



Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pembelajarannya (SNKP) 2014

*“Inovasi Pembelajaran Kimia Abad 21 dan
Perkembangan Riset Kimia”*

ISBN 978-602-71446-0-6



um
The Learning
University

**JURUSAN KIMIA
FMIPA, UNIVERSITAS NEGERI MALANG**

Jl. Semarang 5 Malang. 65145. website: kimia.um.ac.id

Perbedaan Hasil Belajar Siswa yang Dibelajarkan Menggunakan Model Pembelajaran <i>Think Pair Square</i> dan Model Pembelajaran <i>Think Pair Square</i> –Peta Konsep Pada Materi Sistem Koloid Kelas XI IPA MAN Malang 1, <i>Ayunda Naila Farihah, Dedek Sukarianingsih, & Habiddin</i>	127-133
Pengembangan Modul Berbasis Konsep Sukar dan Kesalahan Konsep pada Materi Tatanama Senyawa Biner dan Anion Poliatomik, <i>Angga Puspitaningrum, Fariati, & Oktavia Sulistina</i>	135-139
Pengembangan Buku Petunjuk Praktikum Kimia SMA/MA Kelas X Semester 2 Berbasis Learning Cycle 5E, <i>Eko Budi Prasetyo Nugroho, Endang Budiasih, & Dedek Sukarianingsih</i>	141-145
Perbedaan Hasil Belajar Siswa Yang Dibelajarkan Menggunakan Model Pembelajaran LC 5E-STAD dan Model Pembelajaran LC 5E-TPS pada Materi Reaksi Redoks Kelas X MAN Malang II Batu, <i>Anisatul Khoiriyah, Endang Budiasih, & Dedek Sukarianingsih</i>	147-156
Pengembangan Media Pembelajaran Kimia Berbasis <i>Flash</i> pada Pokok Bahasan Struktur Atom untuk Siswa SMA Kelas X, <i>Aprilyati Susanti, Oktavia Sulistina, & Santosa</i>	157-162
Pengembangan Modul Stoikiometri Berdasarkan Konsep Sukar dan Kesalahan Konsep, <i>Rohmatul Maghfiroh, Fariati, & Oktavia Sulistina</i>	163-168
Pengembangan Bahan Ajar IPA-Kimia Berbasis <i>Learning Cycle 3-E</i> pada Bahan Kajian Materi dan Perubahannya untuk SMP Kelas VII Semester I Sesuai Kurikulum 2013, <i>Dyta Ferdiana, Parlan, & Dedek Sukarianingsih</i>	169-174
Analisis Kesulitan Mahasiswa pada Perkuliahan Dasar-Dasar Kimia Analitik di Universitas Negeri Malang, <i>Hayuni Retno Widarti, Anna Permanasari, Sri Mulyani</i>	175-182
Permainan <i>Love Chem</i> sebagai Alternatif Pembelajaran Kimia untuk Memperbaiki Pemahaman Siswa pada Materi Struktur Atom, <i>Ririn Eva Hidayati</i>	183-192
Pengembangan Bahan Ajar Ikatan Kimia Kurikulum 2013 Berbasis Inkuiri Terbimbing, <i>Nafisa Ema Muthaharoh, Muntholib, & Ida Bagus Suryadharma</i>	194-198
Pembelajaran Menggunakan Metode <i>Quantum Learning</i> dengan Strategi <i>Mind Mapping</i> pada Mata Kuliah Kimia Organik II Materi Asam Karboksilat, <i>Mitarlis</i>	199-205
Pengaruh Penggunaan Jurnal Metakognitif pada <i>Cooperative Learning Cycle 5E (CLC 5E)</i> terhadap Peningkatan Motivasi dan Hasil Belajar Siswa dalam Materi Laju Reaksi, <i>Istri Setyowati</i>	207-213
Pengembangan Media Pembelajaran Materi Pokok Hidrokarbon dengan Menggunakan Aplikasi Program <i>Macromedia Flash Professional 8</i> , <i>Rezky Miftahul Jannah Salam</i>	215-222
Perwujudan <i>Learning Community</i> dalam Pembelajaran Kooperatif Tipe STAd Pada Materi Pokok Hidrolisis untuk Melatih Tanggung Jawab Siswa, <i>Claudia Niken Shinta & Muchlis</i>	223-228
Bidang Kimia	
Penentuan pH dan Konsentrasi Ninhidrin Optimum dalam Pembuatan Test Kit untuk Analisa Sianida dalam Ketela Pohon (<i>Manihot Utilissima</i>) Berdasarkan Pembentukan Kompleks Hidrindantin, <i>Hermin Sulistyarti, Nury Kusumawardhani, Novy Lailatuz Zulfah, Yulia Dwi Cahyani, Hilda Emilia Fahriyani, & Balqis Milda</i>	229-233

