

**SELEKSI DAN KARAKTERISASI MIKROBA LIGNOSELULOLITIK
YANG DIISOLASI DARI LIMBAH SERBUK GERGAJI SEBAGAI
MEDIA TANAM JAMUR TIRAM (*Pleurotus ostreatus*)*
[Screening and Characterization of Lignocellulolytic Microbes Isolated from Saw Dust
Waste as Growth Medium of Oyster Mushrooms (*Pleurotus ostreatus*)]**

R Haryo Bimo Setiarto  dan Iwan Saskiawan

Bidang Biokimia Mikroba, Pusat Penelitian Biologi LIPI
Jalan Raya Jakarta-Bogor Km 46, Kawasan CSC Cibinong 16911, Jawa Barat
e-mail: haryobimo42@yahoo.com; hp: 081327025330

ABSTRACT

Spent Mushroom Substrate (SMS) is a composted growing medium that results from the mushroom growing process. The utilization of SMS for biofertilizer or soil conditioner would be an important point in green agriculture. The study revealed the lignocellulolytic activity from 20 isolates of Fungi and 13 isolates of Bacteria which were isolated from sawdust as a spent mushroom substrate of *Pleurotus ostreatus*. The selected microorganism then would be used as inoculant for the production of biofertilizer using SMS as a main material. The lignocellulolytic system consist of laccase, cellulase and xylanase activity was analyzed. The results shown that among 20 isolates of Fungi, the highest activity of laccase, cellulase, and xylanase was obtained from the isolates 2F1, 2F4 and 2F5. There was (6.153 U, 4.662 U, 3.791U) for laccase, (6.740, 3.711 U, 3.605 U) for cellulase and (6.870 U, 4.673 U, 3.773 U) for xylanase respectively for 2F1, 2F4 and 2F5. Furthermore, the characterization of the highest lignocellulolytic fungi was also conducted. The isolate 2F1 optimally grow in pH 5 at 40°C, isolate 2F4 in pH 9 at 30°C and isolate 2F5 in pH 5 at 30°C. The identification of isolated fungi are in the progress.

Key words: Spent Mushroom Substrate (SMS), *Pleurotus ostreatus*, microbial lignocellulolytic, biofertilizer

ABSTRAK

Permintaan yang tinggi terhadap jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) mengakibatkan budidaya jamur jenis ini semakin banyak dilakukan masyarakat. Para petani biasanya menggunakan serbuk gergaji untuk media tanam jamur tiram, karena limbah media tanam yang berupa serbuk gergaji yang mengandung miselia jamur, terdapat dalam jumlah yang melimpah. Pemanfaatan limbah tersebut untuk pupuk organik kompos merupakan salah satu alternatif yang dapat dilakukan. Tujuan penelitian ini adalah melakukan seleksi dan karakterisasi mikroba lignoselulolitik yang diisolasi dari limbah media tanam jamur tiram. Mikroba terseleksi tersebut selanjutnya akan digunakan sebagai inokulan untuk pembuatan pupuk kompos. Dari hasil isolasi diperoleh 20 isolat jamur dan 13 isolat bakteri. Semua isolat tersebut diuji aktivitas lignoselulolitiknya yang meliputi aktivitas enzim selulase, xilanase, dan lakase. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa terdapat 3 isolat jamur memiliki aktivitas lignoselulolitik yang lebih tinggi dari bakteri yaitu isolat 2F1, 2F4, dan 2F5. Aktivitas lignoselulolitik ke 3 isolat tersebut adalah (6.153 U, 4.662 U, 3.791) untuk lakase, (6.740 U, 3.711 U, 3.605 U) untuk selulase dan (6.870 U, 4.673 U, 3.773 U) untuk xilanase pada isolat 2F1, 2F4, 2F5. Selanjutnya dilakukan karakterisasi untuk mengetahui suhu dan pH optimum bagi pertumbuhan ketiga isolat jamur tersebut. Penentuan pertumbuhan jamur tersebut dilakukan dengan mengukur bobot biomasa kering miselium jamur. Suhu dan pH optimum untuk pertumbuhan jamur tersebut adalah pH 5 dan suhu 40 °C (2F1); pH 9 dan suhu 30 °C (2F4) serta pH 5 dan suhu 30 °C (2F5).

Kata kunci: Limbah serbuk gergaji, budidaya jamur tiram, *Pleurotus ostreatus*, mikroba lignoselulolitik, pupuk kompos

