

PENGARUH RADIASI SINAR GAMMA TERHADAP KEMAMPUAN DEGRADASI LIGNIN *PHANEROCHAETE CHRYSOSPORIUM* DAN *GANODERMA LUCIDUM*

Tri Retno D.L.¹, Nana Mulyana¹, Nurhasni², Uswatun Hasanah²

¹ Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, PAIR-BATAN, Jl. Lebak Bulus Raya No.49, Jakarta 12440.

² Prodi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Syarif Hidayatullah,
Jl. Ir. H. Juanda No. 95, Ciputat 15412
e-mail: tretno@batan.go.id

Diterima: 27-02-2016

Diterima dalam bentuk revisi: 04-03-2016

Disetujui: 07-03-2016

ABSTRAK

PENGARUH RADIASI SINAR GAMMA TERHADAP KEMAMPUAN DEGRADASI LIGNIN *PHANEROCHAETE CHRYSOSPORIUM* DAN *GANODERMA LUCIDUM*. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan aktivitas enzim ekstraseluler fungi lignoselulolitik yakni *phanerochaete chrysosporium* dan *ganoderma lucidum* dalam mendegradasi limbah lignoselulosa. Lignoselulosa sulit didegradasi karena terdiri dari lignin, selulosa dan hemiselulosa. *Phanerochaete chrysosporium* dan *ganoderma lucidum* dari kelompok *white rot* fungi dapat mendegradasi lignin karena mampu mensintesa enzim lignin peroksidase (LiP). Iradisi sinar gamma dosis rendah mampu menstimulasi peningkatan aktivitas enzim ekstraseluler. Fungi *phanerochaete chrysosporium* dan *ganoderma lucidum* dalam medium *slent* dipapar dengan iradisi gamma pada dosis 0 (kontrol), 200, 400, 600, 800 dan 1000 Gy. Di dalam medium cair mengandung Potatoes Dextrose Broth (PDB), garam mineral dengan substrat lignin alkali 0 dan 5 % b/v, fungi *phanerochaete chrysosporium* yang dipapar sinar gamma dosis 600 Gy memiliki aktivitas LiP (30 U/mL) sebesar 2,5 kali lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (12 U/mL). Sedangkan *ganoderma lucidum* yang dipapari radiasi gamma dengan dosis 800 Gy memiliki aktivitas LiP (34 U/mL) sebesar 1,7 kali lebih tinggi dibandingkan kontrol (20 U/mL). Fermentasi padat substrat serbuk kayu jati putih (*Gmelina arborea* Roxb.) selama 12 hari dengan pH 6,4; dan kadar air 79 % oleh fungi *phanerochaete chrysosporium* yang diradisi sinar gamma dosis 600 Gy memiliki efisiensi degradasi lignin sebesar 42 %, sedangkan pada fungi *ganoderma lucidum* yang diradisi sinar gamma dosis 800 Gy memiliki efisiensi degradasi lignin sebesar 21 % dengan kondisi optimal pH 7,6 dan kadar air 71,3 %.

Kata kunci: *phanerochaete chrysosporium*, *ganoderma lucidum*, enzim LiP, radiasi sinar gamma, degradasi lignin.

ABSTRACT

INFLUENCE OF GAMMA RAYS RADIATION ON LIGNIN DEGRADATION POTENCY OF *PHANEROCHAETE CHRYSOSPORIUM* AND *GANODERMA LUCIDUM*. This research aims to increase the activity of extracellular enzymes lignolitik fungi *phanerochaete chrysosporium* and *ganoderma lucidum* to degrade lignocellulosic waste. Lignocellulosic difficult to degrade because it is composed of lignin, cellulose and hemicellulose. *Phanerochaete chrysosporium* and *ganoderma lucidum* group *white rot* fungi can degrade lignin because it is able to synthesize enzymes lignin peroxidase (LiP). Iradisi low dose gamma rays capable menstimulasi increase extracellular enzyme activity. Fungi *phanerochaete chrysosporium* and *ganoderma lucidum* in medium *slent* exposed to gamma irradiation at doses of 0 (control), 200, 400, 600, 800 and 1000 Gy. In a liquid medium containing Potatoes Dextrose Broth (PDB), mineral salts with the substrate lignin alkali 0 and 5 % w/v, fungi *phanerochaete chrysosporium* were exposed to a dose of 600 Gy of gamma rays have LiP activity (30 U/mL) by 2.5 times higher compared with controls (12 U/mL). While *ganoderma lucidum* that are exposed to gamma radiation at a dose of 800 Gy has LiP activity (34 U/mL) was 1.7 times higher than the control (20 U/mL). On a solid substrate fermentation of white teak powder (*Gmelina arborea* Roxb.) For 12 days at pH 6.4 and water content of 79 % by fungi *phanerochaete chrysosporium*

were exposed to gamma ray dose of 600 Gy has an efficiency of lignin degradation by 42 %, whereas on fungi *ganoderma lucidum* that are exposed gamma ray dose of 800 Gy has an efficiency of lignin degradation by 21 % with optimal conditions of pH 7. And; water content of 71.3 %

Keywords: *phanerochaete chrysosporium*, *ganoderma lucidum*, LiP enzyme, gamma rays radiation, lignin degradation.

1. PENDAHULUAN

Limbah *forestry* dalam aktifitas industri perindustri merupakan limbah padat berupa serpihan kulit kayu, potongan kayu berukuran kecil (*chips wood*) dan serbuk kayu atau butiran-butiran halus yang terbuang saat kayu dipotong dengan gergaji (1). Limbah ini mengandung bahan lignoselulosa yang sulit didegradasi. Lignoselulosa adalah makro-molekul kompleks yang terdiri dari lignin, selulosa dan hemiselulosa. Proses degradasi lignoselulosa adalah susunan yang heterogen dari polisakarida yang terdapat pada dinding sel. Selulosa merupakan polimer linier dari D-glukosa yang terikat pada ikatan 1,4 glikosidik dan sangat erat berasosiasi dengan hemiselulosa dan lignin. Lignin adalah polimer yang sangat tidak teratur dan tidak larut, memiliki ikatan kovalen dengan hemiselulosa (2).

Fungi lignoselolitik dari kelompok *white rot fungi* merupakan mikroorganisme yang paling aktif dalam mendegradasi lignin dengan menghasilkan CO₂ dan H₂O (3). Fungi *Phanerochaete chrysosporium* dan *ganoderma lucidum* dianggap baik karena memiliki kemampuan lignolitik, yakni mampu menghasilkan enzim lignin peroksidase (LiP) dan mangan peroksidase (MnP) yang dapat mendegradasi lignin. Karena lignin merupakan senyawa yang heterogen dengan

berbagai tipe ikatan sehingga tidak dapat diuraikan oleh enzim hidrolisis. Fungi ini telah dipertimbangkan dalam produksi enzim pendegradasi lignin dalam penerapan biokonversi lignoselulosa.

