

**BIODEGRADASI SERESAH *Acacia mangium* Willd
OLEH JAMUR LIGNOCELLULOLITIK**

**BIODEGRADATION OF *Acacia mangium* Willd. LEAF LITTER
BY LIGNOCELLULOLYTIC FUNGI**

Samingan¹, Endang Sutariningsih S.² and Jusup Subagja²

**Program Studi Biologi
Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada**

ABSTRACT

Research on biodegradation of *Acacia mangium* Willd. leaf litter by soil fungi was carried out. The aims of the research were to study the pattern of colonies of fungi grew on *Acacia* leaf litter and their abilities on degradation of litter.

The study was commenced by the observation on fungal colonies grow on forest floor at shaded and unshaded places at Wanagama I with light intensity 10-30 lux and 35-60 lux, respectively. The types of fungi grow on those litters were isolated with selective media. The fungi were cultivated on media containing xylan, cellulose (CMC), or lignin. The fungal growth was monitored by measuring mycelium dry weight. The enzyme activity was elucidated using cell free extract against xylan, CMC, and lignin. The fungal ability on degradation of leaf litter was observed. The enzyme profil was visualized using SDS-polyacrylamide gel electrophoresis.

The result showed that fungal colonies more spreadly and densely at shaded places than unshaded places with radius 20-50 cm and 12-25 cm, respectively. Three isolat were identified as *Curvularia sp* (T2), *Alternaria sp* (TT2), and *Trichoderma sp* (T4) had the highest lignolitic ability. These isolates were able to grow on medium containing xylan, CMC, or lignin as sole carbon sources. *Trichoderma sp* grew better with spesific growth (h^{-1}): on xylan 0.128; on CMC 0.103; and on lignin 0.095 than others. The ability of litter degradation showed that *Trichoderma sp* was able to release highest xylose, glukose, vanilin than *Curvularia sp* and *Alternaria sp*. Enzymes profile from free cell extract of *Trichoderma sp* showed that this fungi had cellulase constitutive and xylanase and ligninase were inducible depend on their substrat.

Key Words : *Biodegradation - litter - lignocellulocic material ligno-cellulolytic fungi*

1. FKIP Syiah Kuala University Banda Aceh

2. Biology Faculty Gadjah Mada University Yogyakarta

PENGANTAR

Jamur lignoselulolitik merupakan salah satu mikrobia yang mempunyai peran penting dalam proses biodegradasi seresah. Kemampuan jamur dalam mendegradasi bahan lignoselulosa pada seresah disebabkan oleh adanya sistem enzim lignoselulolitik yang dimilikinya, sehingga dapat merombak bahan lignoselulosa menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana (Zabel dan Morrell, 1992)

Pada lantai hutan *Acacia mangium* Willd. khususnya di Wanagama, seresah yang dihasilkan semakin lama semakin meningkat jumlahnya. Dekomposisi seresah itu memerlukan waktu yang panjang, karena memiliki bahan lignoselulosik yang tinggi dan hanya beberapa mikrobia yang mampu mendegradasi. Salah satu jenis mikrobia yang mampu mendegradasi seresah adalah jamur, khususnya jamur lignoselulolitik. Kemampuan jamur ini tumbuh pada seresah secara visual ditunjukkan oleh adanya pertumbuhan koloni, dan kolonisasi itu sangat tergantung pada keadaan lingkungan tempat tumbuhnya. Mengingat pentingnya peranan jamur lignoselulolitik ini dalam mendegradasi seresah yang mengandung bahan lignoselulosik, maka perlu diketahui bagaimana kolonisasi jamur yang tumbuh pada lantai hutan *Acacia mangium* Willd. di Wanagama, dan bagaimana karakter tumbuh serta kemampuan biodegradasi masing-masing isolat jamur lignoselulolitik yang diperoleh dari lantai hutan itu.

Penelitian ini bertujuan mengkaji kolonisasi jamur lignoselulolitik pada lantai hutan di Wanagama dan mengkaji kemampuannya dalam mendegradasi seresah *Acacia mangium* Willd. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang hubungan antara kolonisasi jamur lignoselulolitik pada seresah *Acacia mangium* Willd. di Wanagama dengan daya degradasinya, sehingga dapat digunakan untuk membantu mempelajari daur hara pada lantai hutan itu. Selain itu diharapkan dapat diungkap kemampuan jamur lignoselulolitik dalam mendegradasi seresah, sehingga dapat digunakan lebih lanjut untuk mendegradasi senyawa-senyawa rekaisistran yang lain.

CARA PENELITIAN

Pengamatan kolonisasi jamur pada lantai hutan

Pengamatan di lapangan bertujuan untuk mengamati kolonisasi jamur lignoselulolitik yang tumbuh pada lantai hutan *Acacia mangium* Willd di Wanagama. Pengamatan kolonisasi jamur pada seresah dilakukan di dua kondisi lingkungan yang berbeda, yaitu pada tempat yang teduh (dengan intensitas cahaya 10-30 lux) dan tidak teduh (dengan intensitas cahaya 35-60 lux). Kolonisasi diamati pada 10 lokasi di tempat teduh dan 10 lokasi di tempat yang tidak teduh, dan dilakukan secara acak menggunakan metode kuadrat.