Pengaruh Konsentrasi Tiosianat dan Besi(III) terhadap Kompleks Fe(III)-SCN pada Penentuan Merkuri(II) Secara Spektrofotometri, <i>Hermin Sulistyarti, Qonitah Fardiyah, Erwin Sulisty, Eka Ratri, Hikmanita Lisan N, & Zuri Rismiarti</i>	235-238
Pengaruh Konsentrasi Iodida dan Iodat Terhadap Kompleks Iodium-Amilum pada Penentuan Merkuri(II) Secara Spektrofotometri, <i>Atikah, Hermin Sulistyarti, Bambang Siswoyo, Zuri Rismiarti, & Arum Candra Pinangsih</i>	239-243
Penggunaan Kitosan sebagai Anti Jamur pada Pembuatan Tepung Kentang, <i>Zackiyah, Asep Suryatna, & Tony Pratama</i>	245-251
Uji Awal untuk Skrining Fitokimia pada Tumbuhan Famili Asteraceae Indonesia, <i>Tukiran, Suyatno, & Nurul Hidayati</i>	253-259
Studi Pendahuluan Sintesis MnO ₂ dengan Metode Elektrolisis, <i>Mahmudi, Heru Setyawan, & Samsudin Affandi</i>	261-264
Karakterisasi Asap Cair Hasil Pirolisis Biji Kopi Arabica, <i>Abdul Gani Haji, Rusman, Habibati, & Mawaddah</i>	265-273
Uji Potensi dan Optimasi Konsentrasi Lignoselulosa Beberapa Limbah Pertanian sebagai Sumber Karbon dalam Produksi Enzim Lignin Peroksidase oleh <i>Phanerochaete chrysosporium</i>, Titis Ayu Windrastuti Subagyo, Evi Susanti, & Suharti	275-281
Pengaruh pH terhadap Karakteristik Keramik MgAl ₂ O ₄ sebagai Matriks Bahan Bakar Matriks Inert (IMF) yang Dibuat dengan Metode Sol Gel, <i>Anggun Winata, Nazriati, & Dani Gustaman Syarif</i>	283-289
Sintesis Nanopartikel Magnetit secara Kopresipitasi dan Konversinya menjadi Maghemit , <i>Meyga Evi Ferama Sari, Fauziatul Fajaroh, & Sutrisno</i>	291-295
Aplikasi Metode Struktur Elektronik untuk Penentuan Tetapan Kesetimbangan Disosiasi N ₂ O ₄ , <i>Yahmin</i>	297-302
Analisis Genotipe Gen <i>pncA</i> Isolat R9 <i>MDR Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Eli Hendrik Sanjaya</i> ...	303-310
Pengembangan Sensor Kimia Antioksidan Berbasis Reagen Natrium Meta Periodat dan 3-Metil-2-Benzothiazolinon Hidrazon untuk Kontrol Kualitas Berasan Kopi, <i>Agus Abdul Gani, Moch. Amrun Hidayat, Bambang Kuswandi</i>	311-315
Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Kompleks dari Zink Klorida dengan 1,3-Bis(difenilfosfino)propana, <i>Ivonda Honora, Effendy, dan Fariati</i>	317-320
Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Kompleks dari Perak Nitrit dengan Ligan Etilenatiourea, <i>Lutfia Ayu Darojah, Fariati, Effendy</i>	321-324
Sintesis Metil Ester (Biodiesel) dari CPP Offgrade Pada Skala Ganda Dengan Gelombang Ultrasonik Dengan Katalis Heterogen, Aman Santoso	325-333
Prakonsepsi Mahasiswa Baru Tentang Larutan, Ida Bagus Suryadharma, Habiddin, Oktavia Sulistina	334-337
Pengaruh Jenis Kation Divalen Dan Surfaktan Terhadap Stabilitas Protease Alkali Dari <i>Bacillus Sp.</i> Shinta Ludfiana Sari, Eli Hendrik Sanjaya, Suharti.....	338-344
Optimasi Produksi Protease Alkali Dari <i>Bacillus Sp</i> Hasil Isolasi Limbah Penyamakan Kulit' Dita Dwi Andriyani, Evi Susanti, Suharti	345-351

UJI POTENSI DAN OPTIMASI KONSENTRASI LIGNOSELULOSA BEBERAPA LIMBAH PERTANIAN SEBAGAI SUMBER KARBON DALAM PRODUKSI ENZIM LIGNIN PEROKSIDASE OLEH *Phanerochaete chrysosporium*

Titis Ayu Windrastuti Subagyo, Evi Susanti, & Suharti

Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Malang,

Jalan Semarang 5 Malang

Email: titisayuws@gmail.com

ABSTRAK

Enzim lignin peroksidase (LiP) adalah enzim yang mengkatalisis depolimerisasi oksidatif lignin. Produksi enzim LiP oleh *P.chrysosporium* sangat dipengaruhi oleh jenis sumber karbon dalam media produksi. Penelitian ini bertujuan mengetahui limbah lignoselulosa paling potensial di antara bonggol jagung, ampas tebu, sekam, jerami dan serbuk gergaji kayu sebagai sumber karbon dan konsentrasi optimumnya untuk produksi enzim LiP oleh *P.chrysosporium*. Glukosa digunakan sebagai sumber karbon pembandingan. Pemilihan sumber karbon terbaik dan penentuan konsentrasi optimum didasarkan pada tinggi rendahnya aktivitas enzim LiP. Aktivitas enzim LiP ditentukan berdasarkan banyaknya LiP yang menyebabkan teroksidasinya 1 μmol veratryl alkohol menjadi veratryl aldehida per menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bonggol jagung, ampas tebu, jerami sekam dan serbuk gergaji memiliki potensi sebagai sumber karbon dalam produksi LiP *P. chrysosporium*. Lignoselulosa limbah bonggol jagung, ampas tebu, jerami, sekam dan serbuk gergaji konsentrasi 1% menghasilkan aktivitas LiP tertinggi berturut-turut sebesar 18,28 U/mL, 17,42 U/mL, 25,16 U/mL, 17,63 U/mL dan 25,81 U/mL. Serbuk gergaji kayu merupakan lignoselulosa sumber karbon paling potensial dalam produksi LiP *P. chrysosporium*. Pada konsentrasi 1% (b/v) aktifitasnya adalah 25,81 U/mL.

