



TUGAS AKHIR - SB141510

**EVALUASI DAYA HIDUP DAN DAYA KERJA  
JAMUR LIGNINOLITIK *Gliomastix* sp. PADA  
MEDIA PEMBAWA TANAH GAMBUT DAN  
BONGGOL JAGUNG**

**INEN BARAHANI  
1512100038**

**Dosen Pembimbing  
Nengah Dwianita Kuswytasari, S.Si., M.Si**

**JURUSAN BIOLOGI  
Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember  
Surabaya 2015**



FINAL PROJECT - SB141510

**STUDY OF VIABILITY AND CAPABILITY OF  
LIGNINOLITIC *Gliomastix* sp. IN PEAT SOIL  
AND CORNCOB CARRIER MATERIALS**

**INEN BARAHANI  
1512100038**

**Advisor Lecture  
Nengah Dwianita Kuswytasari, S.Si., M.Si**

**DEPARTEMENT OF BIOLOGY  
Faculty Of Mathematics and Natural Sciences  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember  
Surabaya 2016**

## LEMBAR PENGESAHAN

# EVALUASI DAYA HIDUP DAN DAYA KERJA JAMUR LIGNINOLITIK *Gliomastix* sp. PADA MEDIA PEMBAWA TANAH GAMBUT DAN BONGGOL JAGUNG


## TUGAS AKHIR

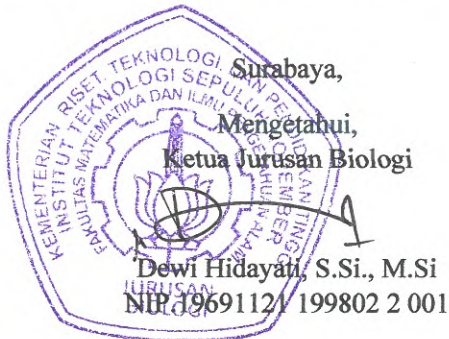
Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains  
pada  
Jurusan S-1 Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh:

**INEN BARAHANI**  
**NRP. 1512 100 038**

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir.

N. D. Kuswytasari, S.Si., M.Si.  (Pembimbing 1)



EVALUASI DAYA HIDUP DAN DAYA KERJA JAMUR  
LIGNINOLITIK *Gliomastix* sp. PADA MEDIA PEMBAWA  
TANAH GAMBUT DAN BONGGOL JAGUNG

**Nama Mahasiswa : Inen Barahani**

**NRP : 1512 100 038**

**Jurusan : Biologi**

**Dosen Pembimbing : N. D. Kuswytasari, S.Si., M.Si**

**Abstrak**

*Limbah padat organik lignoselulosa merupakan residu dari berbagai industri dan pertanian yang sulit terdegradasi serta jumlahnya melimpah di alam. Gliomastix sp. LM 1020 diketahui sebagai jamur penghasil enzim ekstraselular ligninolitik yang berperan dalam proses degradasi bahan berlignoselulosa.*

*Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya kerja dan daya hidup Gliomastix sp. LM 1020 sebagai agen biologis penghasil enzim ligninolitik pada media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung. Parameter yang diukur dalam penelitian ini adalah viabilitas dan aktivitas enzim Gliomastix sp. yang telah dikemas dalam media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung. Analisa data dilakukan dengan metode analisa deskriptif kualitatif.*

*Aktivitas ligninolitik Gliomastix sp. LM 1020 tertinggi terdapat pada media pembawa bonggol jagung yakni LiP sebesar 555,56 U/ml, MnP sebesar 578,51 U/ml, dan laccase sebesar 69,44 U/ml. Masa simpan terbaik untuk media pembawa bonggol jagung adalah 4 minggu, sedangkan masa simpan terbaik untuk media pembawa tanah gambut adalah 6 minggu. Uji viabilitas Gliomastix sp. pada media pembawa menunjukkan adanya pertumbuhan hingga akhir masa inkubasi yaitu 8 minggu yang artinya keberadaan kapang pendegradasi dapat dipertahankan oleh kedua jenis media pembawa.*

**Kata Kunci : Aktivitas enzim, ligninolitik, lignoselulosa, media pembawa, viabilitas**

STUDY OF VIABILITY AND CAPABILITY OF  
LIGNINOLITIC *Gliomastix* sp. IN PEAT SOIL AND  
CORNCOB CARRIER MATERIALS

**Name** : Inen Barahani  
**NRP** : 1512 100 038  
**Department** : Biology  
**Advisor Lecture** : N. D. Kuswytasari, S.Si., M.Si