LiP adalah enzim peroksidase ekstraseluler yang aktivitasnya bergantung pada H₂O₂. veratryl alkohol merupakan produk metabolit sekunder. Veratryl alkohol merupakan substrat untuk menstimulasi kinerja LiP bukan sebagai mediator elektron tetapi dengan mendonasikan elektron ke LiP, sehingga melengkapi siklus katalitiknya (4).

Penggunaan fungi *phanerochaete chrysosporium* dan *ganoderma lucidum* yang dikombinasikan dengan proses *Solid State Fermentation* (SSF) mampu menghasilkan produk yang lebih baik. Hal ini dikarenakan selama proses fermentasi akan membawa fungi atau mikroba yang telah dikultivasi berinteraksi dengan kuat pada substrat yang tidak larut air serta mendapatkan konsentrasi nutrisi tertinggi dari substrat (5). (Bhargav *et al.*, 2008). Fermentasi substrat padat atau *Solid State Fermentation* (SSF) didefinisikan sebagai proses fermentasi oleh mikroorganisme yang tumbuh dalam material padat tanpa adanya air bebas.

Iradiasi gamma dosis rendah berpengaruh terhadap percepatan aktivitas enzim oleh mikroba (6,7). *Trichoderma*

harzinum, *trichoderma viridie* dan *trichoderma knongii* yang diiradiasi gamma pada dosis 500 Gray dapat memproduksi exo-enzim yang sangat aktif sehingga mampu menurunkan pertumbuhan fungi patogen dengan prosentase tertinggi (8).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh iradiasi sinar gamma dosis rendah (0, 200 Gy, 400 Gy, 600 Gy, 800 Gy dan 1000 Gy) terhadap kinerja aktivitas enzim LiP yang dihasilkan oleh fungi *P.chrysosporium* dan *G.lucidum*. pada substrat serbuk kayu jati putih (*Gmelina arborea Roxb.*) dengan menggunakan metode SSF pada kondisi optimal

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan dan Alat.

Bahan utama yang digunakan adalah kultur *Phanerochaete chrysosporium*, dan *Ganoderma* sp. hasil biakan Laboratorium Biologi Universitas Nusa Bangsa (UNB) Bogor, LA (Lignin-Alkali), serbuk kayu jati putih (*Gmelina arborea Roxb.*) *Potato Dextrose Agar* (PDA), KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Yeast ekstrak, alkohol 70 %, MnSO_4 , H_2O_2 , *veratryl alcohol*, aquades, aluminium foil, kapas dan kertas label.

Alat yang digunakan antara lain: *autoclave*, oven, *laminar air flow*, timbangan digital, inkubator, *rotary shaker*, kertas saring Whatmann no.1, spektrofotometer tipe 20 D, *magnetic stirrer*, ose, hand sprayer, Bunsen, petri disk, sumber isotop Cobalt-60 dalam *gamma chamber* 4000A dengan laju dosis 2,1 kGy/jam, dan peralatan gelas lainnya.

2.2. Tata Kerja

2.2.1 Preparasi Kultur Fungi.

Medium Dasar yang digunakan terdiri dari larutan garam mineral. Komposisi medium dasar dalam 1 liter aquades terdiri dari 1g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 1,5g KH_2PO_4 ; 0,2g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,2g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,2g MnSO_4 ; 2g yeast ekstrak. Komposisi Media dasar dimodifikasi dari Pointing (1999) (9).

Medium Lignin Agar (LA) adalah medium yang mengandung medium dasar sebanyak 1 liter 16 g agar, lignin alkali (Sigma) 0,25 % (w/v) dan 100 mg *chloramphenicol*. Medium dimodifikasi dari Marginingrum (2001) (10).

Isolat fungi *P. chrysosporium*, dan *G. lucidum* ditumbuhkan pada tabung reaksi yang berisi 25 mL medium PDA (*Slent* miring). Kemudian diinkubasi 3-7 hari pada suhu 28 - 30 °C. di tempat gelap. Viabilitas dan pertumbuhan fungi diamati.

2.2.2 Iradiasi Fungi

Perkembangbiakan *Phanerochaete chrysosporium*, dan *Ganoderma* sp yang berumur 3 - 7 hari tersebut kemudian diiradiasi sinar Gamma isotop Cobalt-60 dalam *gamma chamber* 4000 A dengan laju dosis 2,1 kGy/jam. Dosis iradiasi yang digunakan adalah 0 Gy (kontrol, tanpa iradiasi); 200 Gy; 400 Gy; 600 Gy; 800 Gy dan 1000 Gy.

2.2.3 Pertumbuhan dan Aktivitas Lignin Peroksidase Fungi Dalam Lignin Alkali

Disiapkan botol yang berukuran 250 mL kemudian ditambahkan 30 ml larutan nutrisi dan garam mineral, ditambahkan

Lignin Alkali (sigma) 0,1%. Setiap liter larutan nutrisi dan garam mineral mengandung 24g PDB, 1g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,5g KH_2PO_4 , 0,5g K_2HPO_4 dan 0,2g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Semua medium SmF disterilkan dengan autoklaf pada 121 °C selama 2x15 menit kemudian didinginkan. Ke dalam 30 mL medium SmF steril diinokulasi 1 mL kultur cair fungi *Phanerochaete chrysosporium* dan *Ganoderma, sp* dengan kerapatan masing-masing sekitar 10^6 spora/mL, kemudian diinkubasi dalam shaker mekanis pada 75 rpm dan suhu ruang 28 - 32 °C selama 4 hari

2.2.4 Uji Aktivitas Enzim Lignin Peroksidase

Sebanyak 0,2 mL filtrat enzim, 0,05 mL H_2O_2 5 mM; 0,1 mL *veratril alcohol* 8 mM; 0,2 mL buffer asetat 0,05 M pH 3 dan 0,45 mL akuades dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dikocok (11). Larutan tersebut dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 310 nm pada interval waktu 0 dan 10 menit. Satu unit aktivitas enzim LiP didefinisikan sebagai jumlah enzim yang menyebabkan pengubahan 1 mikromol ($1 \mu\text{mol} = 10^{-6}$) mol veratril alkohol per menit.