Kata kunci : lignin peroksidase, lignoselulosa, limbah pertanian, sumber karbon, *Phanerochaete chrysosporium*

ABSTRACT

Lignin peroxidase enzyme (LiP) is an enzyme that catalyzes the oxidative depolymerization of lignin. Lignin peroxidase enzyme production from P.chrysosporium is strongly influenced by the type of carbon source in the media production. The aimed of this researched were determine the potential of lignocellulosic waste as carbon source and dertermine the optimum concentration of the most potent lignocellulosic carbon source in the production of lignin peroxidase enzyme from P. chrysosporium. Glucose is used as carbon source comparison. The selection of the best carbon source and determination of the optimum concentration is based on the level of enzyme LiP activity. The LiP activity was determined by amount of enzyme LiP that causes oxidation 1 μmol veratryl alcohol to veratryl aldehyde per minute. The result of this research showed that rice straw, rice husk, corn stover, bagasse and sawdust have the potential as carbon source in LiP production from P.chrysosporium. Lignocellulosic waste corn stover, bagasse, rice straw, rice husk, and sawdust at a concentration of 1% can produce LiP activity was highets consecutively as big as 18,28 U/mL, 17,42 U/mL, 25,16 U/mL, 17,63 U/mL dan 25,81 U/mL. The sawdust is the best lignocellulosic as carbon source in LiP production P.chrysosporium. At a concentration 1% (w/v) the activities as big as 25,81 U/ mL.

Key words : lignin peroxidase, lignocellulosic, agricultural waste, carbon source, *Phanerochaete chrysosporium*

Enzim lignin peroksidase (EC 1.11.1.14) merupakan salah satu enzim peroksidase yang berperan dalam degradasi lignin. Nama lain dari lignin peroksidase adalah ligninase atau hidrogen-peroksida oksidoreduktase (Wong, 2009). Enzim lignin peroksidase (LiP) mampu mengkatalisis reaksi oksidasi senyawa aromatik dan turunannya. Enzim LiP mengkatalisis reaksi oksidasi benzil alkohol menjadi benzaldehida, oksidasi fenol menjadi karboksilat dan pemutusan ikatan C α -C β rantai samping non fenolik senyawa aromatik dengan adanya H $_2$ O $_2$ (Akhtar *et al.*, 1997)

Kemampuan LiP mengkatalisis reaksi oksidasi senyawa aromatik menjadi dasar pemanfaatannya dalam proses-proses industri seperti *biopulping* dan *biobleaching* pada industri kertas, *dekolorisasi* dan *bioremediasi* pada industri tekstil, biokonversi lignin dari ampas tebu pada industri (Katagiri *et al.*, 1995; Ilmi dan Kuswytasari, 2013; Samsuri *et al.*, 2004). Pemanfaatan LiP dalam proses-proses industri semakin bertambah karena dengan menggunakan LiP proses perombakan sampai pada mineralisasi menghasilkan zat tidak toksik serta mampu menggantikan bahan kimia yang

menghasilkan limbah berbahaya pada berbagai proses industri sehingga limbah yang dihasilkan lebih ramah lingkungan.

Beberapa kelompok jamur dilaporkan mampu menghasilkan lignin peroksidase, seperti jamur dari kelompok kapang pelapuk putih. Kapang pelapuk putih yang telah diketahui mampu menghasilkan LiP antara lain *P.chrysosporium*, *Coriolus versicolor* dan *Pleurotus sp* (Sulistinah, 2008). *P. chrysosporium* memiliki keunggulan sebagai sumber LiP dibandingkan jenis kapang pelapuk kayu lainnya. *P. chrysosporium* diketahui merupakan jenis kapang pelapuk putih yang paling aktif mendegradasi lignin, karena kemampuannya menghasilkan enzim lignolitik ekstraseluler seperti LiP, MnP dan Lakase (Fadilah, 2008; Hattaka, 1994; Howard *et al.*, 2003). Menurut Dey (1994) *P. chrysosporium* mampu mendegradasi lignin tiga kali lebih kuat dibandingkan dengan *Polyporus ostreiformis*. Rolz *et al.* (1986) menyatakan bahwa biolignifikasi rumput lemon paling tinggi jika didegradasi oleh *P. chrysosporium* dibandingkan dengan 10 jenis kapang lainnya.

Produksi LiP dari *P. chrysosporium* dipengaruhi oleh beberapa hal diantaranya nutrisi, pH, agitasi dan suhu. Enzim LiP akan diproduksi pada saat terjadi keterbatasan nutrisi seperti nitrogen, karbon dan sulfur, umumnya pada akhir fase eksponensial. Pada kondisi tersebut, *P. chrysosporium* memproduksi metabolit sekunder seperti selulase, MnP, LiP dan lakase untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya. Penelitian yang dilakukan Manavalan (2011) menunjukkan bahwa *P.chrysosporium* ketika ditumbuhkan dalam media yang menggunakan lignin sebagai sumber karbon utama, enzim-enzim oksidatif seperti aldehida dehidrogenase, alkohol dehidrogenase, isoamil oksidase, quinon oksidoreduktase, aril alkohol oksidase, piranosa 2-oksidas, mangan peroksidase dan lignin peroksidase diekspresikan dan diregulasi secara signifikan. Dengan demikian bahan organik yang berpotensi sebagai sumber karbon untuk produksi LiP oleh *P.chrysosporium* adalah bahan organik yang mengandung lignin. Salah satu bahan organik yang mengandung lignin adalah lignoselulosa.

Lignoselulosa di alam dapat diperoleh dengan mudah, murah dan tersedia melimpah. Lignoselulosa merupakan komponen utama penyusun tanaman. Umumnya lignoselulosa diperoleh sebagai hasil samping pemanenan produk pertanian seperti ampas tebu, serbuk gergaji kayu, sekam, jerami dan bonggol jagung. Limbah pertanian tersebut masing-masing memiliki komposisi penyusun lignoselulosa yaitu selulosa, hemiselulosa dan lignin yang berbeda-beda. Penggunaan limbah pertanian yang komposisi penyusun lignoselulosanya berbeda-beda sebagai sumber karbon untuk produksi LiP oleh *P. chrysosporium* diduga mempengaruhi kuantitas produksi LiP. Hingga saat ini belum banyak penelitian yang mempelajari potensi limbah pertanian dan perkebunan sebagai sumber karbon untuk memproduksi LiP oleh *P.chrysosporium*, sehingga telah dilakukan penelitian yang berjudul **“Uji Potensi dan Optimasi Konsentrasi Lignoselulosa Beberapa Limbah Pertanian sebagai Sumber Karbon dalam Produksi Enzim Lignin Peroksidase oleh *Phanerochaete chrysosporium*”**