***Abstract***

*Lignocellulosic organic waste is known as a residual product of agriculture industry that is difficult to degrade yet available abundantly in nature. Gliomastix sp. LM 1020, is known as a fungi that producing extracellular enzymes .*

*Therefore, this study were made to investigate the viability and capability of Gliomastix sp. as biological agent supplying the ligninolytic enzyme using peat soil and corncob as carrier materials. The parameters used in the experiment are to measure the viability and enzyme activity of Gliomastix sp. stored inside both peat and corncob as a biological agent carrier. The analysis are then carried out using descriptive-qualitative analytical method.*

*The highest ligninolytic activity of Gliomastix sp. occur in corncob carrier material which is LiP 555,56 U/ml, MnP 578,51 U/ml, and laccase 69,44 U/ml. The best storage period of corncob as carrier materials are 4 week, whereas 6 week for peat soil. Result of viability assay has shown that Gliomastix sp. as a biological agent survived by both type of carrier materials during the storage period.*

**Keywords** : carrier materials, enzyme activity, ligninolytic, lignocellulosic

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMBUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
ABSTRAK .....	iv
ABSTRACT .....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Batasan Masalah .....	2
1.4 Tujuan ... ..	3
1.5 Manfaat .....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Enzim Ligninolitik .....	5
2.2 Komponen dan Struktur Lignoselulosa.....	7
2.2.1 Selulosa.....	7
2.2.2 Hemiselulosa.....	8
2.2.3 Lignin.....	9
2.2.4 Pengolahan bahan lignoselulosa .....	10
2.3 Isolat Uji <i>Gliomastix</i> sp. ....	11
2.4 Media Pembawa Tanah Gambut .....	12
2.5 Media Pembawa Bonggol Jagung .....	14
BAB III METODOLOGI .....	17
3.1 Waktu dan Tempat Kerja Penelitian.....	17
3.2 Alat Bahan dan Cara Kerja.....	17

3.2.1	Subkulttur <i>Gliomastix</i> sp. ....	17
3.2.2	<i>Pre-treatment</i> limbah organik lignoselulosa .....	17
3.2.3	Pembuatan medium .....	17
3.2.4	Pembuatan starter .....	18
3.2.5	Optimasi .....	18
3.2.6	Produksi enzim .....	18
3.2.7	Formulasi media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung .....	19
3.2.8	Uji viabilitas <i>Gliomastix</i> sp. LM 1020 pada media pembawa .....	19
3.2.9	Ekstraksi Enzim Kasar .....	19
3.2.10	Analisa Enzim .....	20
	3.2.10.1 Uji aktivitas Lignin Peroksidase .....	20
	3.2.10.2 Uji aktivitas Mangan Peroksidase .....	20
	3.2.10.3 Uji aktivitas <i>laccase</i> .....	21
3.3	Rancangan Penelitian dan Analisa Data.....	22
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>		
4.1	<i>Pre-treatment</i> Tanah Gambut dan Bonggol Jagung .....	23
4.2	Optimasi .....	24
4.3	Produksi Enzim Ligninolitik .....	25
4.4	Formulasi Media Pembawa Tanah Gambut dan Bonggol Jagung.....	26
4.5	Uji Viabilitas .....	28
4.6	Aktivitas Enzim Ligninolitik .....	30
	4.6.1 Aktivitas Lihnin Peroksidase .....	31
	4.6.2 Aktivitas Mangan Peroksidase .....	34
	4.6.3 Aktivitas <i>Laccase</i> .. .....	36
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....		
5.1	Kesimpulan .....	39
5.2	Saran.. .....	39
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....		40
<b>LAMPIRAN</b> .....		47

## DAFTAR TABEL

		Halaman
<b>Tabel 4.1</b>	Komposisi tanah gambut .....	27
<b>Tabel 4.2</b>	Analisa kandungan tanah gambut .....	28
<b>Tabel 4.3</b>	Komposisi bonggol jagung .....	29
<b>Tabel 4.4</b>	Uji viabilitas <i>Gliomastix</i> sp. pada media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung .....	29