PENDAHULUAN

Limbah pertanian berupa serbuk gergaji merupakan salah satu substrat yang kaya lignoselulosa. Di dalam mekanisme biodegradasi senyawa lignoselulosa secara ensimatis, enzim – enzim yang berperan adalah selulase, xilanase, dan lakase. Enzim tersebut banyak diproduksi oleh isolat jamur yang ditumbuhkan dalam media yang kaya akan kandungan lignoselulosa (Dixon dan Webb, 1979; Dalbey *et al.*, 2007). Selulase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis ikatan β -1,4 glukosida pada selulosa dan turunannya. Enzim ini dapat mengubah selulosa tak tersubstitusi menjadi selobiosa yang kemudian di-

hidrolisis lebih lanjut dengan β -glukosidase. Pemutusan ikatan ini menghasilkan oligosakarida turunan selulosa, untuk akhirnya diubah menjadi monomer glukosa. Selulase termasuk sistem multiensim yang terdiri dari endoglukanase (EC.3.2.1.4), selobiohidrolase (EC.3.2.1.91), dan β -glukosidase (EC.3.2.1.21) (Ahamed dan Vermette, 2008; Bhat dan Bhat, 1997). Xilanase merupakan kelompok enzim yang memiliki kemampuan menghidrolisis xilan atau polimer dari xilosa. Xilanase dapat diklasifikasikan berdasarkan substrat yang dihidrolisis, yaitu β -xilosidase, eksoxilase, dan endoxilase. Eksoxilase mampu memutus rantai polimer xilosa (xilan)

*Diterima: 26 Desember 2012 - Disetujui: 20 Februari 2013

pada ujung reduksi, sehingga menghasilkan xilosa sebagai produk utama dan sejumlah oligosakarida rantai pendek (Da Silva *et al.*, 2005; Dewi, 2002; Linko *et al.*, 1984). Lakase (benzendiol: oksigen oxidoreduktase, EC 1.10.3.2) merupakan enzim ekstraseluler yang menggunakan senyawa oksigen untuk menjalankan reaksi oksidasi berbagai senyawa aromatik dan nonaromatik. Enzim ini termasuk ke dalam kelas enzim oksidase yang memerlukan ion logam. Dalam kinerjanya enzim lakase hanya memerlukan oksigen dan menghasilkan air sebagai satu-satunya produk samping. Substrat utama lakase adalah senyawa-senyawa lignin dan reaksi oksidasi yang dijalani tidak akan menghasilkan senyawa hidrogen peroksida (Couto and Toca Herrera, 2006; Couto and Toca Herrera, 2007; Kirk dan Farrel, 1987; Kruus, 2000). Enzim lakase merupakan salah satu dari enzim pendegradasi lignin (ligninase), di samping dua enzim lainnya yaitu enzim lignin peroksidase dan manganese peroksidase (Jeffries, 1994; Kerem *et al.*, 1992).

Serbuk gergaji pada umumnya digunakan sebagai media tanam jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*). Permintaan pasar terhadap tubuh buah jamur tiram yang tinggi membuat volume produksi jamur tiram meningkat. Hal ini akan berdampak terhadap meningkatnya jumlah limbah serbuk gergaji yang digunakan sebagai media tanam jamur tiram. Umumnya limbah serbuk gergaji media tanam jamur tiram sebagian besar akan dibuang. Akan tetapi limbah serbuk gergaji kayu sebenarnya masih dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pupuk organik atau sebagai pakan ikan (Dewi, 2002). Hal ini disebabkan oleh tingginya kandungan karbon (C) dan nitrogen (N) yang terdapat di dalamnya akibat proses hidrolisis oleh mikroba lignoselulolitik. Oleh karena itu limbah serbuk gergaji sangat potensial apabila digunakan untuk memperbaiki struktur tanah yang mengalami kerusakan karena miskinnya kandungan unsur hara seperti senyawa karbon (C) dan nitrogen (N). Isolasi terhadap mikroba lignoselulolitik (jamur dan bakteri) dari limbah serbuk gergaji jamur tiram sangat penting dilakukan untuk mendapatkan starter inokulan yang diperlukan dalam pembuatan pupuk organik

hayati. (Deacon, 1997).

Tujuan penelitian ini adalah melakukan seleksi dan karakterisasi mikroba dari serbuk gergaji limbah budidaya jamur tiram (*Spent Mushroom Substrate*). Mikroba tersebut akan digunakan sebagai inokulan dalam pembuatan kompos berbahan baku limbah serbuk gergaji paska budidaya jamur tiram. Aktivitas enzim lignoselulolitik yang meliputi lakase, selulase dan xilanase dari mikroba yang diisolasi digunakan sebagai parameter dalam pemilihan mikroba tersebut.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan antara lain Potato Dextrosa Agar (Pronadisa), Nutrient Agar, NaOH Merck, Kalium Natrium Tartrat-Tetrahidrat Merck, Xylan from Beechwood Sigma, 3,5- Dinitrosalisylic Acid Sigma, Sodium acetate Merck, Acetic acid glacial Merck, Dextrosa (glucosa) Pronadisa, Carboxy Methyl-Cellulose (sodium salt) Sigma, Na₂HPO₄ Merck, NaH₂PO₄ Merck, Sodium Dodecyl Sulfat (SDS) Biorad, 2,2' Azino Bis (3-ethyl Benzthiazoline-6-Sulfonic Acid) Liquid Substrate System Sigma Aldrich (A-3219), Nutrient Broth, Potato Dextrosa Broth.