Setiap kuadrat terlebih dahulu diamati kondisi fisik lantai hutannya yang meliputi pengukuran suhu, pH, kelembaban, dan ketebalan seresah yang ada pada lantai hutan itu.

Pengamatan kolonisasi jamur dilakukan dengan cara mengangkat seresah secara hati-hati, jamur yang tumbuh pada seresah diamati: warna, bentuk kolonisasi, ukuran (diameter perluasan) kolonisasi, dan hubungan antara koloni. Setelah pengamatan kolonisasi jamur, seresah yang ditumbuhi oleh jamur diambil dan dimasukkan ke dalam kantong plastik, lalu dibawa ke laboratorium untuk diisolasi.

Isolasi jamur lignoselulolitik

Jamur yang tumbuh pada seresah diisolasi, yaitu dengan memindahkan hifa masing-masing koloni ke media selektif yang mengandung 1,5% MEA, 0,5% lignin, dan 550 ppm streptomycin. Agar tidak terjadi kontaminasi, pelaksanaan dilakukan secara aseptik. Selanjutnya, isolat diinkubasi pada suhu kamar. Jika ternyata hasil yang diperoleh belum menunjukkan biakan murni, maka kegiatan di atas harus diulang kembali sampai diperoleh biakan yang betul-betul murni..

Pengujian kemampuan lignolitik dilakukan dengan membiakkan isolat dalam media MEA yang mengandung 0,5% asam tanat. Kemampuan lignolitik ditentukan berdasarkan klasifikasi Rao (1982) yang dilihat dari luas zona coklat di sekeliling koloni pada setiap isolat yang telah dinkubasikan selama enam hari.

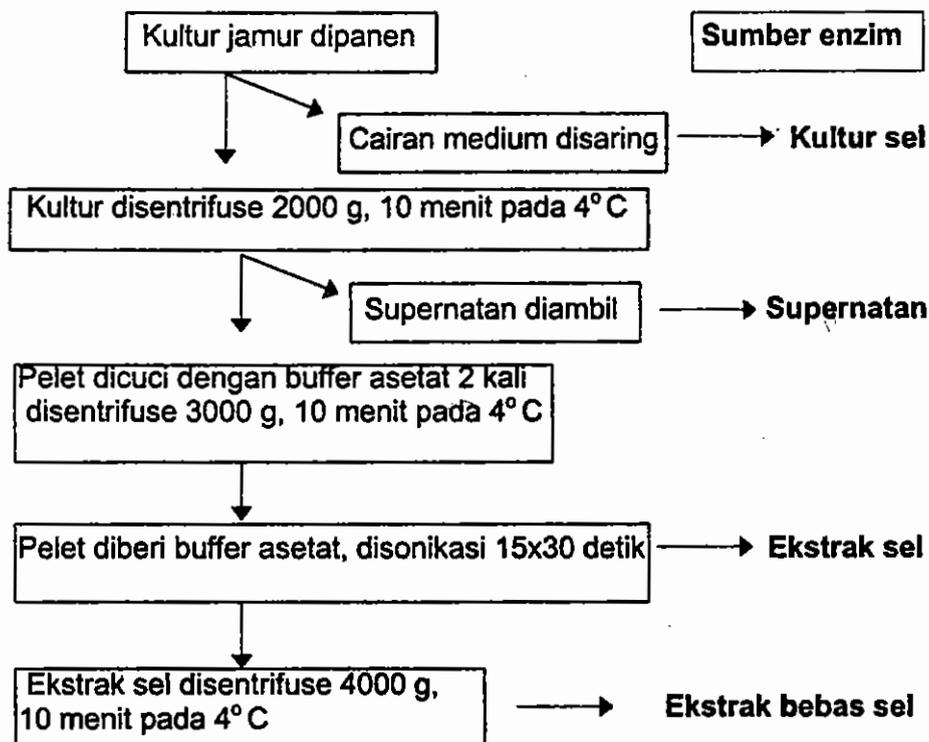
Uji kemampuan tumbuh isolat jamur pada berbagai substrat

Karakterisasi pertumbuhan isolat jamur yang memiliki kemampuan lignolitik tinggi diamati untuk mengetahui kondisi optimum yang dibutuhkan dan kinetika pertumbuhannya. Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan jamur pada media cair yang mengandung 1,5% (w/v) ekstrak malt dan 0,5% substrat berupa: hemiselulosa (silan), selulosa (CMC), atau lignin (lignin alkali). Isolat jamur diinkubasikan pada beberapa aras suhu, yaitu 20°, 40°, 60° C dan suhu kamar. Parameter pertumbuhan yang diamati adalah berat kering miselium, yang diamati setiap 24 jam sekali selama 6 hari.