2.2.5 Fermentasi Substrat Padat Serbuk Kayu jati putih

Sebanyak 5g (berat kering) substrat serbuk kayu jati putih dimasukkan ke dalam plastik ditambahkan 10 mL larutan nutrisi dan garam mineral. Setiap liter larutan nutrisi dan garam mineral mengandung 1g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,5g KH_2PO_4 , 0,5g K_2HPO_4 dan

0,2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Akuades di-tambahkan ke dalam substrat sehingga diperoleh perbandingan substrat dan cairan sekitar 1 : 2,5 atau kadar kelembaban sekitar 89,5 % (12). Ke dalam substrat steril diinokulasi kultur cair fungi *Phanerochaete chrysosporium* dan *Ganoderma, sp* sesuai dengan perlakuan pada rancangan penelitian. Inokulasi kultur cair fungi dengan kerapatan masing - masing sekitar 10^6 spora/mL dilakukan secara aseptik di dalam *laminar air flow*. Substrat yang tidak diinokulasi kultur cair fungi digunakan sebagai kontrol. Semua substrat dalam plastic ditutup rapat dan diinkubasi di ruang gelap (tanpa pencahayaan) pada 28 - 32 °C selama 12 hari.

Pengukuran parameter pH, bobot biomassa mikroba dan aktivitas enzim LiP dilakukan pada hari ke-4 masa pertumbuhan kedua fungi tersebut. Sedangkan pengukuran parameter pH, kadar air dan kadar bahan organik dilakukan pada hari ke-0, 4, 8 dan 12 selama proses SSF berlangsung. Evaluasi kadar lignin, selulosa, hemiselulosa, zat ekstratif, kadar abu dan efisiensi degradasi lignin dilakukan pada awal dan akhir proses SSF (hari ke-12).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Pertumbuhan Fungi.

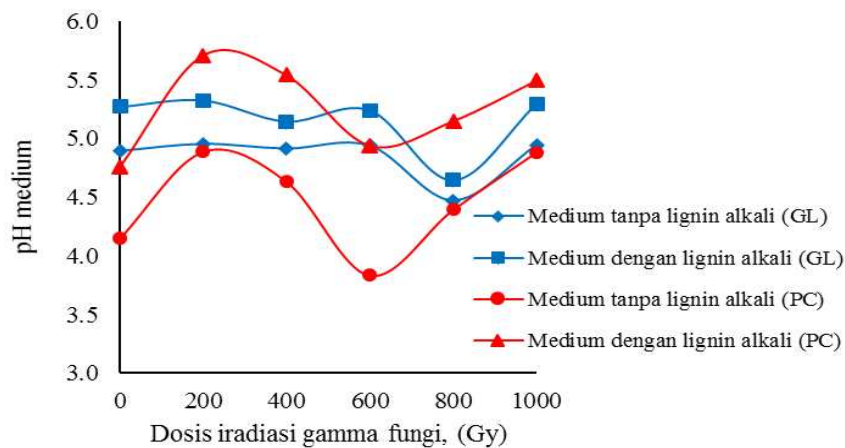
3.1.1 Nilai pH

Laju pertumbuhan mikroba selama proses kultivasi maupun pada proses SSF dipengaruhi nilai pH substrat. Nilai pH bergantung pada jenis substrat dan mikroorganisme yang digunakan. Pertumbuhan fungi *P.chrysosporium* berada pada kisaran

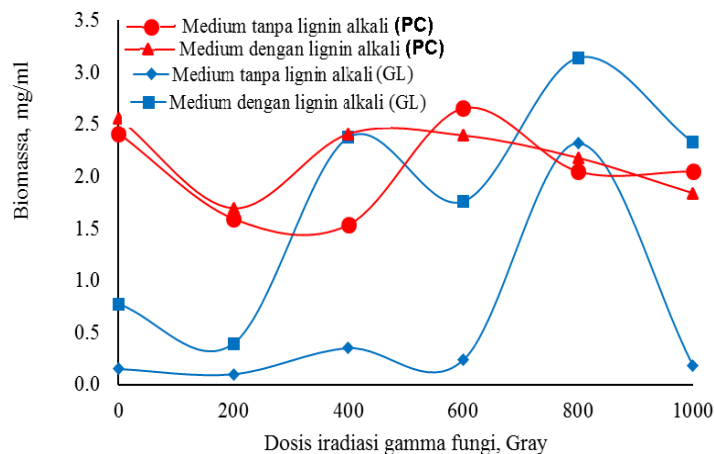
pH 3.8 - 5.7 pada waktu optimal 4 hari. Nilai pH tersebut masih dalam rentang pH pertumbuhan bagi *P. chrysosporium* yaitu pada pH 4 – 7. Sedangkan, *G. lucidum* tumbuh pada pH kisaran 4.5-5.3. Rentang pH untuk pertumbuhan fungi pada umumnya akan tumbuh pada kisaran pH yang cukup luas yaitu antara 4,5 - 8,0 (13). Nilai pH juga merupakan faktor yang mempengaruhi kerja enzim. Kondisi pH yang optimum akan membantu enzim untuk mengkatalis suatu reaksi dengan baik. Enzim tidak dapat bekerja pada pH yang terlalu rendah atau pH yang terlalu tinggi karena akan

mengakibatkan enzim terdenaturasi sehingga sisi aktif enzim terganggu (14).

Perubahan nilai pH disebabkan oleh adanya perubahan dalam kesetimbangan ion hidrogen karena pengaruh pembentukan produk, pengambilan nutrisi, reaksi oksidasi reduksi serta perubahan kapasitas buffer. Penurunan pH disebabkan adanya pembentukan asam - asam organik seperti asam piruvat dan asam laktat. Kenaikan pH disebabkan oleh dilepaskannya amonia sebagai hasil metabolisme ammonium sulfat dan adanya proses deaminasi substrat protein dalam medium (15).



Gambar 1. Pengaruh radiasi gamma terhadap nilai pH selama pertumbuhan fungi.



Gambar 2. Pengaruh radiasi gamma terhadap bobot biomassa fungi.

3.1.2 Bobot Biomassa Mikroba

Bobot biomassa fungi ditentukan me-lalui proses pemisahan antara fungi dengan substratnya. Pertumbuhan fungi dapat di-tandai dengan peningkatan jumlah dan massa sel sedangkan kecepatan per-tumbuhan tergantung pada lingkungan fisik dan kimianya.

Gambar 2. menunjukkan pe-ngaruh radiasi sinar gamma terhadap bio-massa pertumbuhan fungi *P. chrysosporium* dan *G. lucidum* dengan maupun tanpa substrat lignin alkali pada hari ke-4. Peningkatan dosis radiasi sinar gamma dapat menurunkan jumlah mikroorganisme.