Peremajaan Kultur Murni Mikroba yang Diisolasi dari Limbah Media Tanam Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*)

Kultur murni mikroba yang diisolasi dari limbah media tanam jamur tiram ditumbuhkan pada media Potato Dextrosa Agar (PDA) untuk jamur dan media Nutrient Agar (NA) untuk bakteri. Komposisi media PDA dalam 1 liter akuades adalah kaldu rebusan 400 gram kentang, 7 gram agar, dan 20 gram gula dextrose. Sedangkan komposisi media NA dalam 1 liter akuades adalah 5 gram pepton, 3 gram *beef extract*, dan 20 gram *bacto agar*. Untuk menguji aktivitas enzim lignoselulolitik, isolat-isolat jamur tersebut ditumbuhkan pada 50 ml media Potato Dextrosa Broth (PDB) dan 25 ml media NB (Nutrient Broth) untuk bakteri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C, selama 3 hari serta digoyang dengan kecepatan 120 rpm/menit.

Ekstraksi Enzim Selulase, Xilanase dan Lakase dari Isolat Jamur dan Bakteri

Ekstraksi enzim selulase, xilanase, dan lakase dari isolat jamur yang ditumbuhkan dalam media PDB dan isolat bakteri yang ditumbuhkan dalam media NB dilakukan dengan menggunakan bufer fosfat 0.2 M (pH 7) pada perbandingan medium PDB/ NB dan bufer fosfat 1:2 (v/v). Ekstrak kasar enzim lakase, selulase, dan xilanase diperoleh dengan melakukan sentrifugasi pada sampel dengan kecepatan 9000 rpm, selama 10 menit, pada suhu 0-4°C. Ekstrak kasar enzim lakase, selulase dan xilanase berada pada bagian supernatan, sementara limbah padat miselium sel jamur akan terendap menjadi pellet. Supernatan tersebut, selanjutnya difiltrasi dengan menggunakan kertas saring Whatman grade 41 (ukuran pori 20-25µm) sehingga diperoleh filtrat jernih yang merupakan ekstrak kasar enzim lakase, selulase, dan xilanase. Filtrat tersebut selanjutnya diharapkan dapat digunakan untuk menganalisis aktivitas enzim lakase dengan (Metode Bourbonnais dan Paice, 1990) maupun aktivitas enzim selulase dan xilanase (Metode Miller, 1959).

Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Lakase (Metode Bourbonnais dan Paice, 1990)

Analisis aktivitas ekstrak kasar enzim lakase dari isolat jamur dalam media PDB dan isolat bakteri dalam media NB dilakukan dengan modifikasi metode Bourbonnais dan Paice (1990) sebagai berikut: substrat cair ABTS (2,2-azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonate) 1.8 mM (Sigma-Aldrich A-3219) dalam buffer sodium asetat (pH 4.5) sebanyak 375 µl dimasukkan ke dalam kuvet 1.5 ml, lalu ditambahkan sebanyak 375 µl sampel ekstrak kasar enzim lakase dan divorteks agar tercampur homogen. Setelah itu campuran reaksi tersebut diinkubasi pada suhu 37 °C dengan perlakuan waktu inkubasi 10 menit. Reaksi enzimatis dihentikan dengan menambahkan 250 µl larutan SDS (Sodium Dodesil Sulfat) 1 % (b/v). Setelah itu peningkatan absorbansi radikal kation diamati dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 420 nm (koefisien ekstingsi 36 mM⁻¹cm⁻¹). Aktivitas enzim lakase dinyatakan sebagai International Unit (IU),

dengan 1 IU didefinisikan sebagai jumlah enzim lakase yang dapat mengoksidasi tiap 1 µmol ABTS per menit.

Unit aktivitas enzim Lakase =

$$\frac{(Asampel - Akontrol) \times Volume\ total\ reaksi\ (ml)}{Akontrol \times Waktu\ inkubasi\ (menit) \times Volume\ Enzim\ (ml) \times \mu mol\ substrat\ ABTS}$$

Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Selulase dengan Metode DNS (Miller, 1959)

Sebanyak 125 µl sampel ekstrak kasar enzim selulase dan 125 µl larutan substrat CMC (Carboxy Methyl Cellulose) 0.5 % (b/v) dicampurkan, lalu divorteks hingga homogen dan diberi perlakuan waktu inkubasi 10 menit. Setelah masa inkubasi tambahkan sebanyak 500 µl DNS (3,5- Di Nitro Salisilic Acid), lalu panaskan selama 5 menit dalam *water-bath* untuk menghentikan reaksi enzimatis dan agar DNS bercampur dengan produk glukosa yang terbentuk. Agar konsentrasi larutan sampel tidak terlalu pekat, dilakukan pengenceran dengan menambahkan akuades sebanyak 5 ml, kemudian divorteks sampai homogen. Selanjutnya absorbansi tiap larutan sampel diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada λ = 540 nm. Harga absorbansi yang diperoleh diplotkan pada kurva standar glukosa untuk mengetahui konsentrasi produk glukosa pada sampel. Satu unit aktivitas enzim selulase dinyatakan sebagai jumlah µmol produk glukosa hasil hidrolisis enzim selulase tiap 1 menit pada kondisi pengujian.

