungi Phanerochaete chrysosporium strain BKM-F-1767 are known to have extra cellular enzyme that able to degrade chlorolignin. Previous study showed that high delignification ability of the fungi is not supported by dehalogenase processes. This study is done by using rice straw as carbon source for chloroklorolignin degradation. The study is conducted in batch culture with straw concentration of 3.2 g/L and 0.3 g/L for chloroklorolignin. The straws are varies in form of powder and chips. The enzymes activity are identified in liquid, solid and SDS-PAGE. By using SDS-PAGE the enzymes identified are molecular weight 42 kD and 29 kD which is indicating the occurrence of Klorolignin peroxidase (LiP) and active endoglucanase in 11th day. Positive result from solid media showed that Phanerochaete chrysosporium has an ability to degrade high molecular chloroklorolignin through enzymatic mechanism resulting from secondary metabolism reaction in generating H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.*

**Keywords:** Chlorolignin compound, *Phanerochaete chrysosporium*, LiP, rice straw, batch culture.,

## INTISARI

*Jamur Phanerochaete chrysosporium strain BKM-F-1767 diketahui memiliki enzim ekstraseluler yang mampu untuk mendegradasi senyawa kloroklorolignin. Studi terdahulu menunjukkan bahwa kemampuan delignifikasi yang tinggi oleh jamur ini tidak selalu didukung oleh proses dehalogenase. Selain itu, jamur sangat tergantung pada keberadaan glukosa sebagai co-substrat utama untuk pertumbuhan. Dengan penambahan jerami diharapkan konsentrasi glukosa dapat dikurangi karena keberadaan senyawa selulosa yang dapat dijadikan sumber karbon bagi jamur. Pada penelitian ini digunakan sistem kultur batch dengan variabel tetap yaitu jumlah jerami sebesar 3,2 g/L dan substrat yang digunakan yaitu klorolignin dengan konsentrasi 0,3 g/L. Variabel bebas yang digunakan adalah konsentrasi co-substrat glukosa dan tipe perlakuan jerami yang berbeda yaitu potongan (chips) dan serbuk. Aktivitas-aktivitas enzim ekstraseluler diuji melalui media padat, cair, dan SDS- PAGE. Percobaan dengan SDS-PAGE diperoleh enzim dengan berat molekul 42 kD dan 29 kD yang mengindikasikan adanya enzim LiP dan endoglucanase yang masih aktif hingga akhir hari ke-11. Hasil positif yang diperoleh pada media padat menunjukkan bahwa jamur Phanerochaete chrysosporium memiliki kemampuan untuk mendegradasi senyawa klorolignin berat molekul tinggi melalui mekanisme sistem enzimatik yang dihasilkan oleh reaksi metabolisme sekunder dalam sistem generasi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.*

**Kata Kunci :** Senyawa klorolignin, jamur *Phanerochaete chrysosporium*, Lip, jerami, Sistem kultur batch..

## PENDAHULUAN

Pada proses pemutihan di industri pulp dan kertas akan dihasilkan air buangan yang mengandung senyawa klorolignin. Pengolahan biologis konvensional sudah banyak dilakukan untuk mendegradasi senyawa klorolignin yang

mempunyai berat molekul tinggi. Penelitian menunjukkan bahwa jamur *Phanerochaete chrysosporium* merupakan jenis jamur pelapuk putih yang dapat mengoksidasi senyawa polimer <sup>14</sup>C klorolignin secara sempurna menjadi CO<sub>2</sub>

melalui aktivitas enzim ekstraseluler dalam kondisi nitrogen terbatas.

Dalam penelitian ini digunakan jerami sebagai co-substrat dalam proses degradasi yang penggunaannya diikuti dengan penambahan beberapa variasi konsentrasi glukosa. Dengan adanya kandungan selulosa pada jerami, maka jerami diharapkan dapat dijadikan sebagai media karbon selain glukosa bagi proses metabolisme jamur dalam mendegradasi senyawa klorolignin. Mekanisme yang terjadi menyangkut enzim ekstraseluler seperti enzim *selulase*, *cellobiohidrolase*, dan *endoglucanase* yang dapat mengkonversi senyawa selulosa menjadi senyawa glukosa.

## BAHAN DAN METODA

Pada penelitian ini digunakan konsentrasi substrat klorolignin sebesar 0,3 g/L sedangkan konsentrasi co-substrat glukosa yang ditambahkan akan divariasikan dengan bentuk jerami. Pada tahap persiapan dilakukan pembersihan jamur dan persiapan jerami sebagai co-substrat. Pada penelitian pendahuluan dilakukan perhitungan matematis untuk menentukan konsentrasi jerami yang akan digunakan, setelah itu dilakukan percobaan dengan beberapa variasi konsentrasi jerami tersebut yang dicampurkan dengan inokulum jamur dan media. Penelitian utama terdiri dari biodegradasi senyawa klorolignin dan identifikasi enzim-enzim ekstraseluler.