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
<b>Gambar 2.1</b> Mekanisme degradasi lignin oleh MnP.....	5
<b>Gambar 2.2</b> Struktur selulosa .....	7
<b>Gambar 2.3</b> Struktur unit-unit penyusun hemiselulosa .....	9
<b>Gambar 2.4</b> Struktur penyusun lignin .....	10
<b>Gambar 2.5</b> <i>Gliomastix</i> sp. ....	12
<b>Gambar 2.6</b> Lahan gambut .....	14
<b>Gambar 2.7</b> Limbah bonggol jagung .....	15
<b>Gambar 4.1</b> Tanah gambut dan bonggol jagung setelah digiling .....	23
<b>Gambar 4.2</b> Optimasi .....	24
<b>Gambar 4.3</b> Kultur produksi .....	26
<b>Gambar 4.4</b> Kultur produksi <i>Gliomastix</i> sp. pada media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung .....	27
<b>Gambar 4.5</b> <i>Crude</i> enzim .....	31

<b>Gambar 4.6</b>	Grafik aktifitas LiP <i>Gliomastix</i> sp. pada media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung .....	33
<b>Gambar 4.7</b>	Grafik aktifitas MnP <i>Gliomastix</i> sp. pada media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung .....	35
<b>Gambar 4.8</b>	Grafik aktifitas enzim <i>laccase</i> <i>Gliomastix</i> sp. pada media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung ....	37

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
<b>Lampiran 1</b> <i>Pre-treatment</i> limbah bonggol jagung dan tanah gambut .....	49
<b>Lampiran 2</b> Pembuatan Medium .....	49
<b>Lampiran 3</b> Pembuatan Buffer .....	50
<b>Lampiran 4</b> Pembuatan Starter .....	51
<b>Lampiran 5</b> Tahap Optimasi .....	52
<b>Lampiran 6</b> Produksi Enzim Ligninolitik .....	53
<b>Lampiran 7</b> Inokulasi kultur produksi pada medium pembawa .....	54
<b>Lampiran 8</b> Uji Viabilitas .....	55
<b>Lampiran 9</b> Ekstraksi enzim kasar .....	58

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Lignoselulosa merupakan hasil samping atau residu dari berbagai industri dan banyak terdapat pada limbah pertanian seperti jerami padi, tandan kelapa sawit, batang dan bonggol jagung serta bagase tebu. Komponen penyusun lignoselulosa adalah lignin, hemiselulosa, dan selulosa, dengan komposisi terbesar adalah lignin yaitu sekitar 30% (Reeves & Schmidt, 1994). Enzim ligninolitik yang disintesis oleh kapang dapat mendegradasi bahan-bahan tersebut. Terdapat tiga enzim ligninolitik dari kapang yaitu Lignin Peroxidase (LiP), Mangan Peroxidase (MnP), dan *Laccase* (Singh, 2008).

Berdasarkan penelitian sebelumnya diketahui bahwa *Gliomastix* sp. LM 1020 mempunyai kemampuan mendegradasi lignin paling besar diantara kapang koleksi laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi ITS lainnya. *Gliomastix* sp. LM 1020 mampu menghasilkan enzim Lignin Peroksidase pada limbah bonggol jagung, dimana aktifitas enzim LiP maksimum terdapat pada pH 6,0 dan suhu 35<sup>0</sup>C sebesar 8,088 U/ml (Kuswytasari dkk, 2013).

Penggunaan media pembawa (*carrier materials*) banyak dilakukan di bidang pertanian untuk mengemas pupuk hayati atau biofertilizer yang umumnya berupa bakteri penambat nitrogen dan bakteri pelarut fosfat (Boraste, 2009). Secara umum bahan yang digunakan untuk pembuatan media pembawa harus memenuhi persyaratan tertentu, yakni (1) tidak bersifat toksik bagi agen biologis (2) mempunyai kapasitas penyerapan air yang baik untuk menjaga kelembaban (3) mudah dalam proses penggunaannya dan tidak membentuk gumpalan, (4) mudah dalam proses sterilisasi, (5) mudah diperoleh karena ketersediaannya cukup, (6) murah, (7) mempunyai kemampuan mengikat benih yang baik, khususnya untuk penerapan dalam bidang pertanian, (8) mempunyai kemampuan untuk menjaga kestabilan pH, dapat

berfungsi sebagai penyangga pH, serta (9) tidak bersifat toksik bagi tumbuhan, hewan dan makluk hidup lainnya.