Uji aktivitas enzim dalam perombakan lignoselulosa

Pengujian aktivitas enzim dilakukan dengan menumbuhkan isolat jamur dalam medium basal cair yang hanya mengandung 0,5% (w/v) substrat (lignin, CMC, atau silan) Hal ini dilakukan agar setiap isolat dapat menghasilkan enzim silanase, selulase, dan ligninase. Tiap-tiap isolat diinkubasikan pada suhu kamar dan digojog dengan

kecepatan 150 rpm. Setelah 5 hari kultur dipanen. Cara yang dilakukan untuk memperoleh sumber enzim adalah sebagai berikut:



Keempat sumber enzim yang diperoleh diuji aktivitasnya pada tiga macam substrat yang masing-masing mengandung 1% (lignin, CMC, dan silan) dalam buffer asetat 50 mM pH 5,5. Masing-masing substrat diambil 8 mL, ditambah 1 mL enzim, dan 1 mL akuades. Campuran larutan itu difortek, kemudian setiap 5 menit sekali diukur aktivitasnya, lalu diulangi 4 kali (20 menit).

Pengukuran aktivitas spesifik dilakukan dengan cara menghitung banyaknya produk yang dihasilkan dari reaksi enzim itu (mol zat per menit per gram protein) (Efik, 1996). Produk yang diukur adalah vanilin dari lignin, gula reduksi (silosa dari silan dan glukosa dari CMC). Pengukuran produk yang dihasilkan, untuk gula reduksi dilakukan dengan cara mengambil 1 mL sampel lalu ditambahkan pada 3 mL reagen DNS dan 1 mL akuades (Muller, 1959), sedangkan untuk vanilin, 1 mL sampel ditambahkan pada 4 mL metanol (Anonymous, 1979), kemudian masing-masing diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm (untuk silosa), 560 nm (glukosa), dan 335 nm (vanilin).

Uji kemampuan isolat jamur mendegradasi seresah *Acacia*

Substrat yang digunakan adalah seresah daun *Acacia mangium* Willd. yang diperoleh dari Wanagama I. Seresah dikeringkan, lalu ditumbuk dan disaring lolos 16 mesh. Serbuk daun yang diperoleh, digunakan sebagai substrat. Lima gram substrat dimasukkan ke dalam cawan petri, lalu ditambahkan larutan yang mengandung medium basal sampai berbentuk seperti pasta (\pm 10 mL). Kemudian sediaan substrat disterilisasi.

Isolat jamur yang mempunyai kemampuan lignolitik tinggi diinokulasikan ke dalam substrat seresah *Acacia*, lalu diinkubasikan pada suhu kamar. Pengamatan dilakukan pada hari ke: 0, 1, 2, 4, 8, 12, 10, dan 14. Senyawa hasil biodegradasi lignoselulosik berupa, vanilin dan gula reduksi, yaitu glukosa dan silosa. Pengukuran kandungan senyawa itu menggunakan spektrophotometer.

Visualisasi enzim

Visualisasi profil enzim hanya dilakukan pada isolat yang memiliki kemampuan biodegradasi yang tinggi, dan bertujuan untuk mengetahui profil enzim yang dimiliki oleh jamur itu. Jamur yang memiliki kemampuan biodegradasi tinggi dibiakkan dalam tiga macam medium cair, yang masing-masing hanya mengandung 5 g/liter substrat lignin, CMC, dan silan. Jamur dibiakkan dalam 250 mL medium lalu diinkubasi pada suhu kamar selama 5 hari, dan digojog dengan kecepatan 150 rpm. Setelah itu, kultur dipanen dan dibuat ekstrak bebas sel dengan cara yang sama dengan pembuatan sumber enzim ekstrak bebas sel pada pengujian aktivitas enzim. Sebelum digunakan ekstrak bebas sel yang diperoleh disimpan pada suhu -20°C .

Penentuan pola dan berat molekul enzim dilakukan dengan metode SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfat - Polyacrilamyn Gel Electrophoresis). Kadar akrilamid yang digunakan adalah 10%. Pengecatan dilakukan dengan coomassie brilliant blue R250.

Pita-pita protein enzim yang terbentuk pada gel diukur jaraknya untuk mengetahui nilai R_f -nya. Dengan bantuan kurva baku protein standar yang berupa hubungan logaritmik berat molekul protein standar dengan nilai R_f -nya, maka berat molekul protein sampel dapat dihitung (Scopes, 1982).

Identifikasi isolat jamur

Kegiatan ini dilakukan hanya pada isolat jamur yang mempunyai kemampuan lignolitik tinggi. Identifikasi dilakukan berdasarkan pengamatan morfologi makroskopik koloni, morfologi mikroskopik hifa, dan morfologi spora aseksual yang dihasilkan oleh

jamur. Ciri-ciri dan struktur yang diamati dicocokkan dengan buku acuan yang digunakan untuk identifikasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kolonisasi jamur lignoselulolitik

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pertumbuhan koloni jamur yang tumbuh di tempat teduh berbeda dengan di tempat tidak teduh. Di tempat teduh kolonisasinya menyebar dengan radius sekitar 20-50 cm, sedangkan pada tempat yang tidak teduh kolonisasi terbatas, membentuk kelompok-kelompok kecil dengan radius sekitar 12-25 cm. Pola pertumbuhan koloni dari jamur yang tumbuh pada kedua tempat itu, bila diamati dari jauh berbentuk seperti lingkaran yang memiliki titik pusat tertentu.