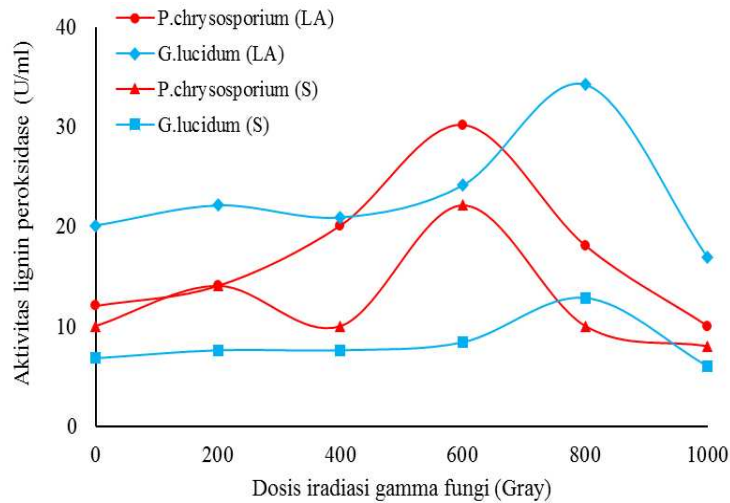
Pertumbuhan fungi berlangsung dengan memanfaatkan nutrien yang ter-dapat dalam medium fermentasi sekaligus mengeluarkan produk-produk metabolisme. Gambar 2 menunjukkan bahwa bobot bio-massa pada masing - masing dosis berbeda, pada dosis 0 Gy atau tanpa iradiasi bio-massa yang dihasilkan kecil tetapi pada fungi yang telah di iradiasi biomassa mengalami peningkatan tetapi ada juga yang menurun Perlakuan dengan Lignin Alkali (Sigma) pada *G. lucidum* menghasil-kan biomassa sebesar 3,1 mg/ml lebih tinggi dibandingkan tanpa menggunakan Lignin Alkali (Sigma) sebesar 2,3 mg/ml. Hal ini disebabkan nutrisi yang terkandung pada lignin alkali lebih optimal sebagai medium pertumbuhan fungi *G. lucidum*. Sedangkan perlakuan dengan lignin alkali pada fungi *P.chrysosporium* tidak memberikan pe-ngaruh yang signifikan karena nutrisi yang ada pada substrat dapat bersaing dengan nutrisi dalam lignin alkali, sehingga fungi

dapat berkembang dengan cepat tanpa lignin. Pertumbuhan biomassa fungi akan mengalami penurunan jika banyak fungi yang mati. Hal ini disebabkan karena habisnya nutrisi yang terkandung dalam medium sehingga menyebabkan beberapa sel fungi mati (16). Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pengaruh iradiasi gamma terhadap pertumbuhan *P.sajor-caju* terjadi penurunan bertahap pada pertumbuhan diameter cakram miselium karena dosis radiasi gamma meningkat (17).

Hal ini mungkin dasar penjelasan bahwa variasi dosis radiasi gamma dapat merusak sel DNA, sehingga secara bersamaan dibutuhkan perbaikan DNA dari sejumlah enzim untuk mengembalikan integritas genomik. Pertumbuhan *P. chrysosporium* dan *G. lucidum* pada dosis iradiasi yang diberikan tumbuh dengan baik pada dosis rendah. Pertumbuh-an *P. chrysosporium* optimal pada dosis 600 Gy sedangkan pertumbuhan *G. lucidum* optimal pada dosis 800 Gy. Iradiasi Gamma dosis rendah dapat digunakan untuk me-ningkatkan kinerja pertumbuhan mikro-organisme dengan baik yang penting untuk melakukan biodegradasi(18).

3.1.3 Aktivitas enzim LiP

Dosis optimum radiasi sinar gamma ditentukan melalui pengujian aktivitas enzim LiP. Aktivitas enzim LiP pada *Phanerochaete chrysosporium* dan *Ganoderma lucidum* dengan dosis iradiasi 0, 200, 400, 600, 800 dan 1000 Gy dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Pengaruh radiasi gamma terhadap aktivitas LiP fungi.

Grafik kelangsungan hidup spora *Phanerochaete chrysosporium* menunjukkan kenaikan viabilitas karena radiasi yang menstimulasi germinasi (19). Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa radiasi gamma dapat mengubah struktur genom. Kerusakan untai ganda genom lebih efektif menggunakan perpindahan energi cahaya tinggi dari pada perpindahan energi rendah (20).

Dalam kemampuannya mendegradasi lignin, enzim peroksidase terlebih dahulu dioksidasi oleh H_2O_2 , yang juga dihasilkan oleh fungi, untuk membentuk zat antara. Zat ini selanjutnya direduksi oleh sebuah elektron dan membentuk zat kedua yang bersifat radikal. Selanjutnya zat kedua mengoksidasi substrat berikutnya dengan satu elektron sehingga siklus katalitis tersebut lengkap. Senyawa veratril alkohol merupakan metabolit sekunder yang juga dihasilkan oleh jamur. Ditemukan bahwa beberapa substrat tertentu yang tidak dapat dioksidasi oleh lignin peroksidase akan

teroksidasi jika di dalam campuran inkubasi terdapat veratril alkohol (21). H_2O_2 dan veratril alkohol merupakan mediator dalam proses biodelignifikasi (22).

Interaksi sinar gamma dengan suatu sel akan menghasilkan radikal bebas atau spesi oksigen reaktif di antaranya adalah radikal superoksida ($O_2^{\cdot-}$), radikal hidroksil (OH^{\cdot}), dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Radikal bebas tersebut dapat mengganggu struktur dan fungsi dari komponen sel sehingga memicu terjadinya stres oksidatif. Sebagai akibat dari stress yang ditimbulkan, sel tersebut akan mengembangkan mekanisme proteksi untuk melawan efek oksigen reaktif dengan menghasilkan enzim yang lebih banyak (23). Lydia *et al.*, 1994, juga menyatakan bahwa mutasi akibat radiasi menyebabkan fungi terstimulasi kemudian memperbaiki bagian terinduksi untuk menghasilkan enzim yang lebih banyak daripada sebelum diradiasi (24).

Analisa aktivitas enzim Lignin Peroksidase (LiP) dilakukan dengan cara metode

Sub-merged Fermentation dengan beda perlakuan dalam waktu 4 hari. LiP adalah enzim peroksidase ekstraseluler yang aktivitasnya bergantung pada H_2O_2 (25). Dalam metabolismenya, fungi pelapuk putih ini memproduksi suatu zat dengan berat molekul rendah yang merupakan kofaktor atau mediator bagi kerja enzim. Mediator ini bersama sama dengan enzim lignin peroksidase akan berfungsi aktif dalam degradasi lignin. Mediator yang dibutuhkan oleh enzim lignin peroksidase adalah veratryl alkohol dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Penambahan H_2O_2 berfungsi sebagai reduktor yang akan mengoksidasi enzim pada keadaan awal (*restyng enzyme*) dengan dua elektron membentuk senyawa intermediet I. Sedangkan penambahan *veratril alcohol* berfungsi sebagai mediator dalam reaksi redoks untuk menstimulasi oksidasi LiP pada substrat limbah organik lignoselulosa (26). Dengan penambahan *veratril alcohol* sebagai kosubstrat, maka kosubstrat ini akan dioksidasi oleh peroksida menjadi suatu kation radikal yang kemudian mendegradasi lignin. Pada penambahan buffer asetat berfungsi sebagai larutan penyangga untuk mempertahankan pH pada saat terjadinya reaksi enzimatik, pada pH 3 yang merupakan pH optimum untuk menghasilkan aktifitas LiP yang maksimum. Pengukuran dilakukan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 310 nm karena jumlah veratryl aldehyd yang terbentuk dapat dibaca pada panjang gelombang tersebut. Pada Gambar 3 menunjukkan bahwa aktivitas enzim LiP menggunakan substrat lignin alkali lebih tinggi dibandingkan dengan yang