METODE PENELITIAN

Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan sebagai sumber karbon adalah ampas tebu, jerami, sekam, serbuk gergaji dan bonggol jagung. Ampas tebu dan serbuk gergaji dapat langsung dicuci beberapa kali dengan akuades steril untuk menghilangkan pengotor, dikeringkan pada suhu 80⁰ C hingga berat konstan, kemudian disaring dengan ayakan tepung (± 30 mesh). Bagian yang tidak tersaring dihaluskan dengan blender kemudian disaring kembali dengan ayakan tepung (± 30 mesh). Jerami, sekam dan bonggol jagung dicuci, dipotong atau digunting kecil-kecil, dijemur di bawah sinar matahari hingga benar-benar kering dan diblender sebelum disaring dengan saringan tepung. Ukuran sumber karbon yang digunakan berukuran maksimum 30 mesh, kemudian dibungkus dalam plastik dan disimpan dalam desikator agar berat kering konstan.

Peremajaan Biakan Murni *Phanerochaete chrysosporium*

Peremajaan biakan murni *Phanerochaete chrysosporium* dilakukan secara aseptis di dalam laminar flow yang telah disterilkan dengan lampu UV dan alkohol 70 %. Ujung jarum enten dipijarkan, setelah dingin ujung kawat disentuhkan pada biakan dalam medium miring dan diinokulasikan ke medium nutrient agar miring, diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 2 minggu sehingga diperoleh biakan *Phanerochaete chrysosporium*.

Pembuatan Suspensi Spora *Phanerochaete chrysosporium*

Spora dari isolat *Phanerochaete chrysosporium* yang telah disubkultur ke agar miring PDA (*Potato Dextrose Agar*) pada suhu 37⁰ C selama dua minggu dilarutkan dari agar dengan 4 mL larutan Tween 80 0,02 % steril. Suspensi spora disentrifuge 5000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan miselia. Jumlah spora dihitung menggunakan hemositometer (jumlah spora dalam suspensi spora yang diperoleh sekitar 10⁶ spora / mL).

Produksi Lignin Peroksidase oleh *P.chrysosporium* Menggunakan Sumber Karbon Limbah Lignoselulosa

Produksi lignin peroksidase oleh *P.chrysosporium* menggunakan sumber karbon lignoselulosa limbah pertanian dilakukan dengan menambahkan 4 mL suspensi spora ke dalam masing – masing Erlenmeyer 250 mL yang berisi 100 mL media N-limited dan sumber karbon. Komposisi media N-limited per 1L adalah 0,1 g NaCl; 1,2 g K₃PO₄; 1,0 g NH₄Cl; 0,2 g KCl; 1,2 g MgSO₄ .7H₂O; 0,1 g CaCl₂ (Yusnidar, 2011). Kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰ C dengan penggojokan 100 rpm. Setelah hari kedua hingga hari ke delapan setiap hari diukur aktivitas lignin peroksidase. Sumber karbon yang digunakan pada media produksi yaitu ampas tebu, jerami, sekam, serbuk gergaji kayu dan

bonggol jagung masing – masing sebagai sampel dan glukosa digunakan sebagai kontrol positif. Media tanpa sumber karbon sebagai kontrol negatif.

Penentuan Aktivitas Lignin Peroksidase

Penentuan aktivitas LiP merujuk pada Tien & Kirk (1988), berdasarkan kemampuan LiP mengoksidasi veratryl alkohol menjadi veratryl aldehida. Sebanyak 1000 μ L larutan enzim dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 800 μ L veratryl alkohol 10 mM dan 1000 μ L asam tartrat 0,1M. Campuran ditambah aquademineral hingga volume 3680 μ L, terakhir ditambah H₂O₂ 320 μ L 5 mM. Diukur absorbansi campuran pada $\lambda = 310$ nm diamati sejak pencampuran hingga menit pertama. Kontrol pembanding yang digunakan mengandung komposisi yang sama hanya tidak dilakukan penambahan veratryl alkohol. Aktivitas LiP dihitung dengan mengurangi nilai aktivitas sampel yang berisi veratryl alkohol dengan yang tidak mengandung veratryl alkohol. Satu unit enzim LiP adalah banyaknya enzim LiP yang menyebabkan teroksidasinya 1 μ mol veratryl alkohol menjadi veratryl aldehida per menit. Untuk menghitung nilai aktivitas LiP dapat dilakukan dengan memasukkan nilai absorbansi aktivitas pada rumus berikut:

$$\text{Aktivitas enzim (unit/mL)} = \frac{A_{\text{aktivitas}} \times V_{\text{total}} (\text{mL}) \times 10^6}{\epsilon_{\text{maks}} \times d \times V_{\text{enzim}} (\text{mL}) \times t}$$

Dimana: ϵ_{maks} = absorptivitas molar veratryl alkohol 9300 M⁻¹cm⁻¹

d = tebal kuvet (cm)

$A_{\text{aktivitas}}$ = absorbansi aktivitas

t = waktu (menit)

V_{tot} = volume total bahan (mL)

V_{enzim} = volume total enzim (mL)