Perbedaan pertumbuhan koloni pada kedua tempat itu, disebabkan oleh adanya perbedaan kondisi lingkungan, terutama perbedaan kelembaban. Pada tempat teduh kelembaban lebih tinggi daripada di tempat tidak teduh. Hal ini disebabkan oleh rindangnya tegakan yang ada sehingga menghalangi sampainya sinar matahari ke lantai hutan. Selain itu, perbedaan pertumbuhan koloni pada lantai hutan juga disebabkan oleh tebalnya tumpukan seresah yang menghalangi penguapan air yang lebih besar.

Akibat kelembaban yang tinggi, memungkinkan koloni jamur pada tempat yang teduh dapat tumbuh dan berkembang dengan baik, karena kelembaban tinggi berkaitan dengan kebutuhan air yang diperlukan untuk pertumbuhan jamur (Carlile dan Watkinson, 1994; Coates dan Rayner, 1985). Di tempat yang tidak teduh kelembaban lebih rendah, yang menyebabkan kebutuhan air bagi koloni jamur tidak tercukupi sehingga pertumbuhan koloninya juga terhambat.

Kolonisasi jamur lignoselulolitik yang tumbuh pada lantai hutan *Acacia mangium* Willd. di Wanagama tidak hanya menyebar dipermukaan seresah saja tetapi juga menembus lapisan-lapisan seresah yang ada di bawahnya sekitar 2-4 cm. Keadaan ini memungkinkan terjadinya kontak antara miselium jamur dengan seresah menjadi lebih luas, sehingga dapat mempercepat proses degradasi. Abdalla dan Boddy (1996) melaporkan bahwa terdapat variasi pertumbuhan koloni jamur *Phanerochaeta velutina* yang tumbuh pada tanah, seresah, humus hutan konifer, dan hutan angiosperm. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan tempat tumbuh dapat menyebabkan perbedaan kolonisasi jamur itu. Dalam penelitian ini, jamur yang diamati juga menunjukkan adanya perbedaan pertumbuhan kolonisasi walaupun jamur tersebut tumbuh pada seresah lantai hutan yang sama, yaitu seresah *Acacia mangium* Willd.

Berdasarkan uraian di atas terlihat bahwa perbedaan kondisi lingkungan, terutama lingkungan mikro pada seresah lantai hutan dapat mempengaruhi kolonisasi jamur lignoselulolitik yang tumbuh pada seresah itu.

Isolasi jamur lignoselulolitik

Delapan belas macam jamur yang tumbuh pada seresah lantai hutan *Acacia mangium* Willd. di Wanagama dapat diisolasi, dan enam di antaranya memiliki kemampuan lignolitik. Sifat lignolitik dilihat dari kemampuan jamur yang ditumbuhkan pada medium yang mengandung asam tanat membentuk zona coklat pada pinggir lingkaran koloninya. Hasil uji lignolitik menunjukkan ada tiga jenis isolat yang memiliki kemampuan tinggi, yaitu isolat TT2 (kelas 4), T2 (kelas 4), dan T4 (kelas 3).

Kemampuan tumbuh isolat jamur pada berbagai substrat

Hasil pengujian kemampuan tumbuh isolat jamur pada substrat silan, CMC, dan lignin menunjukkan bahwa ketiga isolat (T2, TT2 dan T4) mampu tumbuh pada ketiga substrat yang diujikan. Berdasarkan pengukuran berat kering miselium jamur selama 6 hari, pertumbuhan optimum terjadi pada suhu kamar (30° C), dengan kecepatan tumbuh masing-masing (per jam), pada substrat silan: T2 (0,096), TT2 (0,052), T4 (0,128); pada CMC: T2 (0,097), TT2 (0,041), T4 (0,103); dan pada lignin: T2 (0,090), TT2 (0,062), T4 (0,095). Dari hasil pengamatan terlihat bahwa pada hari ke nol sampai hari ke satu setelah inokulasi, terlihat adanya kenaikan pertumbuhan yang agak tinggi. Hal ini disebabkan oleh masih banyaknya sumber nutrisi yang berasal dari medium dasar. Pada hari ke satu sampai ke tiga pertumbuhan terjadi agak lambat, sebab sel-sel jamur belum dapat menggunakan substrat secara optimal karena enzim-enzim yang dibutuhkan belum diekskresikan. Fase linier umumnya terjadi pada hari ke tiga sampai hari ke lima, kecuali pada isolat T4 terjadi pada hari ketiga sampai ke empat. Pada hari ke enam pertumbuhan tidak begitu terlihat, bahkan cenderung terjadi penurunan.