Pemanfaatan tanah gambut dan bonggol jagung sebagai media pembawa saat ini telah banyak diupayakan dan banyak macamnya. Tanah gambut memiliki kelembaban dan kandungan materi organik yang tinggi. Dalam keadaan hutan alami, lahan gambut berfungsi sebagai penambat (*sequester*) karbon sehingga berkontribusi dalam mengurangi gas rumah kaca di atmosfer, meskipun proses penambatan berjalan sangat pelan yakni setinggi 0 hingga 3 mm gambut per tahun (Parish *et al.*, 2007). Sedangkan buah jagung terdiri dari 30% limbah yang berupa bonggol jagung dan merupakan salah satu sumber lignoselulosa yang cukup tinggi (Johnson, 1991). Sehingga dari jumlah limbah tersebut dapat dikatakan cukup banyak dan akan menjadi sangat potensial jika dimanfaatkan secara tepat (Gozan, 2007).

Evaluasi daya hidup dan daya kerja *Gliomastix* sp. sebagai agen biologis pada media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung dilakukan dengan uji viabilitas serta uji aktivitas enzim ligninolitik dengan menghitung aktivitas enzim Lignin Peroksidase (LiP), Mangan Peroksidase (MnP) dan *Laccase* selama masa simpan yakni dua bulan. Uji viabilitas dan aktivitas enzim dilakukan pada minggu ke 0, 2, 4, 6, dan 8.

## **1.2 Permasalahan**

Permasalahan yang diangkat dalam penelitian ini adalah bagaimana daya kerja dan daya hidup *Gliomastix* sp. LM 1020 sebagai agen biologis penghasil enzim ligninolitik pada media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung.

## **1.3 Batasan Masalah**

Agar penelitian tetap fokus pada topik penelitian maka diperlukan batasan-batasan sebagai berikut:

1. Isolat uji adalah *Gliomastix* sp. LM 1020 koleksi laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi ITS yang di isolasi dari Wonorejo Surabaya.

2. Media pembawa yang digunakan adalah tanah gambut yang diperoleh dari Palangkaraya, Kalimantan Tengah dan bonggol jagung yang diperoleh dari Mojokerto, Jawa Timur
3. Daya hidup *Gliomastix* sp. LM 1020 diukur dengan uji viabilitas
4. Daya kerja *Gliomastix* sp. LM 1020 berdasarkan uji aktivitas enzim ligninolitik dengan menghitung aktivitas enzim Lignin peroksidase (LiP), Mangan Peroksidase (MnP) dan *Laccase*

#### **1.4 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya hidup dan daya kerja *Gliomastix* sp. sebagai agen biologis penghasil enzim ligninolitik pada media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung.

#### **1.5 Manfaat penelitian**

##### **1.5.1 Manfaat Teoritik**

Penelitian ini dapat memberikan tambahan informasi dan pengetahuan tentang medium pembawa padat khususnya tanah gambut dan bonggol jagung, serta daya hidup dan daya kerja *Gliomastix* sp. pada media tanah gambut dan bonggol jagung.

##### **1.5.2 Manfaat Praktik**

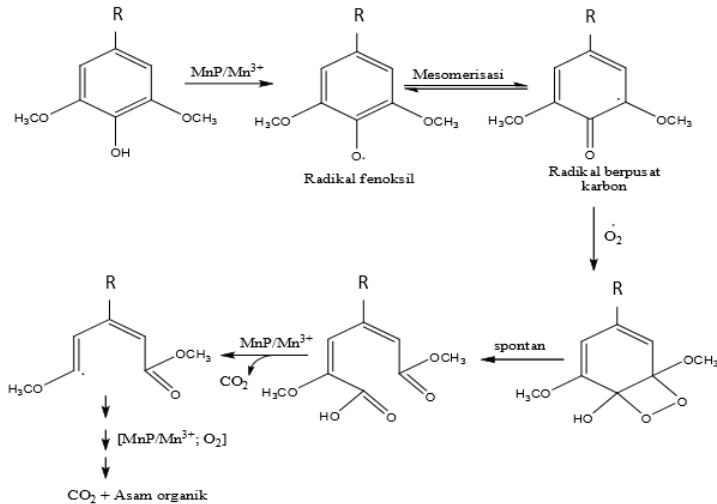
1. Penelitian ini memberikan informasi tentang kondisi media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung yang sesuai untuk pertumbuhan dan kinerja agen bioremediasi yakni *Gliomastix* sp.
2. Mendapatkan bahan pembawa yang dapat mempertahankan daya hidup dan daya kerja *Gliomastix* sp dalam kurun waktu tertentu.