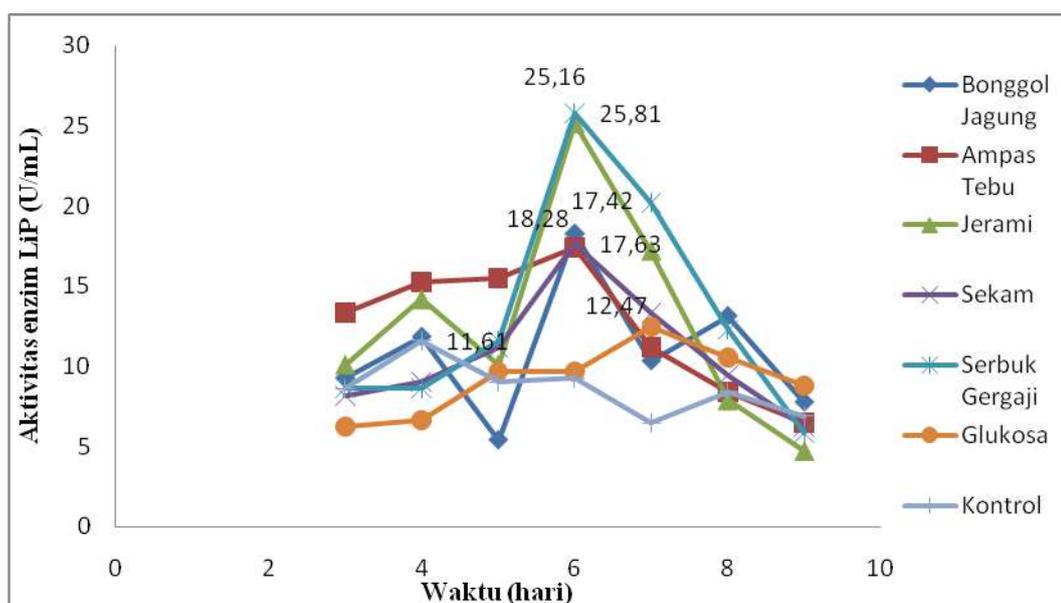
Penentuan Konsentrasi Optimum Sumber Karbon Alternatif Terbaik untuk Menghasilkan Enzim Lignin Peroksidase oleh *P.Chrysosporium*

Sebanyak 4mL suspensi spora dimasukkan ke dalam masing – masing Erlenmeyer 250 mL yang berisi 100 mL media N-limited dan sumber karbon, diinkubasi pada suhu 37⁰C dengan penggojokan 100 rpm. Konsentrasi sumber karbon yang digunakan yaitu 0; 0,3; 0,5; 0,7; 1,0 dan 1,2 % (b/v). Sumber karbon yang digunakan adalah limbah lignoselulosa terbaik yang telah ditentukan pada prosedur sebelumnya. Pengukuran aktivitas LiP dilakukan pada hari saat aktivitas tertinggi dihasilkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa setiap sumber karbon menghasilkan LiP dengan aktivitas yang berbeda seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1. Grafik pada Gambar 1 menunjukkan bahwa tanpa adanya sumber karbon, aktivitas LiP paling rendah dibandingkan dengan yang menggunakan sumber karbon. Aktivitas LiP menggunakan sumber karbon glukosa sebagai kontrol positif terlihat lebih rendah dibandingkan dengan menggunakan sumber karbon dari lignoselulosa. Dengan demikian lignoselulosa berpotensi digunakan sebagai sumber karbon untuk produksi LiP oleh *P. chrysosporium* dibandingkan dengan menggunakan sumber karbon glukosa. Grafik tersebut juga menunjukkan bahwa semua lignoselulosa limbah pertanian yang digunakan dalam penelitian ini berpotensi dijadikan sumber karbon untuk produksi enzim LiP oleh *P.chrysosporium* dengan membandingkan aktivitas LiP nya. Aktivitas LiP tertinggi diperoleh saat menggunakan sumber karbon lignoselulosa serbuk gergaji kayu.

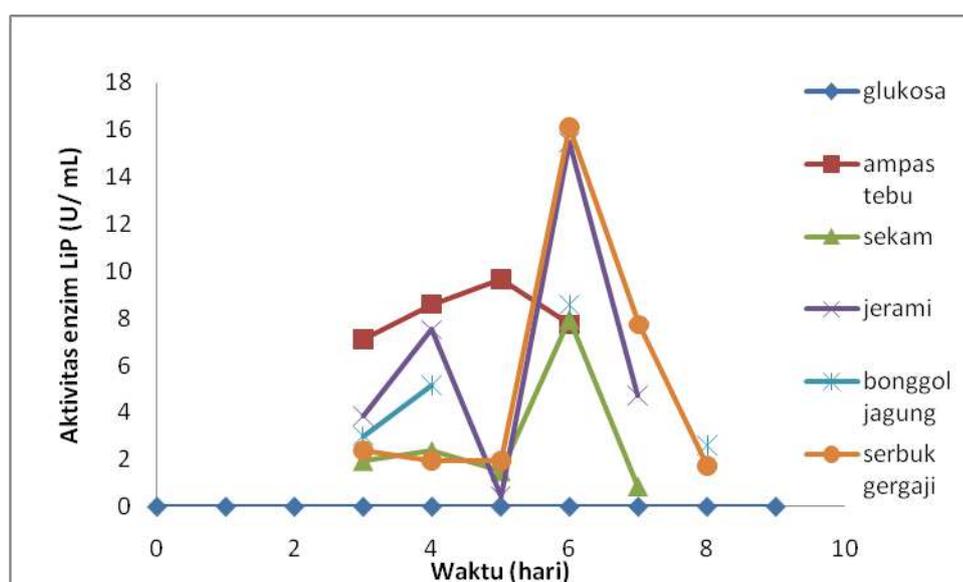
Kirk *et al.* (1978) menyatakan bahwa produksi LiP sebagai metabolit sekunder dari *P.chrysosporium* digunakan untuk mendegradasi lignin. Hal ini terjadi karena adanya pengurusan hara seperti nitrogen, karbon dan sulfur selama pertumbuhannya sehingga menyebabkan terjadinya proses degradasi lignin untuk mengatasi keterbatasan hara tersebut. Pada penelitian ini, aktivitas LiP pada sumber karbon glukosa paling kecil diduga karena glukosa hanya sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan *P. chrysosporium*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Artiningsih (2006) dalam penelitiannya diantara beberapa jenis sumber karbon, lignin (Indulin AT) berpengaruh nyata terhadap produksi enzim LiP. Aktivitas LiP terendah diperoleh apabila jamur ditumbuhkan pada glukosa. Arora dan Sandhu (1985) menyatakan bahwa gula lebih berperan dalam pembentukan biomassa daripada produksi enzim. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa semua lignoselulosa limbah pertanian yang digunakan berpotensi sebagai sumber karbon untuk produksi enzim LiP oleh *P. chrysosporium* karena memiliki aktivitas enzim LiP yang lebih tinggi daripada glukosa dengan waktu inkubasi yang sama. Grafik aktivitas enzim LiP terhadap waktu inkubasi setiap sumber karbon ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Aktivitas Enzim Lignin Peroksidase dengan Berbagai Sumber Karbon pada Konsentrasi 1% (b/v)