Aktivitas enzim pada senyawa lignoselulosa

Aktivitas enzim ditentukan dengan cara mengkonversi produk yang dihasilkan dari reaksi enzim ke dalam satuan aktivitas enzim, yaitu satu unit enzim dinyatakan dengan banyaknya enzim yang sanggup membebaskan 1 mol produk dari substrat per menit (Efioek, 1996). Hasil pengujian aktivitas enzim dari ketiga isolat jamur disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Aktivitas enzim spesifik dari ketiga macam isolat pada substrat silan, CMC, dan lignin

Isolat	Sumber isolat	Aktivitas enzim spesifik (U/mg protein/jam)		
		Silapanase	CMCase	Ligninase
T2	Kultur sel	0,0473	0,0299	0,0108
	Supernatan	0,0663	0,0469	0,0415
	Ekstrak sel	0,1515	0,0214	0,0393
	Ekstrak bebas sel	0,1776	0,1063	0,0934
TT2	Kultur sel	0,1179	0,0129	0,0139
	Supernatan	0,1487	0,0247	0,0254
	Ekstrak sel	0,0618	0,0156	0,1176
	Ekstrak bebas sel	0,1569	0,1378	0,2088
T4	Kultur sel	0,0583	0,0375	0,0101
	Supernatan	0,0843	0,0758	0,0201
	Ekstrak sel	0,0213	0,0394	0,0412
	Ekstrak bebas sel	0,1088	0,0853	0,0630

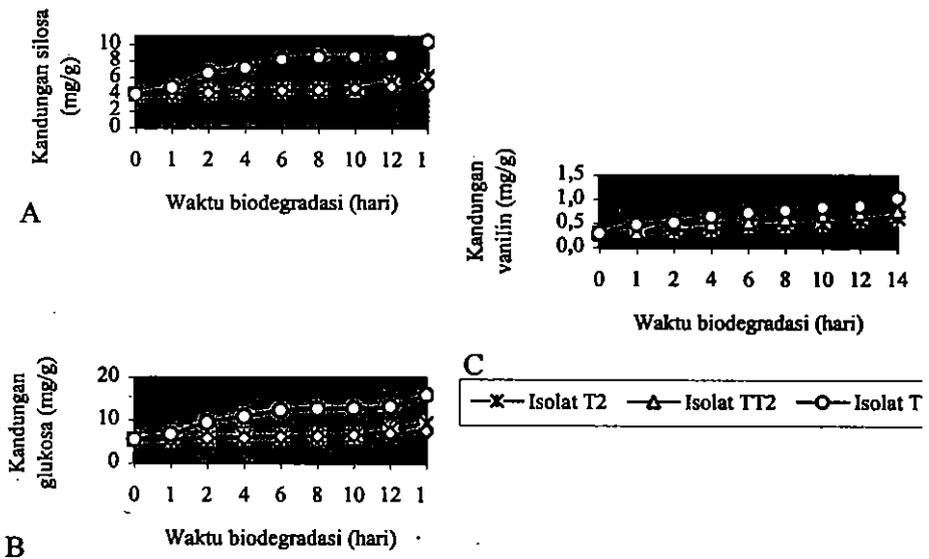
Tabel 1 menunjukkan bahwa berdasarkan sumber enzimnya terdapat perbedaan aktivitas spesifik antara kultur sel, supernatan, ekstrak sel, dan ekstrak bebas sel. Hal tersebut terjadi baik pada silanase, selulase maupun ligninase. Aktivitas tertinggi terdapat pada ekstrak bebas sel. Tingginya aktivitas spesifik enzim dari ekstrak bebas sel karena enzim-enzim yang berasal dari membran sel maupun dari sitoplasma telah terekstraksi akibat perlakuan sonikasi dan sentrifugasi. Keadaan ini menunjukkan bahwa walaupun pada umumnya jamur mengekskresikan enzim ekstraseluler, namun masih ada enzim yang terikat pada dinding selnya. Lyman *et al.*, (1995), melaporkan bahwa jamur *Phanerochaeta chrysosporium* menghasilkan tiga enzim yang berbeda, yaitu ekstraseluler, intraseluler dan yang berikatan dengan dinding sel, tergantung dari sumber karbonnya.

Apabila dilihat dari macam isolatnya, juga menunjukkan adanya perbedaan aktivitas spesifik enzimnya, baik untuk silanase, selulase maupun ligninase. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa

enzim yang dihasilkan oleh isolat TT2 memiliki aktivitas tinggi untuk selulase dan ligninase, sedangkan aktivitas silanase tertinggi dihasilkan oleh isolat T2. Isolat T4 memiliki aktivitas yang rendah baik untuk silanase, selulase maupun ligninase. Berdasarkan pengujian aktivitas enzim dari ketiga isolat tersebut menunjukkan bahwa ketiga isolat mempunyai kemampuan lignoselulolitik.