Biodegradasi senyawa klorolignin dilakukan melalui 2 tahap dengan perlakuan jerami yang berbeda. Tahap pertama dilakukan dengan konsentrasi klorolignin 0,3 g/L dan glukosa konsentrasi 5 g/L dan 10 g/L dengan bentuk jerami adalah potongan. Tahap kedua dilakukan setelah tahap pertama selesai dengan konsentrasi co-substrat glukosa 5 g/L dan 2,5 g/L dengan bentuk jerami adalah serbuk. Tahap pertama dilakukan dengan menggunakan erlenmeyer 125 mL dengan jumlah media 30 mL. Tahap kedua dilakukan pada erlenmeyer 2L dengan jumlah media 500 mL.

Identifikasi enzim-enzim ekstraseluler pada jamur *Phanerochaete chrysosporium* dilakukan pada media padat dengan menggunakan senyawa-senyawa seperti syringaldazine, guaiacol, ABTS (diammonium 2,2'-azinobis(3-etil-6-benzotiazolin sulfonat)), dan RBBR (Rhamazol Brilliant Blue R). Pada penelitian ini, media padat yang digunakan

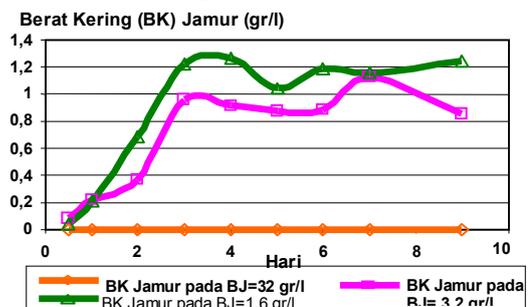
adalah media basal dengan kadar glukosa 10 g/L; 5 g/L; dan 2,5 g/L yang masing-masing ditambahkan senyawa klorolignin BM> 10000 sebesar 0,3 g/L dan jerami serbuk 3,2 g/L.

Selain itu dilakukan juga uji aktivitas enzim pada media cair dan SDS-PAGE untuk membandingkan hasil pada media padat. Identifikasi enzim pada media cair dilakukan pada sampel hari ke-11 untuk konsentrasi glukosa 5 g/L dan 2,5 g/L.

SDS-PAGE digunakan untuk memeriksa aktivitas enzim ekstraseluler berdasarkan perbedaan berat molekul protein yang membentuk enzim-enzim tersebut. Sampel yang digunakan adalah sampel pada hari ke-11 dengan kadar glukosa 5 g/L. Sebelumnya sampel dipekatkan dengan proses dialisis setelah itu konsentrasi protein dipekatkan dengan TCA *precipitation*. Pada TCA *precipitation* seluruh kadar protein akan diendapkan melalui reaksinya dengan senyawa *trichloro acetic acid* dimana sampel diendapkan dengan kandungan minimal 5 µg/mL.

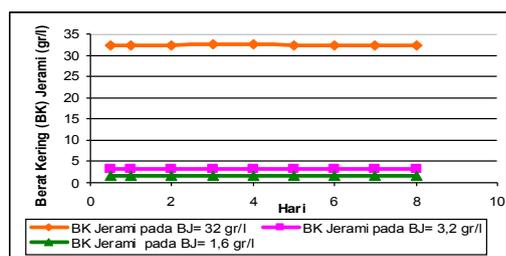
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Dengan hasil dari asumsi dan perhitungan matematis dilakukan percobaan dengan variasi konsentrasi jerami sebesar 32 g/L; 3,2 g/L; dan 1,6 g/L. Hasil pengukuran berat kering jamur dan jerami dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.



**Gambar 1.** Pola Pertumbuhan Jamur *Phanerochaete chrysosporium* pada Substrat Jerami Ditambah Glukosa 10 g/L dan Klorolignin 0,3 g/L

Pada konsentrasi jerami 3,2 g/L dan 1,6 g/L, laju pertumbuhan eksponensial terjadi pada 1-3 hari. Laju pertumbuhan spesifik masing-masing konsentrasi 3,2 g/L dan 1,6 g/L adalah 0,91 hari<sup>-1</sup> dan 1,28 hari<sup>-1</sup>. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa laju pertumbuhan spesifik lebih tinggi ditunjukkan pada konsentrasi jerami 1,6g/L.