Pada penelitian ini, lignoselulosa paling potensial yang digunakan sebagai sumber karbon untuk produksi enzim LiP oleh *P. chrysosporium* adalah serbuk gergaji kayu dengan aktivitas tertinggi sebesar 25,81 U/ mL dan diikuti oleh jerami yang hanya berbeda sedikit yaitu sebesar 25,16 U/ mL. Hal ini terjadi diduga karena serbuk gergaji kayu dan jerami memiliki kandungan lignin yang cukup tinggi dibandingkan dengan jenis sumber karbon lain. Selain itu, diduga serbuk gergaji kayu dan jerami memiliki struktur yang paling sulit didegradasi oleh LiP. Komposisi penyusun lignoselulosa masing-masing sumber karbon dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Glukosa merupakan sumber karbon untuk pertumbuhan *P. chrysosporium*. Grafik 4.1 menunjukkan bahwa aktivitas enzim LiP menggunakan sumber karbon glukosa paling rendah. Hal ini menjadi dasar digunakannya nilai aktivitas enzim LiP dari sumber karbon glukosa sebagai *baseline*. Grafik 4.2 menunjukkan aktivitas enzim LiP menggunakan berbagai sumber karbon lignoselulosa limbah pertanian yang telah dikurangi dengan aktivitas enzim LiP menggunakan sumber karbon glukosa.



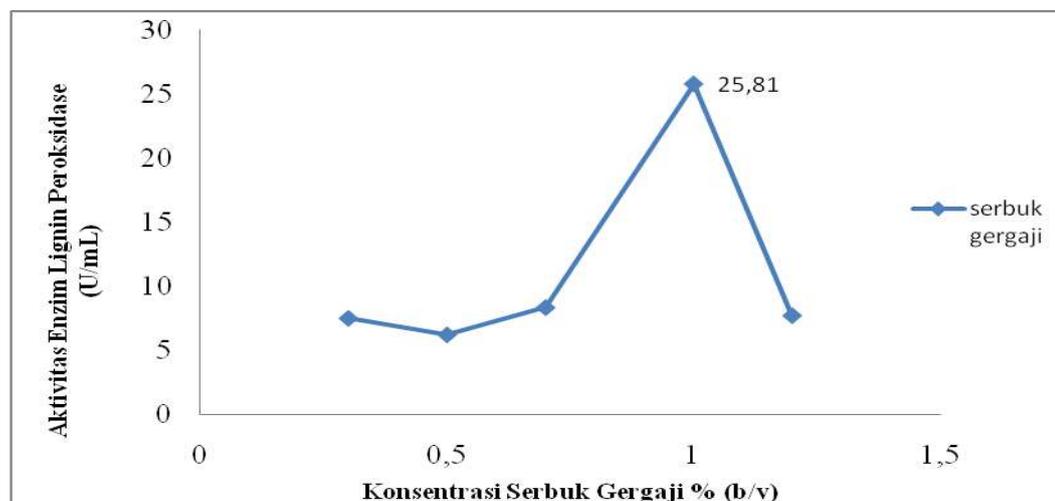
Gambar 2. Aktivitas Enzim Lignin Peroksidase dengan Berbagai Sumber Karbon Lignoselulosa dikurangi dengan Aktivitas Enzim LiP dengan Sumber Karbon Glukosa

Grafik 2 menunjukkan bahwa sumber karbon lignoselulosa limbah pertanian paling potensial untuk memproduksi enzim LiP oleh *P. chrysosporium* adalah serbuk gergaji kayu. Sedangkan untuk mendegradasi lignoselulosa secara langsung oleh *P. chrysosporium* maka sumber karbon paling potensial adalah ampas tebu. Hal ini disebabkan dengan penggunaan sumber karbon lignoselulosa ampas tebu dari hari ke 3 hingga hari ke 5 menghasilkan aktivitas LiP yang

stabil dan tinggi. Hal ini diduga adanya sisa glukosa pada ampas tebu digunakan sel sebagai nutrisi untuk pertumbuhan. Seiring berjalannya waktu karena adanya kompetisi untuk mendapatkan nutrisi maka sel banyak yang mati. Sel yang mati dimanfaatkan oleh sel yang masih hidup sebagai sumber nutrisi karena mengandung banyak protein. Selain itu karena media mengandung lignoselulosa, maka sel juga memproduksi LiP untuk mempertahankan hidupnya. Hal inilah yang menyebabkan aktivitas LiP dengan menggunakan sumber karbon lignoselulosa ampas tebu paling stabil.