menggunakan substrat serbuk kayu. Aktivitas enzim LiP pada *G.lucidum* lebih tinggi dengan menggunakan lignin alkali (Sigma) dibandingkan dengan menggunakan substrat serbuk kayu dengan nilai 34 U/ml pada dosis 800 Gy. Aktivitas enzim LiP pada *P. chrysosporium* menggunakan lignin alkali (Sigma) mencapai 30 U/ml pada dosis 600 Gy. Pada *P. chrysosporium* kenaikannya terlihat tidak signifikan tetapi pada dosis yang optimal *P. chrysosporium* lebih tinggi aktivitas LiP dibandingkan dengan *G. lucidum*. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa aktivitas LiP menggunakan lignin alkali (sigma) lebih tinggi dari pada substrat serbuk kayu, karena lignin alkali (sigma) mengandung banyak sumber karbon. Aktivitas enzim LiP tertinggi ditunjukkan oleh *G.lucidum*, aktivitas enzim ini memang lebih tinggi daripada aktivitas enzim *P. chrysosporium* (27).

3.2 Proses SSF(Solid State Fermentation)

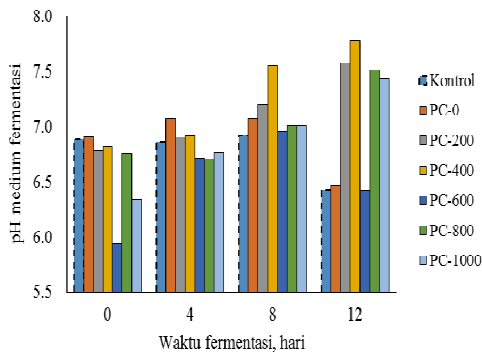
3.2.1 Nilai pH

Nilai pH merupakan salah satu parameter yang mempengaruhi pertumbuhan fungi dan proses fermentasi. Perubahan pH selama proses fermentasi pada *P. chrysosporium* ditunjukkan pada Gambar 4. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pH *P. chrysosporium* selama proses fermentasi memiliki nilai yang fluktuatif. Nilai pH yang dihasilkan berada pada kisaran 5,9 sampai 7,8.

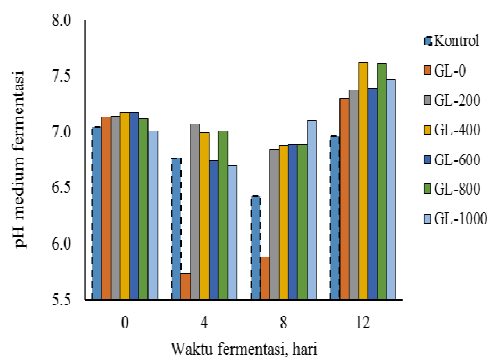
Rentang nilai pH tersebut masih dalam rentang pH pertumbuhan yang optimum bagi *P. chrysosporium* yaitu pada pH 4 - 7 (13).

Perubahan nilai pH pada *G. lucidum*

selama proses fermentasi dapat dilihat juga pada Gambar 5. Nilai pH pada *G. lucidum* selama proses fermentasi memiliki perubahan nilai yang cukup signifikan.



Gambar 4. Nilai pH pada *P. Chrysosporium* fermentasi 12 hari.



Gambar 5. Nilai pH pada *G. lucidum* selama fermentasi 12 hari.

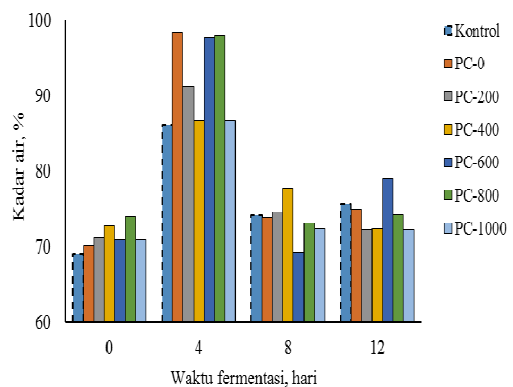
Nilai pH *G. lucidum* selama proses fermentasi berada pada kisaran 5,7 sampai 7,6. Pada Gambar 4 dan Gambar 5 perubahan nilai pH yang baik antara kedua fungi terlihat di hari ke 4 karena pada hari ke 5 nilai pH kedua fungi sudah sebagian meningkat.

Perubahan nilai pH disebabkan oleh adanya perubahan dalam kesetimbangan ion hidrogen yang mungkin terjadi karena pengaruh pembentukan produk, peng-

ambilan nutrien, reaksi oksidasi reduksi serta perubahan dalam kapasitas buffer. Penurunan pH disebabkan karena adanya pembentukan asam-asam organik seperti asam piruvat dan asam laktat.

3.2.2 Kadar air

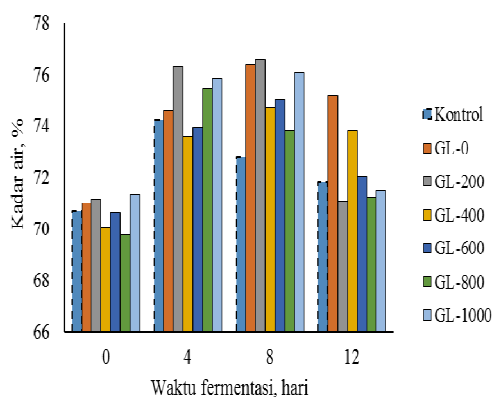
Berdasarkan hasil penelitian, kadar air substrat serbuk kayu pada *P. chrysosporium* selama fermentasi mengalami peningkatan pada hari ke-4. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 6. Pada hari ke-4 semua perlakuan mengalami kenaikan dan mempunyai kadar air yang tinggi hingga mendekati 100 % untuk *P. chrysosporium* yang tidak diiradiasi, diiradiasi dengan dosis 600 Gy, dan 800 Gy. Pada hari ke-8 dan ke-12 juga tidak ada perbedaan pada masing-masing dosis.



Gambar 6. Kadar air pada *P. chrysosporium*.