Unit aktivitas enzim Selulase =

$$\frac{[glukosa](mg/ml) \times Vol\ Total\ Reaksi\ (ml) \times 1000}{BM\ glukosa \times Waktu\ inkubasi\ (menit)}$$

Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Xilanase dengan Metode DNS (Miller, 1959)

Sebanyak 150 µl sampel ekstrak kasar enzim xilanase dan 150 µl larutan substrat suspensi xilan 0,5 % (b/v) dicampurkan, lalu divorteks hingga homogen dan diberi perlakuan waktu inkubasi 10 menit. Setelah masa inkubasi tambahkan sebanyak 200 µl DNS (3,5- Di Nitro Salisilic Acid), lalu dipanaskan selama 5 menit dalam *waterbath* untuk menghentikan reaksi enzimatis dan agar DNS ber-

campur dengan produk glukosa yang terbentuk. Agar konsentrasi larutan sampel tidak terlalu pekat, dilakukan pengenceran dengan menambahkan akuades sebanyak 2 ml, lalu divorteks sampai homogen. Selanjutnya absorbansi tiap larutan sampel diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada $\lambda = 540$ nm. Harga absorbansi yang diperoleh diplotkan pada kurva standar untuk mengetahui konsentrasi produk glukosa pada sampel. 1 Unit aktivitas enzim xilanase dinyatakan sebagai jumlah μmol produk glukosa hasil hidrolisis enzim xilanase tiap 1 menit pada kondisi pengujian.

Unit aktivitas enzim Xilanase=

$$\frac{[\text{glukosa}](\text{mg} / \text{ml}) \times \text{Vol Total Re aksi}(\text{ml}) \times 1000}{\text{BMglukosa} \times \text{Waktu inkubasi}(\text{menit})}$$

Karakterisasi pH dan Suhu Pada Jamur Lignoselulolitik Terpilih

Isolat jamur yang terpilih karena memiliki aktivitas lignoselulolitik tertinggi selanjutnya dikarakterisasi pH dan suhu optimum pertumbuhannya. Karakterisasi dilakukan berdasarkan parameter bobot kering biomasa sel jamur. Karakterisasi dilakukan untuk menentukan suhu dan pH yang optimum bagi pertumbuhan isolat jamur lignoselulolitik tersebut. Isolat jamur terpilih diinkubasi pada media PDB yang diberi perlakuan variasi pH antara 4 sampai 9 dan variasi suhu antara 20 °C sampai 60 °C. Inkubasi dilakukan selama 72 jam dengan menggunakan *orbital shaker* berkecepatan 100 rpm. Setelah inkubasi selanjutnya biomasa sel jamur dipanen dengan menggunakan *high speed sentrifuge* pada kecepatan 9500 rpm, suhu 4 °C selama 10 menit. Biomasa sel jamur kemudian ditimbang dan selanjutnya pH dan suhu optimum pertumbuhan ditentukan berdasarkan bobot biomasa sel jamur tertinggi.

HASIL

Aktivitas Enzim Selulase, Xilanase, Lakase pada Isolat Jamur dan Bakteri yang Diisolasi dari Limbah Media Tanam Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*)

Pengujian aktivitas enzim lakase, selulase, dan xilanase telah dilakukan terhadap 20 isolat jamur

yang berhasil diisolasi dari limbah serbuk gergaji jamur tiram. Berdasarkan hasil pengujian diketahui bahwa isolat jamur 2F14 memiliki aktivitas enzim lakase tertinggi yaitu sebesar 4.174 Unit, jika dibandingkan dengan 19 isolat fungi lainnya. Selanjutnya diikuti oleh isolat fungi 2F7 dengan aktivitas enzim lakase sebesar 4.024 Unit. Sementara itu isolat jamur 2F1, 2F3, 2F4, 2F5 diketahui memiliki aktivitas enzim selulase yang tinggi yaitu berturut-turut 6.153 U, 6.954 U, 6.740 U, 6.870 U. Aktivitas tertinggi enzim selulase dalam menghidrolisis substrat CMC 0.5 % (b/v) dicapai oleh isolat jamur 2F3 dengan aktivitas sebesar 6.954 U. Sementara itu isolat jamur 2F1, 2F3, 2F5, 2F6, 2F10 memiliki aktivitas enzim xilanase yang tinggi jika dibandingkan dengan isolat jamur lainnya yaitu berturut-turut 4.662 U, 4.599 U, 4.673 U, 4.522 U, 4.519 U. Aktivitas tertinggi enzim xilanase dalam menghidrolisis substrat xilan dicapai oleh isolat jamur 2F5 dengan aktivitas sebesar 4.673 U.

Pengujian aktivitas enzim lakase, selulase, dan xilanase juga telah dilakukan terhadap 13 isolat bakteri yang berhasil diisolasi dari limbah serbuk gergaji jamur tiram. Dari 13 isolat bakteri tersebut terdapat 2 isolat yang memiliki aktivitas enzim selulase, xilanase, dan lakase yang lebih tinggi dibandingkan dengan isolat lainnya yaitu isolat 2B4 dan 3B2. Isolat bakteri 2B4 memiliki aktivitas enzim lakase, selulase dan xilanase tertinggi dibandingkan dengan isolat bakteri lainnya yaitu berturut-turut 0.451 U, 0.295 U, dan 0.059 U. Akan tetapi secara keseluruhan jamur memiliki aktivitas lignoselulolitik yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri. Sehingga isolat jamur dipilih sebagai starter untuk pembuatan pupuk organik hayati dan akan dilakukan karakterisasi pH dan suhu optimum pertumbuhannya.