**Gambar 2** Perubahan Berat Kering Jerami pada Kultur dengan Kadar Glukosa 10 g/L dan Konsentrasi Klorolignin 0,3 g/L

Berdasarkan hasil pengamatan, jamur lebih banyak melekat pada jerami dengan konsentrasi 3,2 g/L, sedangkan jamur tidak melekat terlalu banyak pada jerami dengan

konsentrasi 1,6 g/L. Dengan demikian konsentrasi jerami yang terpilih untuk digunakan pada penelitian utama adalah 3,2 g/L.

Pada Gambar 2 dapat dilihat bahwa berat kering jerami tidak mengalami perubahan terlalu banyak. Hal ini dapat disebabkan jamur hanya mendegradasi jerami sebagian kecil. Adanya pertambahan berat pada jerami mungkin disebabkan melekatnya jamur pada jerami yang tidak terambil dalam sampling.

### 1. Penyisihan Klorolignin Pada Substrat Jerami Potong dan Jerami Serbuk

Proses penyisihan klorolignin diukur dengan mengamati perubahan warna pada panjang gelombang ultraviolet 280 nm.

**Tabel. 1** Persentase Penyisihan Klorolignin Pada Substrat Jerami Potong

Konsentrasi Glukosa (g/L)	Konsentrasi Klorolignin (g/L)		% Penyisihan
	Awal (H-0)	Akhir (H-1)	
10	0,261	0,128	50,96
5	0,225	0,131	41,78
Kontrol	(H-0)	(H-7)	
10	0,245	0,131	46,53
5	0,212	0,124	41,51

**Tabel. 2** Persentase Penyisihan Klorolignin Pada Substrat Jerami Serbuk

Konsentrasi Glukosa (g/L)	Konsentrasi Klorolignin (g/L)		% Penyisihan
	Awal (H-0)	Akhir (H-1)	
5	0,257	0,115	55,25
2,5	0,247	0,176	28,74

**Tabel. 3** Penyisihan COD Pada Substrat Jerami Potong

Konsentrasi Glukosa (g/L)	Konsentrasi COD (mg/L)		% Penyisihan
	Awal (H-0)	Akhir (H-1)	
10	3976	1297	67,37
5	3199	1421	55,58
Kontrol	(H-0)	(H-7)	
10	3625	1380	61,93
5	3125	1224	60,83

**Tabel 4** Persentase Penyisihan COD Pada Substrat Jerami Serbuk

Konsentrasi Glukosa (g/L)	Konsentrasi COD (mg/L)		% Penyisihan
	Awal (H-0)	Akhir (H-1)	
5	2001,68	517,64	74,14
2,5	2009,06	1100,56	45,22

Penyisihan klorolignin dilakukan pada konsentrasi glukosa 10 g/L dan 5 g/L dengan jerami potong. Kemudian dilakukan perubahan konsentrasi glukosa menjadi 5 g/L dan 2,5 g/L, serta jerami yang digunakan dalam bentuk serbuk. Hal ini dilakukan karena kecenderungan penyisihan pada tahap pertama tidak jauh berbeda antara glukosa 10 g/L dan 5 g/L dan untuk mengetahui apakah jerami dalam bentuk serbuk masih dapat berfungsi sebagai co-substrat pada proses metabolisme jamur.

Pada penelitian tahap pertama, penyisihan senyawa klorolignin pada konsentrasi glukosa 5 g/L lebih besar terjadi pada substrat jerami serbuk daripada jerami potong. Hal ini mungkin disebabkan pola konsumsi glukosa oleh jamur pada glukosa 5 g/L + jerami serbuk sehingga proses metabolisme primer lebih cepat tercapai dan proses metabolisme sekunder dapat segera berlangsung.

## 2. Penyisihan COD Pada Substrat Jerami Potong dan Jerami Serbuk

Penyisihan COD oleh jamur *Phanerochaete chrysosporium* menunjukkan peningkatan sejalan dengan meningkatnya konsentrasi co-substrat. Hal tersebut dapat dilihat pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Hasil yang diperoleh pada konsentrasi glukosa 5 g/L dengan jerami serbuk menunjukkan persentase penyisihan COD yang lebih besar dibandingkan konsentrasi glukosa 10 g/L dan 5 g/L dengan penambahan jerami potong. Hal ini disebabkan adanya peningkatan penyisihan klorolignin yang semakin tinggi dengan menggunakan jerami serbuk yang kemudian meningkatkan kandungan senyawa organik berberat molekul rendah. Keadaan tersebut akan menyebabkan kebutuhan oksigen akan semakin tinggi sehingga nilai COD yang semakin naik.