Aktivitas enzim LiP tertinggi pada setiap sumber karbon terjadi pada waktu inkubasi yang tidak sama. Sumber karbon dari limbah lignoselulosa semuanya memiliki aktivitas enzim LiP tertinggi pada hari ke enam, sedangkan glukosa pada hari ke tujuh dan kontrol pada hari ke 4. Hal ini sesuai dengan Pernyataan Walnwright (1992) dalam Iriani (2003) bahwa *P. chrysosporium* akan mencapai fase lignolitik setelah hari ke empat dan segera memulai mendegradasi lignin. Pernyataan serupa juga dikemukakan oleh Tien dan Kirk (1984) bahwa aktivitas ligninase dari *P. chrysosporium* dengan media produksi yang mengandung sumber karbon glukosa 1% (b/v) muncul pada hari ke empat dan aktivitas maksimum pada hari ke 5 dan 6. Hal ini diduga pada awal inkubasi hingga hari ketiga, nutrisi masih tersedia dalam media produksi sehingga digunakan oleh sel untuk tumbuh. Semakin lama, sumber nutrisi habis sehingga sel memproduksi metabolit sekundernya yaitu LiP untuk mendegradasi lignin untuk mempertahankan hidupnya. Hari ke 6 menghasilkan aktivitas enzim LiP tertinggi diduga karena memasuki fase stasioner dimana jumlah sel yang hidup maksimal sehingga kebutuhan akan nutrisi lebih banyak. Hal tersebut menyebabkan jumlah enzim LiP yang diproduksi semakin banyak. Setelah hari ke 6 aktivitas enzim LiP menurun, diduga karena memasuki fase kematian akibat nutrisi sudah tidak mencukupi. Sedangkan aktivitas LiP tertinggi saat menggunakan sumber karbon glukosa terjadi pada hari ke 7 diduga dengan tersedianya glukosa, pada hari ke enam sel masih memiliki sumber nutrisi untuk pertumbuhan.

Berdasarkan penelitian penentuan limbah lignoselulosa terbaik untuk memproduksi enzim lignin peroksidase, diketahui bahwa serbuk gergaji kayu sebagai limbah lignoselulosa yang paling berpotensi digunakan sebagai sumber karbon untuk memproduksi LiP oleh *P. chrysosporium*. Kebutuhan sumber karbon sebagai nutrisi untuk pertumbuhan dan pemicu ekspresi enzim LiP oleh mikroorganisme memiliki batasan tertentu. Tien dan Kirk (2011) menggunakan 1% (b/v) sumber karbon glukosa untuk memproduksi enzim LiP dari *P. chrysosporium*. Penelitian lain menunjukkan jumlah sumber karbon optimum untuk produksi enzim LiP pada berbagai jamur dan bakteri berbeda-beda. Artiningsih (2006) menggunakan 2% (b/v) sumber karbon untuk produksi LiP dari jamur jenis *Ganoderma* dan *P. chrysosporium*, Ilmi (2013) untuk memproduksi enzim LiP oleh *Gliomastix* sp menggunakan sumber karbon bonggol jagung sebanyak 20% (b/v). Hal ini menunjukkan bahwa setiap mikroba memiliki jumlah optimum sumber karbon yang berbedabeda. Berdasarkan hal tersebut, pada penelitian ini dilakukan penentuan jumlah sumber karbon optimal untuk produksi enzim LiP oleh *P. chrysosporium* menggunakan limbah lignoselulosa yang paling potensial yaitu serbuk gergaji. Penentuan jumlah optimum sumber karbon tersebut dengan memvariasikan jumlah sumber karbon yang digunakan yaitu 0,3%, 0,5%, 0,7%, 1% dan 1,2%. Hal ini didasarkan pada jumlah sumber karbon untuk penentuan potensi lignoselulosa dari limbah pertanian sebagai sumber karbon untuk produksi LiP oleh *P. chrysosporium* yaitu 1% (b/v) sehingga variasi dibuat rentang 0,2% di bawah dan di atas 1%. Penentuan aktivitas enzim LiP dilakukan pada hari ke enam karena berdasarkan data penentuan potensi limbah lignoselulosa yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa semua limbah selulosa yang digunakan mampu menghasilkan aktivitas enzim LiP tertinggi pada hari ke 6. Pengaruh konsentrasi sumber karbon terhadap aktivitas enzim ditunjukkan pada gambar 4.2



Gambar 3 Aktivitas enzim lignin peroksidase dengan sumber karbon serbuk gergaji kayu pada berbagai konsentrasi

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi serbuk gergaji kayu yang digunakan sebagai sumber karbon mengakibatkan aktivitas enzim LiP berbeda meskipun dengan perlakuan yang sama. Data dan perhitungan aktivitas enzim LiP menggunakan variasi sumber karbon selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 13. Kurva pada gambar 2 menunjukkan bahwa konsentrasi sumber karbon sebanyak 1% mampu menghasilkan aktivitas enzim LiP paling tinggi. Pada konsentrasi optimum, jumlah sumber karbon mampu mencukupi kebutuhan biomassa sel dan produksi enzim. Pada konsentrasi di bawah 1%, aktivitas enzim LiP lebih rendah diduga sumber karbon belum mampu menyediakan sumber energi yang cukup untuk produksi enzim dan mempertahankan hidup sel. Begitu juga dengan jumlah sumber karbon di atas 1%, menghasilkan aktivitas LiP yang lebih rendah. Hal ini diduga pada konsentrasi tersebut mengakibatkan kelebihan sumber karbon bagi sel. Kelebihan sumber karbon atau bahan organik dalam media pertumbuhan mikroba akan mengakibatkan berkurangnya jumlah oksigen sehingga menghambat pertumbuhan sel. Jadi kenaikan aktivitas LiP pada konsentrasi sumber karbon 1% diduga disebabkan nutrisi yang dibutuhkan oleh *P. chrysosporium* dalam media mencukupi sedang penurunan aktivitas LiP pada konsentrasi sumber karbon 1,2% diduga *P. chrysosporium* tidak dapat tumbuh dan memproduksi enzim dengan maksimal karena meskipun nutrisi tersedia namun oksigennya sangat terbatas.