Pemilihan isolat jamur sebagai starter pembuatan pupuk organik hayati tidak dilihat semata-mata berdasarkan parameter satu aktivitas tertinggi enzim saja (baik selulase, xilanase, lakase) yang dihasilkan oleh tiap-tiap isolat. Akan tetapi berdasarkan potensi isolat jamur tersebut dalam mencapai aktivitas tertinggi untuk ketiga enzim lignoselulolitik (lakase, selulase, dan xilanase). Akhirnya terpilih

Tabel 1. Aktivitas enzim lakase, selulase, xilanase dari 20 isolat jamur yang diisolasi dari limbah serbuk gergaji kayu jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*)

No	Isolat	Rerata aktivitas enzim lakase (Unit)	Rerata aktivitas enzim selulase (Unit)	Rerata aktivitas enzim xilanase (Unit)
1	2F1	3.791	6.153	4.662
2	2F2	0.593	2.019	1.970
3	2F3	0.365	6.954	4.599
4	2F4	3.605	6.740	3.711
5	2F5	3.773	6.870	4.673
6	2F6	3.922	4.213	4.522
7	2F7	4.024	0.512	0.532
8	2F8	0.389	4.311	3.458
9	2F9	1.287	4.579	3.888
10	2F10	1.844	5.774	4.519
11	2F11	1.904	0.275	0.0184
12	2F12	0.371	2.596	2.085
13	2F13	0.808	3.062	2.963
14	2F14	4.174	3.407	3.340
15	2F15	0.437	0.602	0.884
16	2F16	2.473	0.280	0.022
17	2F17	0.599	3.029	2.300
18	2F18	0.928	4.113	2.587
19	3F1	1.569	3.147	2.304
20	3F2	0.293	5.603	4.061

Tabel 2. Aktivitas enzim lakase, selulase, xilanase dari 13 isolat bakteri yang diisolasi dari limbah serbuk gergaji kayu jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*)

No	Isolat	Rerata aktivitas enzim lakase (Unit)	Rerata aktivitas enzim selulase (Unit)	Rerata aktivitas enzim xilanase (Unit)
1	1B1	0.253	0.289	0.048
2	1B3	0.056	0.271	0.044
3	1B4	0.078	0.292	0.044
4	2B1	0.152	0.283	0.055
5	2B2	0.189	0.286	0.043
6	2B4	0.451	0.295	0.059
7	2B5	0.152	0.263	0.042
8	2B6	0.074	0.277	0.054
9	2B8	0.138	0.289	0.036
10	3B2	0.409	0.286	0.047
11	3B3	0.133	0.283	0.047
12	3B5	0.083	0.277	0.048
13	3B6	0.179	0.272	0.040

tiga isolat jamur unggulan yaitu 2F1, 2F4, dan 2F5 dengan aktivitas enzim lignoselulolitik terbaik jika dibandingkan dengan mikroba yang lain sebagai starter pupuk organik hayati.

Karakterisasi pH dan Suhu Fungi Lignoselulolitik Terpilih

Setelah dilakukan proses seleksi terhadap 20 isolat jamur dan 13 isolat bakteri, akhirnya berhasil

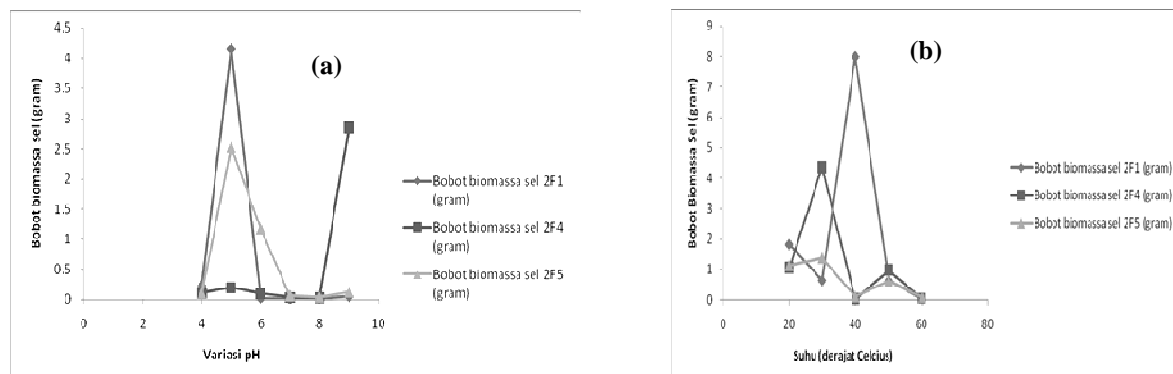
diperoleh 3 isolat jamur (2F1, 2F4, 2F5) dengan aktivitas lignoselulolitik tertinggi jika dibandingkan dengan mikroba lainnya. Ketiga isolat jamur selanjutnya dikarakterisasi pH dan suhu optimum pertumbuhannya selama masa inkubasi 72 jam berdasarkan bobot biomasa kering sel jamur. Dari hasil penelitian diketahui bahwa isolat jamur 2F1 tumbuh secara optimum pada kondisi pH 5 (asam) dengan bobot biomasa sel jamur sebesar 4.1621 gram serta pada