## 3. Identifikasi Enzim-enzim Ekstraseluler

### a. Media Padat

Uji aktivitas enzim ekstraseluler dapat dilihat dari reaksi positif terhadap substrat melalui perubahan warna. Hasil identifikasi kadar glukosa menunjukkan aktivitas enzim terdeteksi pada hari kedua masa inkubasi. Pada media padat aktivitas baru muncul setelah hari ketiga masa inkubasi. Dari hasil penelitian diperoleh bahwa dengan kadar glukosa 10 g/L lebih kuat dibandingkan dengan kadar glukosa 5 g/L dan 2,5 g/L. Hal ini menunjukkan bahwa kadar glukosa yang berlebih akan meningkatkan aktivitas enzim.

### b. Media Cair

Pada pemeriksaan media cair ini sampel dihilangkan kadar garamnya terlebih dahulu dengan dialisis dan kemudian dipekatkan dengan menghilangkan kadar air pada larutan glukosa. Setelah proses pemekatan, sampel kemudian ditetaskan dengan substrat yang sama pada media padat. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa sebagian tes terhadap substrat tidak menunjukkan adanya aktivitas enzim, kecuali untuk kadar glukosa 5 g/L dimana terdapat perubahan warna yang sedikit guaiakol menjadi coklat kemerahan. Hal ini dapat disebabkan karena enzim ekstraseluler umumnya memiliki produktivitas yang rendah hingga hari ke-11 sehingga pemeriksaan pada sampel cair tidak akan menunjukkan hasil yang positif.

### c. SDS-PAGE

Hasil penelitian menunjukkan bahwa marker pada sampel berada pada berat molekul 42 kDa dan 29 kDa. Dengan hasil tersebut maka diketahui bahwa untuk berat molekul 42 kDa adalah berat molekul yang dimiliki enzim LiP (Suhardi, 1995) sedangkan dengan berat molekul 29 kDa adalah nilai yang berada pada rentang enzim *endoglucanase*, yaitu 28-37 kDa. Dari hasil

ini dapat diketahui bahwa aktivitas enzim pada hari ke-11 masih diproduksi dengan hadirnya enzim LiP dan enzim *endoglucanase*.

## KESIMPULAN

1. Jamur *Phanerochaete chrysosporium* dapat mendegradasi senyawa klorolignin yang ditunjukkan dengan turunnya nilai konsentrasi klorolignin dan COD.
2. Jamur masih mampu melakukan proses degradasi senyawa klorolignin pada konsentrasi co-substrat glukosa 2,5 g/L + jerami serbuk dengan persentase penyisihan klorolignin 28,74%.
3. Perbedaan konsentrasi glukosa pada proses biodegradasi senyawa klorolignin oleh *Phanerochaete chrysosporium* akan memberikan pengaruh terhadap hasil degradasi pada persentase penyisihan klorolignin dan COD.
4. Jerami memiliki peranan sebagai co-substrat pendukung glukosa pada bentuk potongan yang ditandai dengan naiknya nilai konsentrasi glukosa pada hari ke-3 sampai hari ke-4.
5. Jamur *Phanerochaete chrysosporium* memiliki aktivitas enzim-enzim ekstraseluler yang terdiri dari enzim kloroligninolitik, *peroksidase*, *lakase*, dan *selulase*. Hal ini ditunjukkan dengan hasil positif pada uji aktivitas enzim pada media padat dan SDS-PAGE.

6. Analisa enzim dengan menggunakan SDS-PAGE menunjukkan aktivitas enzim LiP dengan berat molekul 42 kDa dan endoglucanase dengan berat molekul 29 kDa oleh jamur *Phanerochaete chrysosporium* pada hari ke-11.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Abramovitz, J and A Martoon., 199, *Paper Cuts: Recovering the Paper Landscape*. Worldwatch Institute Paper.
2. Barclay, C.D., G.F Farquhar, R. L. Legge., 1995, *Biodegradation and Sorption of Polyaromatic Hydrocarbons by Phanerochaete chrysosporium*. Applied Microbiology Biotechnology. Canada.
3. Diniari, R. Dian., 2000, *Studi Penyisihan Senyawa Klorolignin oleh Phanerochaete chrysosporium dalam Bioreaktor Unggun Terfluidisasi*. Laporan Tugas Akhir Penelitian Departemen Teknik Lingkungan. ITB-Bandung.
4. Roosmini, Dwina., 2001, *Biodegradasi klorolignin Berat Molekul Tinggi*. Disertasi. ITB-Bandung.
5. Suhardi, Sri Harjati., 2000, *Penggunaan Jamur White-Rot untuk Penghilangan Warna dan Deklorinasi Limbah Pulp dan Kertas: Immobilisasi Jamur White-Rot pada Reaktor Fluidised Bed (FBR)*. Laporan Hasil Riset RUT VI.