Kemampuan biodegradasi seresah oleh isolat jamur

Kemampuan isolat jamur mendegradasi seresah ditentukan berdasarkan jumlah produk yang dihasilkan dari proses degradasi seresah *Acacia mangium* Willd. Produk yang dimaksud adalah gula reduksi (silosa dan glukosa) dan vanilin. Hasil pengamatan terhadap produk yang dihasilkan oleh aktivitas ketiga isolat jamur yang diuji dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kandungan produk yang dihasilkan selama proses biodegradasi oleh ketiga isolat jamur
 A = kandungan silosa, B = kandungan glukosa, C = kandungan vanilin

Gambar 1 menunjukkan bahwa isolat T4 memiliki kemampuan biodegradasi yang tinggi dibandingkan dengan isolat TT2 dan T2. Kemampuan degradasi T4 ini terlihat dari jumlah silosa dan glukosa yang dihasilkan yaitu 0,424 dan 0,696 mg/hari), sedangkan vanilin yang dihasilkan hanya (0,049 mg/hari). Isolat TT2 mampu menghasilkan vanilin lebih tinggi (0,032 mg/hari) daripada T2 (0,022 mg/hari), walaupun masih dibawah kemampuan isolat T4. Tingginya kemampuan degradasi dari isolat T4 mungkin disebabkan oleh kemampuan tumbuh miseliumnya yang lebih tinggi dibandingkan dengan kedua isolat lainnya, sehingga luas permukaan substrat yang dapat dijangkau oleh miselium jamur lebih luas (Donnelly dan Boddy, 1997). Oleh karena itu, walaupun isolat T4 memiliki aktivitas enzim yang rendah, namun karena tingkat pertumbuhan miseliumnya sangat tinggi memungkinkan enzim yang diekresikan ke substrat lebih banyak dibandingkan dengan kedua isolat lainnya. Hasil rata-rata kandungan produk yang dihasilkan selama proses biodegradasi disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata kandungan produk yang dihasilkan selama biodegradasi oleh ketiga isolat jamur

Hari	Kandungan silosa			Kandungan glukosa			Kandungan vanilin		
	T2	TT2	T4	T2	TT2	T4	T2	TT2	T4
0	4,025 ^a	4,022 ^a	4,025 ^a	5,500 ^a	5,512 ^a	5,509 ^a	0,302 ^b	0,301 ^a	0,299 ^a
1	4,086 ^a	4,090 ^{ab}	4,826 ^b	5,535 ^a	5,589 ^a	6,774 ^b	0,306 ^b	0,309 ^a	0,483 ^b
2	4,304 ^b	4,215 ^{bc}	6,623 ^c	5,894 ^b	5,780 ^b	9,526 ^c	0,364 ^b	0,489 ^b	0,530 ^c
4	4,444 ^c	4,346 ^{cd}	7,204 ^d	6,181 ^c	5,894 ^b	10,864 ^d	0,388 ^b	0,512 ^b	0,655 ^d
6	4,511 ^d	4,476 ^{de}	8,207 ^e	6,201 ^c	6,201 ^c	12,317 ^e	0,467 ^c	0,542 ^{bc}	0,733 ^e
8	4,542 ^d	4,529 ^e	8,491 ^f	6,315 ^{cd}	6,296 ^c	12,699 ^f	0,471 ^c	0,608 ^d	0,780 ^f
10	4,629 ^e	4,782 ^f	8,547 ^f	6,429 ^d	6,636 ^d	12,775 ^f	0,504 ^{cd}	0,697 ^d	0,846 ^g
12	5,502 ^f	4,913 ^f	8,730 ^f	7,844 ^e	6,946 ^d	13,196 ^g	0,584 ^b	0,727 ^d	0,870 ^g
14	6,189 ^g	5,240 ^g	10,389 ^g	9,408 ^f	7,557 ^f	15,948 ^h	0,632 ^f	0,780 ^f	1,030 ^h

Keterangan: - Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya

perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

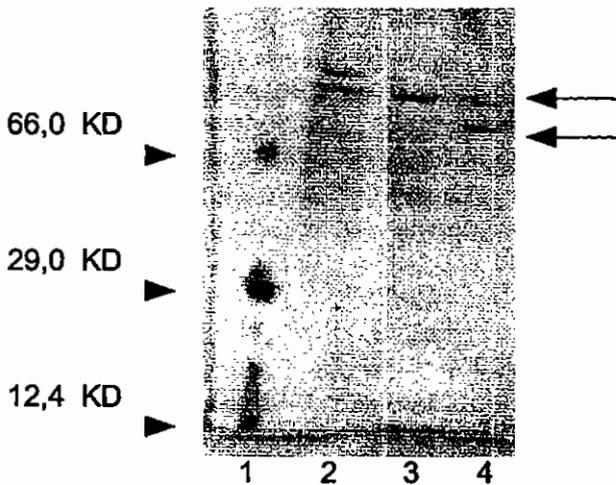
- T2, TT2, dan T4 = kode isolat jamur

Pada Tabel 2 terlihat bahwa waktu biodegradasi berpengaruh nyata terhadap produk yang dihasilkan oleh ketiga isolat jamur, dengan bertambahnya waktu maka kandungan produk juga meningkat. Kandungan produk tertinggi terjadi pada hari ke 14 untuk semua produk yang dihasilkan dari perombakan seresah oleh ketiga isolat jamur. Pada hari ke nol dan ke satu terutama pada isolat T2 dan TT2 menghasilkan produk yang tidak berbeda nyata jumlahnya, sedang pada T4 terdapat beda yang nyata antara hari ke nol dan ke satu. Dengan demikian isolat T2 dan TT2 baru mulai aktif merombak substrat pada hari ke dua, sedang isolat T4 mulai aktif pada hari ke satu.