Tabel 3. Karakterisasi pertumbuhan jamur 2F1, 2F4, 2F5 berdasarkan variasi pH selama masa inkubasi 72 jam

pH	Bobot biomassa sel 2F1 (gram)	Bobot biomassa sel 2F4 (gram)	Bobot biomassa sel 2F5 (gram)
4	0.2255	0.1071	0.0968
5	4.1621	0.1925	2.5311
6	0.0293	0.096	1.1669
7	0.0044	0.0341	0.0673
8	0.0158	0.0248	0.0393
9	0.0487	2.8572	0.1311

Tabel 4. Karakterisasi pertumbuhan jamur 2F1, 2F4, 2F5 berdasarkan variasi suhu selama masa inkubasi 72 jam

Suhu (⁰ C)	Bobot biomassa sel 2F1 (gram)	Bobot biomassa sel 2F4 (gram)	Bobot biomassa sel 2F5 (gram)
20	1.817	1.0401	1.114
30	0.6245	4.3563	1.3635
40	7.9829	0.0178	0.0959
50	0.6371	0.969	0.6217
60	0.0228	0.0319	0.0746



Gambar 1. Karakterisasi pertumbuhan jamur 2F1, 2F4, 2F5 berdasarkan: (a) variasi pH dan (b) variasi suhu selama masa inkubasi 72 Jam

kondisi suhu 40 °C dengan bobot biomassa sel jamur sebesar 7.9829 gram.

Sementara itu isolat jamur 2F4 tumbuh secara optimum pada kondisi pH 9 (basa) dengan bobot biomassa sel jamur sebesar 2.8572 gram serta pada kondisi suhu 30 °C dengan bobot biomassa sel jamur sebesar 4.3563 gram. Isolat 2F5 tumbuh secara optimum pada kondisi pH 5 (asam) dengan bobot biomassa sel jamur sebesar 2.5311 gram serta pada kondisi suhu 30 °C dengan bobot biomassa sel jamur sebesar 1.3635 gram.

PEMBAHASAN

Isolasi mikroba dari limbah serbuk gergaji media tumbuh jamur tiram merupakan suatu cara untuk mendapatkan biodiversitas mikroba unggulan sebagai sumber starter pupuk organik hayati. Dikarenakan tidak seluruh mikroba yang berhasil diisolasi memiliki potensi lignoselolitik maka dilakukan proses seleksi. Seleksi mikroba lignoselolitik bertujuan untuk menyeleksi dan mendapatkan mikroba yang mampu menghidrolisis substrat lignoselulosa secara efektif dan efisien. Seleksi mikroba lignoselolitik dilakukan dengan menganalisis parameter tiga

aktivitas enzim yaitu selulase, xilanase, dan lakase. Ketiga enzim tersebut merupakan senyawa metabolit ekstraseluler yang dihasilkan oleh jamur dan bakteri.

Menurut penelitian Couto dan Toca Herrera (2006; 2007), enzim lakase banyak dimanfaatkan untuk proses delignifikasi (degradasi lignin), sehingga sangat membantu proses perlakuan awal biomasa lignoselulosa pada pembuatan pupuk organik. Enzim selulase bermanfaat untuk proses hidrolisis selulosa menjadi glukosa. Sementara itu xilanase berperan dalam hidrolisis hemiselulosa menjadi xilosa. Senyawa monosakarida seperti glukosa dan xilosa dapat berperan sebagai sumber karbon dan hidrogen yang bermanfaat sebagai unsur hara pada tanaman. Ketiga enzim lignoselulolitik tersebut sangat berperan dalam biokonversi limbah pertanian menjadi pupuk organik.

Sebagaimana yang disebutkan dalam penelitian Bourbonais dan Paice (1990) serta Prasad *et al.* (2005), substrat ABTS 2,2' Azino Bis (3-ethyl Benzthiazoline-6-Sulfonic Acid) yang digunakan pada pengujian aktivitas enzim lakase ini merupakan senyawa analog dari lignin. Selain ABTS dapat pula digunakan senyawa analog lignin lainnya seperti guaiaacol. CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) digunakan sebagai substrat untuk analisis aktivitas enzim selulase karena bersifat hidrofilik (larut air), sehingga lebih mudah dihidrolisis oleh enzim selulase. Xilan digunakan sebagai substrat untuk pengujian enzim xilanase dikarenakan xilan merupakan kerangka utama penyusun polimer hemiselulosa. Di samping itu dalam penelitian yang dilakukan oleh Da Silva *et al.* (2005) disebutkan bahwa substrat xilan lebih mudah dihidrolisis oleh enzim xilanase, apabila dibandingkan dengan mannan, galaktan, dan glukukan yang juga merupakan oligosakarida penyusun hemiselulosa.