Kadar air pada *G. lucidum* juga mengalami peningkatan pada hari ke-4 tampak pada Gambar 7. Kadar air *G. lucidum* pada hari ke-4 semua dosis mengalami peningkatan, tetapi pada hari ke-8 beberapa dosis mengalami kenaikan juga, yaitu pada *G. lucidum* tanpa iradiasi, 200 Gy, 400 Gy, dan 1000 Gy. Pada hari ke-12 semua dosis

mengalami penurunan yang cukup signifikan. Pada hari ke-4 ada perbedaan dari masing - masing dosis yang cukup signifikan dan pada hari ke-8 perbedaan yang didapatkan tidak terlalu signifikan dan pada hari ke-12 juga ada perbedaan pada masing-masing dosis yang cukup signifikan.



Gambar 7. Kadar air pada *G. lucidum*.

Pada proses fermentasi, kadar air berfungsi untuk proses transport nutrisi dan produk-produk metabolit melalui membran sel (28). Peningkatan kadar air yang terjadi disebabkan karena semakin lama waktu fermentasi, aktivitas *P. chrysosporium* dan *G. lucidum* juga semakin meningkat.

Hal ini terjadi karena pada proses fermentasi terjadi perombakan karbohidrat menjadi gula-gula sederhana yang kemudian diubah menjadi energi dengan hasil sampingan berupa metabolit, alkohol, asam, karbondioksida (CO₂) dan air (H₂O) sehingga akan meningkatkan kadar air pada bahan kering (29).

Hal tersebut menunjukkan bahwa kadar air yang tinggi disebabkan karena semakin lama proses fermentasi maka perubahan glukosa menjadi CO₂ dan H₂O semakin tinggi.

Kadar air yang berada di bawah level kritis, aktivitas mikroba akan turun, sementara kadar air yang terlalu tinggi akan menghambat pergerakan udara dalam substrat. Kadar air substrat yang terlalu tinggi pada fermentasi media padat menyebabkan udara yang terdapat pada pori-pori substrat digantikan oleh air, tercipta kondisi anaerob, mengurangi difusi oksigen dan penurunan dekomposisi substrat (30).

3.2.3 Kadar Lignoselulosa

Kandungan lignoselulosa pada kayu terdiri dari selulosa, hemiselulosa, lignin dan zat ekstratif. Perubahan kandungan lignin pada substrat terjadi karena perombakan struktur lignin menjadi komponen yang lebih sederhana. Penurunan kadar lignin diikuti dengan meningkatnya kadar selulosa pada substrat. Tabel 1 menunjukkan kadar lignoselulosa dari substrat kayu dalam proses SSF selama 12 hari menggunakan fungi *P. chrysosporium*.

Tabel 1. Kadar lignoselulosa proses SSF selama 12 hari pada *P. chrysosporium*

	K	PC-0	PC-200	PC-400	PC-600	PC-800	PC-1000
Lignin	31.5927	28.66258	26.38091	24.48959	18.34163	19.61561	24.44405
Selulosa	42.6705	44.1991	45.8442	47.83426	52.2265	51.8032	47.6959
Hemiselulosa	17.1694	17.08698	17.93157	17.11526	16.97035	17.1453	17.11614
Zat ekstratif	8.3549	9.6814	9.328056	10.42064	12.3766	11.2209	10.3639

Hasilnya menunjukkan bahwa *P. chrysosporium* yang distimulasi radiasi sinar gamma dengan dosis 600 Gy memberikan penurunan lignin optimal sebesar 18,3 % dan peningkatan selulosa mencapai 52,2 %, kadar hemiselulosa sebesar 17 % dan zat ekstratif sebesar 12,4 %.

Tabel. 2 menunjukkan kadar ligno-selulosa dari substrat kayu dalam proses SSF selama 12 hari menggunakan fungi *G. lucidum*. Hasilnya menunjukkan bahwa *G. lucidum* yang distimulasi radiasi sinar gamma dengan dosis 800 Gy memberikan penurunan lignin optimal sebesar 24,9 % dan peningkatan selulosa mencapai 52,3 %, kadar hemi-selulosa sebesar 14,5 % dan zat ekstratif sebesar 8,1 %.

Tabel 2. Kadar lignoselulosa proses SSF selama 12 hari pada *G.lucidum*

	K	GL-0	GL-200	GL-400	GL-600	GL-800	GL-1000
Lignin	31.5927	26.671	26.638	26.2327	26.4777	24.913	26.44
Selulosa	42.6705	49.02464	51.01491	50.838	50.80851	52.30245	50.84782
Hemiselulosa	17.1694	16.0044	14.0471	14.6293	14.4138	14.4845	14.4121
Zat ekstratif	8.3549	8.21	7.81	8.07	8.16	8.0901	7.9601

Perombakan komponen lignoselulosa oleh fungi *P. chrysosporium* dan *G. lucidum* menghasilkan enzim lignolitik yang digunakan untuk mendegradasi lignin.

Hasil perombakan komponen ligno-selulosa ini akan dimanfaatkan oleh fungi untuk per-tumbuhan yang berarti akan menekan proses degradasi lignin dan aktivitas degradasi akan terjadi kembali jika ke-tersediaan nutrien dalam media berkurang.

Degradasi lignin akan membuka akses untuk perombakan selulosa dan hemi-selulosa (31). Depolimerisasi dan demineralisasi lignin oleh fungi menjadi CO₂ dan air menyebabkan penurunan kandungan lignin substrat. *P. chrysosporium* dan *G. lucidum* mempunyai kemampuan untuk mendegradasi lignoselulosa secara selektif dengan mendegradasi lignin lebih

dahulu diikuti dengan perombakan hemiselulosa dan selulosa (32).

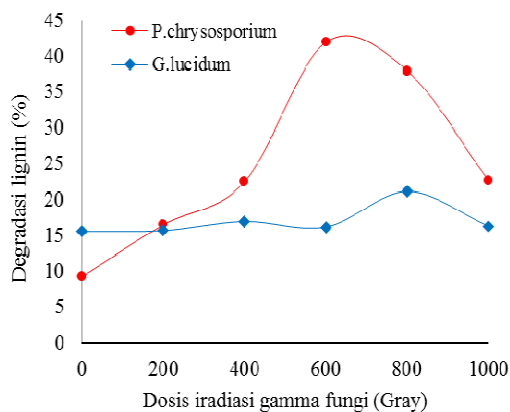
Zat ekstratif terbentuk dari senyawa-senyawa ekstraseluler dan berat molekul rendah, dan kandungan ekstratif dalam kayu umumnya kurang dari 10 %. Perubahan kadar zat ekstratif pada substrat kayu diduga karena adanya penguapan zat-zat ekstratif yang bersifat volatil pada suhu fermentasi. Selain itu juga karena jenis ekstratif pada kayu jati yang bersifat racun terhadap mikroorganisme, menyebabkan fungsi *Phanerochaete chrysosporium* tidak tumbuh dengan baik di media serbuk kayu jati (33).