Kandungan vanilin yang dihasilkan dari perombakan substrat oleh aktivitas ketiga isolat jamur sangat kecil dibandingkan dengan kandungan silosa dan glukosa. Hal ini disebabkan oleh sukarnya senyawa lignin mengalami degradasi dibandingkan dengan hemiselulosa dan selulosa (Monties,1994). Selain itu dalam menggunakan sumber C, jamur akan menggunakan terlebih dahulu sumber C yang lebih mudah untuk dirombak, setelah itu baru menggunakan sumber C lain yang ada di sekitarnya. Rothschild *et al.*, (1995) dan Jeffries *et al.*, (1981), menyatakan bahwa aktivitas lignolitik merupakan metabolisme sekunder yang dipicu oleh lingkungan yang kekurangan C, N, dan S. Dengan demikian perombakan lignin akan terjadi secara optimal jika sumber C lain sudah berkurang. Arah metabolisme sekunder tergantung dari substrat yang tersedia dan kemampuan jamur mengekspresikan gen-gen yang mengkode protein enzim yang dibutuhkan untuk merombak substrat tersebut.

Visualisasi Enzim

Visualisasi enzim hanya dilakukan pada jamur yang memiliki kemampuan biodegradasi tinggi yaitu isolat T4. Analisa enzim dilakukan pada ekstrak bebas sel dengan menggunakan metode SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfat-Poly-acrilamyn Gel Electrophoresis*) 10%. Hasil analisis tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Gel akrilamid hasil analisis dengan elektroforesis dari enzim isolat T4

- 1 = marker,
- 2 = enzim dari sel jamur yang dibiakkan dalam silan,
- 3 = enzim dari sel jamur yang dibiakkan dalam CMC, dan
- 4 = enzim dari sel jamur yang dibiakkan dalam lignin

Hasil elektroforesis enzim dari ekstrak bebas sel isolat T4 setelah diwarnai dengan coomassie blue, menunjukkan isolat ini memiliki enzim (BM 102,33 KD) yang bersifat konstitutif diduga selulase, dimiliki oleh semua jamur yang ditumbuhkan dalam substrat silan, CMC maupun lignin. Jamur yang ditumbuhkan pada substrat silan memiliki enzim (BM 104,71 KD) yang tidak ada pada substrat CMC maupun lignin. Sedang jamur yang ditumbuhkan dalam lignin juga mempunyai enzim (BM 89,13 KD) yang tidak ada pada substrat silan maupun CMC. Dengan demikian isolat ini mempunyai enzim yang bersifat konstitutif, yaitu selulase, dan enzim yang bersifat inducibel, yaitu silanase dan ligninase.

Identifikasi isolat jamur

Identifikasi dilakukan dengan mengamati ciri morfologi koloni, miselium dan spora aseksual dari ketiga isolat. Berdasarkan pengamatan terhadap ciri morfologi koloni, hifa dan spora aseksualnya, isolat T2 termasuk dalam Genus *Curvularia*, isolat TT2 termasuk dalam Genus *Alternaria*, dan isolat T4 termasuk dalam Genus *Trichoderma* (Gilman, 1959).

KESIMPULAN

1. Jamur benang mampu mengkolonisasi seresah *Acacia mangium* Willd. di Wanagama. Pertumbuhan koloninya dipengaruhi oleh keadaan lingkungan, terutama kelembabannya.
2. Tiga macam jamur yang tumbuh pada seresah *Acacia mangium* Willd. telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi, yaitu *Curvularia sp* (T2), *Alternaria sp* (TT2) dan *Trichoderma sp* (T4). Berdasarkan klasifikasi Rao, ketiga macam jamur tersebut mempunyai kemampuan lignolitik tinggi.
3. Ketiga macam jamur mampu tumbuh pada medium yang hanya mengandung silan, CMC atau lignin, namun *Trichoderma sp* mampu tumbuh lebih baik dari pada jamur lainnya dengan pertumbuhan spesifik (jam^{-1}): pada silan = 0,128; pada CMC = 0,103; dan pada lignin = 0,095.
4. *Trichoderma sp* mampu mendegradasi seresah lebih tinggi dari pada *Curvularia sp* dan *Curvularia sp*, yaitu mampu melepaskan silosa 0,424 mg/hari, glukosa 0,696 mg/hari, vanilin 0,049 mg/hari. Melihat besarnya potensi kemampuan *Trichoderma sp* dalam mendegradasi seresah *Acacia*, maka isolat ini memungkinkan untuk digunakan sebagai inokulum dalam usaha mempercepat degradasi seresah di lantai hutan *Acacia*.
5. Visualisasi profil enzim dari ekstrak bebas sel *Trichoderma sp* menunjukkan bahwa jamur ini mempunyai enzim yang bersifat konstitutif yaitu selulase, dan enzim yang bersifat inducibel yaitu silanase dan ligninase tergantung dari substratnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdalla, S.H.M. dan Boddy, L., 1996, Effect of Soil and Litter Type on Outgrowth Patterns of Mycelial System of *Phanerochaete valutina*. *FEMS Microbiol. Ecol.* 20: 195-204.
- Anonim, 1979, *Farmakope Indonesia*. Edisi ketiga. Departemen kesehatan RI.
- Carlile, M.J. dan Watkinson, S.C., 1994, *The Fungi*. Academic Press, London.
- Chapella, I.H. dan Boddy, L., 1988, The Fate of Early Fungal Colonizer in Beech Branches Decomposing on The Forest Floor. *FEMS Microbiol. Ecol.* 53, 273-284.
- Coates, D. dan Rayner, A.D.M., 1985), Fungal Population and Community Development in Cut Beech Logs, III. Spatial Dynamics, Interactions and Strategies. *New Phytol.* 101, 183-198.