Berdasarkan penelitian diketahui bahwa ketiga isolat jamur 2F1, 2F4, dan 2F5 memiliki aktivitas enzim lakase, selulase, dan xilanase yang tinggi bila dibandingkan dengan isolat mikroba lainnya. Isolat 2F1 memiliki aktivitas enzim selulase, xilanase, dan lakase berturut-turut sebagai berikut 6.153 U, 4.662 U, dan 3.791 U. Isolat 2F4 memiliki

aktivitas enzim selulase, xilanase, dan lakase berturut-turut sebagai berikut 6.740 U, 3.711 U, dan 3.605 U. Isolat 2F5 memiliki aktivitas enzim selulase, xilanase, dan lakase berturut-turut sebagai berikut 6.870 U, 4.673 U, dan 3.773 U. Pemilihan ketiga isolat jamur tersebut didasarkan pada hasil studi komparatif aktivitas enzim lignoselulolitik dari isolat tersebut dibandingkan dengan isolat mikroba lainnya, sebagaimana yang pernah dilakukan oleh Jeffries (1994) dan Kerem *et al.* (1992). Ketiga isolat jamur tersebut selanjutnya dapat dioptimalkan potensinya dalam memproduksi enzim lakase, selulase, dan xilanase sebagai biokatalisator dalam proses pembuatan pupuk organik hayati.

Karakterisasi pH dan suhu yang dilakukan terhadap isolat jamur 2F1, 2F4, dan 2F5 bertujuan untuk menentukan kondisi pertumbuhan optimum bagi ketiga isolat jamur tersebut. Hal ini dimaksudkan agar pembuatan starter pupuk organik hayati dengan memanfaatkan ketiga mikroba tersebut dapat berlangsung optimal. Diketahui bahwa mikroba dapat diklasifikasikan berdasarkan pH dan suhu optimum pertumbuhannya. Berdasarkan pH optimum pertumbuhannya mikroba dapat diklasifikasikan menjadi 3 yaitu a) Asidofilik untuk mikroba yang tumbuh optimum pada kondisi asam (pH 1–6), b) Neutrofilik untuk mikroba yang tumbuh pada kondisi netral (pH 7) dan c) Alkalofilik untuk mikroba yang tumbuh pada kondisi basa (pH 8–14). Sementara itu berdasarkan suhu optimum pertumbuhannya mikroba dapat diklasifikasikan menjadi 3 yaitu a) Psikrofilik untuk mikroba yang tumbuh optimum pada suhu rendah antara (0–20⁰C), b) Mesofilik untuk mikroba yang tumbuh optimum pada suhu sedang antara (30–40⁰C), c) Termofilik untuk mikroba yang tumbuh optimum pada suhu tinggi (di atas 50⁰C). Isolat jamur 2F1 bersifat asidofilik dan mesofilik karena tumbuh secara optimum pada pH 5 dan suhu 40⁰C. Isolat 2F4 bersifat alkalofilik dan mesofilik karena tumbuh secara optimum pada pH 9 dan suhu 30⁰C. Isolat 2F5 bersifat asidofilik dan mesofilik karena tumbuh optimum pada pH 5 dan suhu 30⁰C.

Berdasarkan hasil pengujian diketahui bahwa isolat bakteri 2B4 dan 3B2 memiliki aktivitas enzim

lakase, selulase, dan xilanase yang tinggi bila dibandingkan dengan isolat bakteri yang lain. Akan tetapi secara keseluruhan aktivitas enzim selulase, xilanase, dan lakase yang dihasilkan oleh isolat bakteri dalam menghidrolisis substrat lignoselulosa masih sangat rendah, jika dibandingkan dengan isolat jamur; temuan ini sesuai dengan Deacon (1997). Oleh karena itu proses induksi terhadap media tumbuh isolat bakteri tersebut masih sangat diperlukan untuk meningkatkan aktivitas enzim selulase, xilanase, dan lakase. Isolat jamur yang diisolasi dari limbah serbuk gergaji jamur tiram mampu menghasilkan enzim lakase, selulase, dan xilanase dengan aktivitas yang sangat tinggi. Bahkan apabila dibandingkan isolat jamur memiliki aktivitas enzim lakase, selulase, dan xilanase 10 kali lipat lebih tinggi dari isolat bakteri.