3.2.4 Degradasi Lignin

Proses degradasi lignin dipengaruhi oleh pertumbuhan fungi *P. chrysosporium* dan *G. lucidum* dalam memproduksi enzim LiP yang dapat mendegradasi lignin. Degradasi lignin merupakan reaksi spontan upaya memenuhi kebutuhan nutrien untuk pertumbuhan. Hasil perombakan komponen lignoselulosa ini akan dimanfaatkan oleh fungi untuk pertumbuhan yang berarti akan menekan proses degradasi lignin dan aktivitas degradasi akan terjadi kembali jika ketersediaan nutrien dalam media berkurang.

Perombakan kandungan lignin oleh fungi pelapuk putih akan melibatkan kerja enzim lignolitik yang akan menguraikan lignin menjadi karbondioksida (CO₂), enzim tersebut adalah lignin peroksidase dan mangan peroksidase (34). Enzim lignolitik ini bekerja aktif dengan adanya oksigen, kunci reaksi degradasi lignin oleh fungi

pelapuk putih adalah biokatalis enzim ligninase yang mengkatalis oksidasi cincin aromatik lignin untuk melepaskan ikatan-ikatan pada cincin aromatiknya dan membentuk radikal-radikal kation. Kemudian radikal-radikal tersebut menjalani reaksi spontan membawa kearah degradasi lignin, sebagian radikal memecah ikatan intramolekul lignin dan sebagian lagi memecah cincin aromatik (35).



Gambar 8. Dosis radiasi vs degradasi lignin.

Gambar 8 menunjukkan pengaruh radiasi sinar gamma terhadap efisiensi degradasi lignin dari fungi *P. chrysosporium* dan *G. lucidum* pada proses SSF selama 12 hari menggunakan substrat serbuk kayu jati putih. Aktivitas fungi *P. chrysosporium* pada dosis 600 Gy menghasilkan kemampuan degradasi lignin optimal sebesar 42 %. Pada penelitian yang sebelumnya menyatakan bahwa degradasi lignin tongkol kapas yang difermentasi dengan *P. chrysosporium* sebesar 21 % setelah difermentasi selama 4 - 10 hari. Sedangkan, hasil penelitian Fadilah *et al.*, (2008) yang menggunakan fungi pelapuk putih *P. chrysosporium* mampu mendegradasi lignin mencapai 81,4 % pada

inkubasi selama 30 hari dengan substrat batang jagung (21). Waktu fermentasi berpengaruh terhadap efisiensi degradasi lignin. Dosis yang paling optimal dalam mendegradasi lignin pada *G. lucidum* berada pada rentang dosis 400 Gy - 800 Gy. Pada rentang dosis optimal tersebut *G. lucidum* mampu mendegradasi lignin hingga 21 % pada dosis 800 Gy lebih rendah jika dibandingkan dengan kemampuan degradasi lignin *P. chrysosporium*.

Dilihat dari kemampuan mendegradasi lignin terhadap kedua fungi pelapuk putih tersebut *P. chrysosporium* lebih baik dalam mendegradasi lignin dibandingkan dengan *G. lucidum* yang mempunyai kemampuan dalam mendegradasi lignin juga tetapi tidak mengalami peningkatan atau kenaikan yang signifikan terhadap setiap dosisnya.

4. KESIMPULAN

Perlakuan iradiasi gamma dosis rendah mampu meningkatkan aktivitas enzim LiP dari *P. chrysosporium* dan *G. lucidum*. Fungi *P. chrysosporium* yang diradiasi dengan dosis 600 Gy memberikan aktivitas enzim LiP optimal sebesar 30 U/ml sedangkan aktivitas enzim LiP yang dihasilkan *G. lucidum* pada dosis optimal 800 Gy adalah 34 U/ml. Kemampuan degradasi lignin fungi *P. chrysosporium* sebesar 42 % pada dosis 600 Gy lebih tinggi dibandingkan dengan degradasi lignin dari *G. lucidum* sebesar 21 % pada dosis 800 Gy.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Srikandi S.Si., M.Si., dari Fakultas

MIPA Universitas Nusa Bangsa Bogor serta Arief Adhari, AMd., dan Marwadi yang telah membantu sehingga penelitian dapat diselesaikan tepat pada waktunya.

6. DAFTAR PUSTAKA

1. BPPT Kelompok Teknologi
Pengelolaan Air bersih dan limbah cair.
Petunjuk Teknik Penanganan Limbah Lingkungan Hidup 2012.
www.kelair.bppt.go.id/ Publikasi/ Buku
PetnisLimLH/ 06KAYU.pdf. 159-168.
2. Dashtban H, Schraft H, Syed TA, Qin W.
Fungal biodegradation and enzymatic modification of lignin. *Int. Journ. Biochem. Mol. Biol.* 2010;1(1):36-50.
3. Sasikumar V, Priya V, C. Shiv Shankar and D. Sathiah Sekar. Isolation and Preliminary screening of lignin degrading microbes (On line), *Journal of Academia and Industrial Research* 2014; 3: 291-294.
4. Busse N, Wagner D, Kraume M and Czermak P. Reaction Kinetic of Versatile Peroxidase for the degradation of lignin compounds, *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, Science Publication 2013;9 (4):365-394.
(<http://www.thescipub.com/ajbb.toc>)
5. McKinney K, Combs J, Becker P, Humphries A, Filer K and Vriesekoop F. Optimization of phytase production from *escherichia coli* by altering solid-state fermentation conditions, *Fermentation* 2015;1: 13-23.
(doi: 10.3390/ fermentation 1010013, ISSN 2311-5637).
6. Desai AS and Rao S. Effect of gamma radiation on germination and physiological aspects of pigeon pea (*cajanus cajan* (L.) millsp) seedlings. *Intern. Journ. of Research in App., Natural and Social Sciences* 2014; 2(6):47-52.
7. Afify AEMR, Abo-El-Seoud M, Ibrahim GM, Helal IMM and Kassem BW. Exposing of *trichodermaspp.* to gamma radiation for stimulating its pesticide biodegradation activity, *J. Rad. Res. Appl. Sci* 2012; 5(2):440-454.
8. Ahmed AS, Farag SS, Hassan IA and Botros HW. Production of gluconic acid by using some irradiated microorganisms, *Journal of Radiation Research and App. Scien.* 2015; 8: 374 – 380.
9. Pointing SB. Qualitative methods for the determination of lignocellulotik enzyme production by tropical fungi. *Juornal Fungal Diversity* 1999;2: 17-33.
10. Marginingrum D. dan Karningsih N. Studi Degradasi lignin ekstraktif menggunakan bakteri *serratia marcescens* dengan menggunakan metode reaktor batch. *Prosiding Seminar Nasional Kimia Pusat Penelitian Geoteknologi LIPI.* Surakarta: 2001:149-157.
11. Bonnen A M, Anton LH, & Orth AB. Lignin degrading enzymes of the commercial button mushroom, *agaricus bisporus.* *Appl. Environ. Microbiol* 1994; 60:960-965.