- Colpaert, J.V. dan Vantichelen, K.K., 1996, Decomposition, Nitrogen and Phoporus Mineralization from Beech Leaf Litter Colonized by Ectomycorrhizal or Litter-decomposing Basidiomycetes. **New Phytologist** 134:1 (sep.): 123-132.
- Dickinson, C.H. dan Pugh, G.J.F., 1974, **Biology of Plant Litter Decomposition**. Volume 1. Academic Press, New York.
- Donnelly, D.P. dan Boddy, L., 1997, Resource acquisition by The Mycelial-former *Stropharia caerulea*: Effect of Resource Quantity and Quality. **FEMS Microbiol. Ecol.** 23: 195-205.
- Efiok, B.J.S., 1996, **Basic Calculations for Chemical and Biological Analyses**. AOAC International, Maryland USA.
- Fukushima, Y., dan Kirk, T.K., 1995, Laccase Component of the *Ceriporiopsis subvermispota* Lignin-Degradating System. **Appl. Environ. Microbiol.** 61 (3): 872 - 876.
- Gilman, J.C., 1959, **A manual of Soil Fungi**. Oxford & IBH Publishing Co. New Delhi.
- Goto, M., Furukawa, K., dan Hayashida, S., 1992, An Avicel-affinity Site in an Avicel-digesting Exosellulase from a *Trichoderma viride* Mutant. **Biosci. Biotech. Biochem.** 56 (10): 1523-1528.
- Hatakka, A., 1994, Lignin-Modifying Enzymes from Selected White-rot Fungi: Production and Rol in Lignin Degradation. **FEMS Microbiol. Ecol.** 13: 125-135.
- Jeffries, T.W., Choi, S., dan Kirk, T.K., 1981, Nutritional Regulation of Lignin Degradation by *Phanerochaete chrysosporium*. **Appl. Environ. Microbiol.** 42 (2) : 290 - 296
- Lymar, E.S., Li, B. dan Renganathtan , V., 1995, Purification and Characterization of a Cellulose-Binding -Glucosidase from Cellulosa-DegradingCultures of *Phanerochaete chrysosporium*. **Appl. Environ. Microbiol.** 61 (8) : 2976 - 2980
- Monties, B., 1994, Chemical Assesment of Lignin Biodegradation some Qualitative and Quantitative Aspects. **FEMS Microbiol. Ecol.** 13: 277-284.
- Muller, G.L., 1959, Use of Dinitrosalisylic Acid Reagen. Methode for Determination of Reducing Sugar. **Analitical Chemistry.** 31. 426-428
- Rao, N.S.S. 1982, **Biofertilizers in Agriculture**. Oxpord and IBH Publishing Co., New Delhi.
- Rodriguez, A., Perestelo, F., Carnicero, A., Regalado,V., Perez, R., De la Fluente, G., dan Falcon, M.A., 1996, Degradation of Natural Lignins and Lignocellulosic Substrates by Soil-Inhabiting Fungi Inperfecti. **FEMS Microbiol. Ecol.** 21: 213 - 219.

- Rothschild, N., Hader, Y. dan Doretz, C., 1995, Lygnolitic System Formation by *Phanerochaete chrysosporium* in Air. **Appl. Environ. Microbiol.** 61 (5): 1833 - 1838.
- Ruttimann-Johnson, C., Cullen, D., dan Lamar R.T., 1994, Manganase Peroxidases of the White Rot Fungus *Phanerochaete sordida*. **Appl. Environ. Microbiol.** 60 (2): 599-605).
- Scopes, R.K., 1982, **Protein Purification: Principles and Practice.** Second Edition. Spinger-Verlag, New York.
- Vares, T., Kalsi, M., dan Hatakka, A., 1995, Lignin Peroxidases, Manganase Peroxidases, and other Lignolytic Enzymes Produced by *Phlebia radiata* during Solid-State Fermentation of Wheat Straw. **Appl. Environ. Microbiol.** 61 (10): 3515-3520.
- Zabel, R.A. and Morrell, J.J., 1992, **Wood Microbiology: Decay and Its Prevention,** Academic Press Inc, New York.