Berdasarkan uraian tersebut, maka dapat dinyatakan bahwa konsentrasi optimum serbuk gergaji kayu sebagai sumber karbon alternatif terbaik untuk produksi enzim lignin peroksidase oleh *P. chrysosporium* adalah 1% (b/v) dengan aktivitas 25,81 U/ mL. Hasil penelitian ini jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Venkatadri *et al.* (1990) yang menggunakan sumber karbon glukosa 1% untuk memproduksi enzim LiP dari *P. chrysosporium* memiliki aktivitas LiP tertinggi 0,08 U/ mL. Hal ini menunjukkan bahwa lignoselulosa serbuk gergaji kayu potensial dijadikan sumber karbon dibandingkan glukosa dengan konsentrasi optimum 1% (b/v).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut.

1. Lignoselulosa serbuk gergaji kayu berpotensi paling baik dibandingkan ampas tebu, bonggol jagung, sekam, dan jerami untuk digunakan sebagai sumber karbon pada produksi enzim lignin peroksidase oleh *Phanerochaete chrysosporium*.
2. Konsentrasi optimum serbuk gergaji kayu sebagai sumber karbon paling potensial untuk produksi lignin peroksidase oleh *Phanerochaete chrysosporium* adalah 1,0 % (b/v). Pada konsentrasi 1,0 % serbuk gergaji kayu mampu menghasilkan aktivitas lignin peroksidase sebesar 25,81 U/mL.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka beberapa saran untuk perbaikan dan pengembangan penelitian berikutnya sebagai berikut.

1. Mengingat aktivitas lignin peroksidase yang dihasilkan dengan menggunakan sumber karbon limbah lignoselulosa lebih tinggi dibandingkan dengan glukosa, maka perlu dikaji lebih lanjut mengenai karakterisasi lignin peroksidase tersebut seperti: ukuran, berat kering sel, dan kondisi optimum reaksi enzimatik.
2. Untuk meningkatkan aktivitas enzim perlu dilakukan pemurnian dan karakterisasi hasil pemurnian ekstrak kasar sistem ligninase

DAFTAR RUJUKAN

1. Akhtar, M., Blanchette, R.A. & Kirk. 1997. Fungal Delignification and Biomechanical Pulping of wood. *Advances in biochemical Engineering Biotechnology*, 57: 159-195.
2. Artiningsih, T. 2006. Aktivitas Ligninolitik Jenis Ganoderma pada Berbagai Sumber Karbon. *Biodiversitas*, 7:307-311.
3. Dey, S. & Bhattacharyya, B.C. 1994. Production of Extracellular Enzymes by a Lignin Peroxidase-Producing Brown Rot Fungus, *Polyporus ostreiformis* and its Comparative Abilities for Lignin Degradation and dye Decolorization. *Applied and Environmental Microbiology*, 60:4216-4218.
4. Fadilah, Distantina, S., Artanti, E.K. * Jumari, A. 2008. *Biodelignifikasi Batang Jagung dengan Jamur Pelapuk Putih Phanerochaete chrysosporium*. Surakarta: UNS.
5. Hatakka A. 1994. Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role in lignin degradation. *FEMS Microbiol. Rev.* 13: 125-135.
6. Howard, R.L., Abotsi, E., J. van Rensburg E.L., and Howard, S. 2003. Lignocellulose Biotechnology: Issue of Bioconversion and Enzyme Production. *African J. of Biotech.* Vol 2(12), 602-619
7. Ilmi, I.M. & Kuswyasari, N.D. 2013. Aktivitas Enzim Lignin Peroksidase oleh *Gliomastix* sp. T3.7 pada Limbah Bonggol Jagung dengan Berbagai pH dan Suhu. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 2:2337-3520.
8. Iriani, P. 2003. *Delignifikasi Sabut Kelapa (Coccus nucifera L) oleh Jamur Phanerochaete chrysosporium*. Thesis tidak diterbitkan. (SITH) ITB.

9. Katagiri, N., Tsutsumi, Y. & Nishida, T. 1995. Correlation of Brightening with Cumulative Enzyme Activity Related to Lignin Biodegradation During Biobleaching of Kraft Pulp by White-rot Fungi in the Solid-state Fermentation System. *J App Environ Microbiol*, 61: 617-622.
10. Manavalan, A., Adav, S.S., Sze, S.K. 2011. iTraq-based Quantitative Secretome Analysis of *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Proteomic* 75: 642-654.
11. Rolz, C., Arriola, M.C. & Cabrera, S. 1986. Biodelignification of Lemon Grass and Citronella Baggase by White-Rot Fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 52:607-611.
12. Samsuri, M., Prasetya, B. & Hermiati, E. 2004. *Biodegradasi Baggase oleh Jamur Pelapuk Putih (White rot fungi) dan Potensi Pemanfaatannya untuk Ethanol*. Prosiding Seminar Nasional XIII, Kimia dalam Industry dan Lingkungan, Jakarta.
13. Sulistinah, N. 2008. Potensi *Melanotus* sp. dalam Mendegradasi Lignin. *Jurnal Biologi*, XII(1):6-8.
14. Tien, M. & Kirk, K.T. 1983. Lignin Degrading Enzyme from hymenomycetes *Phanerochaete chrysosporium* burds. *Science*, 221, 661-663.
15. Tien, M. & Kirk, T.K. 1988. Lignin Peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*. *Methods Enzymol*, 161, 238-248.
16. Venkatadri, R. & Irvine, R.L. 1990. Effect of Agitation on Ligninase Activity and Ligninase Production by *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmrntal Microbiology*, 56:9.
17. Wong, D.W.S. 2009. Structure and Action Mechanism of Ligninolytic Enzymes. *Appl Biochem Biotechnol*, 157:174-209.
18. Yusnidar, R. 2011. *Studi Degradasi Ampas Tebu Menjadi Glukosa oleh Jamur Phanerochaete chrysosporium*. Skripsi tidak diterbitkan. Malang: FMIPA UM.