Proses induksi terhadap isolat bakteri tersebut dapat dilakukan dengan menambahkan substrat CMC, xilan, maupun ABTS dalam media cair pertumbuhan isolat bakteri tersebut, sebagaimana penelitian yang dilakukan oleh Da Silva *et al.* (2005). Penambahan ketiga substrat tersebut diharapkan dapat menginduksi bakteri untuk memproduksi enzim lignoselulolitik dengan aktivitas yang tinggi guna memetabolisme ketiga substrat tersebut sebagai sumber karbon dan nitrogen yang utama selama pertumbuhannya. Dengan meningkatnya aktivitas enzim selulase, xilanase, dan lakase yang dihasilkan oleh isolat bakteri tersebut diharapkan isolat bakteri tersebut ke depannya juga dapat dioptimalkan pemanfaatannya sebagai starter untuk pengomposan pupuk organik.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil seleksi mikroba lignoselulolitik yang dilakukan terhadap 20 isolat jamur dan 13 isolat bakteri yang diisolasi dari limbah serbuk gergaji media tanam jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) diperoleh 3 isolat jamur unggulan (2F1, 2F4, 2F5) dengan aktivitas enzim lakase, selulase, dan xilanase yang tinggi. Aktivitas lignoselulolitik isolat bakteri masih sangat rendah, jika dibandingkan dengan isolat jamur. Aktivitas lignoselulolitik ke 3 isolat

tersebut adalah (6.153 U, 4.662 U, 3.791) untuk lakase, (6.740 U, 3.711 U, 3.605 U) untuk selulase, dan (6.870 U, 4.673 U, 3.773 U) untuk xilanase pada isolat 2F1, 2F4, 2F5. Isolat 2F1 dapat tumbuh optimum pada pH5 (asidofilik) dan suhu 40 °C (mesofilik). Isolat 2F4 dapat tumbuh optimum pada pH 9 (alkalofilik) dan suhu 30 °C (mesofilik). Isolat 2F5 dapat tumbuh optimum pada pH 5 (asidofilik) dan suhu 30 °C (mesofilik). Ketiga isolat jamur tersebut dapat dioptimasi sebagai starter dalam pembuatan pupuk organik hayati.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis ucapkan yang sebesar-besarnya kepada bapak Arif Nurkanto, S.Si dan bapak Misbahul Munir, A.Md yang telah mengisolasi jamur dan bakteri dari limbah media tanam serbuk gergaji jamur tiram. Dengan bantuan beliau, isolat-isolat bakteri dan jamur yang digunakan untuk pengujian aktivitas enzim lakase, selulase, dan xilanase dapat tersedia. Kegiatan penelitian ini didanai oleh program DIPA Prioritas Nasional tahun 2011.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahamed AP and Vermette. 2008. Culture-based strategies to enhance cellulase enzyme production from *Trichoderma reesei* RUT-C30 in bioreactor culture conditions. *Biochemical Engineering Journal* **40**, 399-407.
- Bhat MK and S Bhat. 1997. Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications. *Biotechnology Advances* **15**, 583-620.
- Bourbonnais R and Paice MG. 1990. Demethylation and delignification of kraft pulp by *Trametes versicolor* laccase in the presence of ABTS. *Applied Microbial Technology* **36**, 823-827.
- Couto SR and JL Toca Herrera. 2006. Industrial and biotechnological applications of laccases: a review. *Biotechnology Advances* **24**, 500 – 513.
- Couto SR and JL Toca Hererra. 2007. Laccase production at reactor scale by filamentous fungi. *Biotechnology Advances* **25**, 558-569.
- Da Silva R, ES Lago, CW Merheb, MM Machione, YK Parknda E Gomes. 2005. Production of xylanase and CMCase on solid state fermentation in different residues by *Thermoascus auranticus* Mische. *Brazilian Journal of Microbiology* **36**, 235-241.
- Dalbey RE, CM Koehler and Tamanoi F. 2007. *The Enzymes: Molecular Machines Involved in Protein Transport*

- across *Cellular Membranes*, First edition. Academic Press, New York.
- Deacon JW. 1997.** *Modern Micology*. Blackwell Science, New York.
- Dewi. 2002.** Hidrolisis limbah hasil pertanian secara enzimatik. *Akta Agrosia* **5(2)**, 67 – 71.
- Dixon M and Webb EC. 1979.** *Enzyme*. Third Edition. Academic Press, New York.
- Jeffries TW. 1994.** Biodegradation of lignin and hemicelluloses. In: *Biochemistry of Microbial Degradation*. C Ratledge (Ed.), 233-277. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Kerem Z, D Friesem and Y Hadar. 1992.** Lignocellulose Degradation during Solid-State Fermentation: *Pleurotus ostreatus* versus *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmental Microbiology* **58 (4)**, 1121-1127.
- Kirk TK and Farrell RL. 1987.** Enzymatic combustion: the microbial degradation of lignin. *Annu. Rev. Microbiol.* **41**, 465–501.
- Kruus K. 2000.** Laccase: A useful enzyme for industrial applications. *Kemia Kemi* **27**, 184–187.
- Linko M, L Vilkar and MI Suiko. 1984.** Hidrolysis of xylan and fermentation of xylose to ethanol. *Biotechnol. Adv.* **2**, 233-252.
- Miller GL. 1959.** Use of dinitrosalicylic acid reagent of determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* **31**, 246-248.
- Prasad K, SV Mohan, YV Bhaskar, SV Ramanaiah, VL Babu, BR Pati dan PN Sarma. 2005.** Laccase production using *Pleurotus ostreatus* 1804 immobilized on PUF cubes in batch and packed bed reactors: influence of culture conditions. *J. Microbiol.* **43(3)**, 301-307.