12. Pensupa N, Jin M, Kokolski M dan Archer, DB. A Solid state fungal fermentation based strategy for the hydrolysis of wheat straw. *J. Bioresource Technology*. 2013;149:261-267.
13. Pal S and Vimala Y. Bioremediation of chromium from fortified solutions by *phanerochaete chrysosporium* (MTCC 787). *J. Bioremed. and Biodegrad* 2011; 2 :5, <http://dx.doi.org/10.4172/2155-6199.1000127>.
14. Safaria S, Idiawati N dan Zaharah T A. Efektivitas campuran enzim selulase dari *aspergillus niger* dan *trichoderma reesei* dalam menghidrolisis substrat sabut kelapa. *Jurnal Kimia dan Kemasan*. 2013; 2(1): 46-51.
15. Ali SS and Vidhale NN. Protease production by *pusarium oxysporum* in solid- state fermentation using rice bran, *American Journal of Microbiological Research* 20131; 3: 45-47.
16. Sivaramanan, S. Isolation of Cellulolytic Fungi and their degradation on cellulosic agricultural wastes. *Journal of Academia and Industrial Research (JAIR)* 2014; 2: 458-463.
17. Abo-State MAM, Khatab O, Abo-El Nasar A and Mahmoud B. Factors affecting laccase production by *pleurotus ostreatus* and *pleuratus sajor-caju*. *World applied Sciences Journal* 2011;14 (11) : 1607 – 1619.
18. Afify Abd El-Moneim MR, Mohamed A Abo-El-Seoud, Ghada M Ibrahim and Bassam W Kassem. Stimulating of biodegradation of oxamyl pesticide by low dose gamma irradiated fungi. *J Plant Pathol Microb* 2013;4 (9):1-5
19. Piri I, Babayan M, Tavassoli A and Javaheri M . The use of gamma irradiation in agriculture, *African Journal of Micro. Reserch* 2011;5 (32):5806–5811.
20. Rastogi RP, Richa, Kumar A, Tyagi MB, and Sinha RP. Molecular mechanisms of ultraviolet radiation-Induced DNA damage and repair, *Journal of Nucleic Acids* 2010;10:1-32, Article ID 592980, doi:10.4061/2010/592980.
21. Fadilah, Sperisa D, Enny Kris A, Arif J. Biodelignifikasi batang jagung dengan jamur pelapuk putih *phanerochaete chrysosporium*. *Ekuilibrum*, 2008; 7 (1): 7-11.
22. Irshad M and Asgher M. Production and optimization of ligninolytic enzymes by white rot fungus *Schizophyllum commune* IBL-06 in solid state medium banana stalks, *African Journal of Biotechnology* , 2011;10(79):18234-18242, DOI: 10.5897/AJB11.2242 ISSN 1684–5315.
23. Sreedhar M, chaturvedi A., Aparna M. Kumar PD, Singhai RK. and Babu V. Influence of γ -radiation stress on scavenging enzymes activity and cell ultra structure in groundnut (*Arachis hypogaea L.*). *Applied Science Resource*, 2013; 4 (2):35 – 44.
24. Zia MA, Rasul S and Iftikhar T. Effect of gamma irradiation on *aspergillus niger* for enhanced production of glucose oxidase, *Pakistan Journ. Bot* 2012; 44(5): 1575-1580.
25. Ima, Ilimi M dan Nengah, Kuswytasari D. Aktifitas enzim lignin peroksidase oleh *gliomastix* sp. T3.7 pada Limbah

- bonggol jagung dengan berbagai pH dan suhu. Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS). *Jurnal Sains dan Seni POMITS* 2013; 2(1): 2337-3520.
26. Mehboob N, Asad MJ, Imran M, Gulfray Watoo FH, Hadri SH and Asghar M. Production of lignin peroxidase by *ganoderma leucidum* using solid state fermentation, *African Journal of Biotechnology* 2011; 10(48):9880–9887,(online), <http://www.academicjournals.org/AJB>.
27. Sasidhara R and Thirunalasundari T. Lignolytic and lignocellulosic enzymes of *ganoderma lucidum* in liquid medium, *European Journal of Experimental Biology* 2014; 4(2):375-379.
28. Hilakore M. Peningkatan kualitas nutritif putak melalui fermentasi campuran *trichoderma reesei* dan *aspergillus niger* sebagai rakan rumanisia. Tesis, *Institut Pertanian Bogor*, Bogor 2008.
29. Sartori T, Tibolla H, Prigol E, Colla LM, Vieira Costa JA, and Bertolin TE. Enzymatic saccharification of lignocellulosic residues by cellulases obtained from solid state fermentation using *trichoderma viride*. *BioMed Research International* 2015;10:1-9, Article ID 342716, <http://dx.doi.org/10.1155/2015/342716>.
30. Haddadin MSY, Haddadin J, arabiyat II and Hattar B. Biological conversion of olive pomace into compost using *trichoderma harzianum* and *phanerochaete chrysosporium*. *Biores. Technol* 2009; 100 : 4773 – 4782.
31. Zeng G, Yu M, Chen Y, Huang D, Zhang J, Huang H, Jiang R. and Yu Z. Effects of Inoculation with *P. chrysosporium* at various time points on enzyme activities during agricultural waste composting. *Biores. Technol* 2010; 101: 222 – 227.
32. Batool S, Asgher M, Sheikh MA and Rahman SU. Optimization of physical and nutritional factors for enhanced production of lignin peroxidase by *ganoderma lucidum* ibl-05 in solid state culture of wheat straw, *The Journal of Animal & Plant Sciences* 2013; 23(4): 1166-1176, ISSN: 1018-7081.
33. Irawati D, Azwar NR, Syafii W, dan Artika IM. Pemanfaatan serbuk kayu untuk produksi etanol dengan perlakuan pendahuluan delignifikasi menggunakan jamur *phanerochaete chrysosporium*. *Jurnal Ilmu Kehutanan* 2009; 3 (1): 13-22.
34. Gao H, Wang Y, Zhang W, Wang W and Mu Z. Isolation, identification and application in lignin degradation of an ascomycete GHJ-4, *African Journal of Biotechnology* 2011;.10(20): 4166-4174, <http://www.academicjournals.org/AJB>, DOI: 10.5897/AJB10.2250, ISSN 1684–5315.
35. Tišma M, Zelic B, Vasic-Racki D. White-rot fungi in phenols, dyes and other xenobiotics treatment – a brief review, *Croat. J. Food Sci. Technol* 2010; 2 (2): 34-47.