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Enzim Ligninolitik

Enzim ligninolitik merupakan enzim ekstraselular yang dapat mendegradasi lignoselulosa terutama lignin. Terdapat tiga jenis enzim ligninolitik dalam proses degradasi lignin yaitu fenol oksidase (*laccase*), lignin peroksidase (LiP), dan mangan peroksidase (MnP). Lignin peroksidase (LiP) dan mangan peroksidase (MnP) adalah enzim peroksidase ekstraseluler yang menggunakan  $H_2O_2$  dalam mendegradasi lignin, sedangkan *laccase* merupakan enzim yang mengandung tembaga dengan menggunakan molekul oksigen dalam mendegradasi lignin (Tien, 1984). Mekanisme degradasi lignin oleh MnP ditunjukkan pada gambar 2.1.



Gambar 2.1 Mekanisme degradasi lignin oleh MnP (Sumber: Hofrichter, 2002)



MnP mengoksidasi  $Mn^{2+}$  menjadi  $Mn^{3+}$  yang berperan dalam pemutusan unit fenolik lignin. Reaksi enzim MnP dengan cincin fenolik diawali dengan pelepasan sebuah elektron dan membentuk radikal fenoksil. Radikal fenoksil mengalami mesomeri dan bereaksi dengan  $O_2$  radikal membentuk eter peroksida. Eter peroksida selanjutnya mengalami pemecahan cincin secara spontan membentuk senyawa alifatik. Sistem enzim MnP membelah gugus ini menjadi  $CO_2$  dan radikal alifatik. Radikal alifatik kemudian bereaksi kembali dengan enzim MnP menghasilkan lebih banyak  $CO_2$  dan asam organik (Hofrichter, 2002).

LiP merupakan enzim lignolitik yang mampu mengoksidasi inti aromatik (fenolik dan nonfenolik) melalui pelepasan satu elektron menghasilkan radikal kation dan fenoksi (Akhtar *et al.*, 1997). LiP adalah enzim peroksidase ekstraseluler yang mempunyai potensial redoks yang besar dan pH optimum yang rendah (Gold dan Alic, 1993). LiP merupakan enzim yang mengandung heme dengan potensial redoks yang tinggi yang membutuhkan dua metabolit utama agar dapat bekerja. Metabolit tersebut adalah hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dan veratril alkohol yang digunakan sebagai mediator untuk reaksi redoks.

*Laccase* merupakan fenol oksidasi yang mengandung tembaga yang tidak membutuhkan  $H_2O_2$  tetapi menggunakan molekul oksigen (Thurston, 1994). *Laccase* umumnya ditemukan pada tanaman tingkat tinggi dan berbagai mikroorganisme yaitu jamur, khamir dan bakteri (Thurston, 1994; Mayer dan Staples 2002, Claus 2003). Reaksi enzimatik pada *laccase* merupakan reaksi oksidasi senyawa fenol dan mereduksi oksigen menjadi air dalam substrat fenolik melalui reaksi satu elektron membentuk radikal bebas yang dapat disamakan dengan radikal kation yang terbentuk pada reaksi MnP (Kersten *et al.*, 1990). Pemanfaatan *laccase* dapat diaplikasikan pada berbagai bidang industri, antara lain pada proses bioremediasi dan biodegradasi polutan organik pada tanah (Ahn *et al.*, 2002), proses dekolorisasi dan detoksifikasi

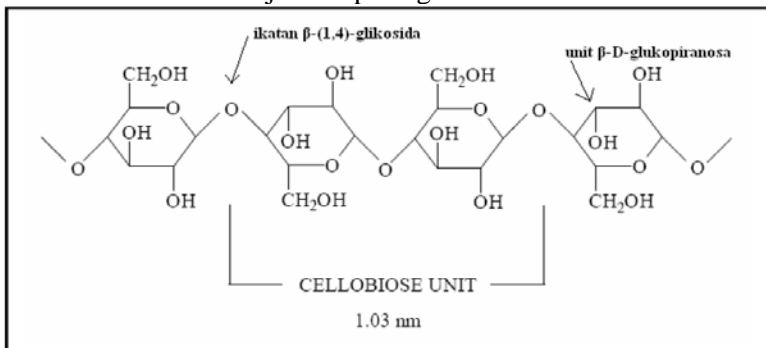
pada pewarna tekstil (Abadulla *et al.*, 2000), serta pada proses *bleaching* pada industri kertas (Bourbonnais & Paice,1992).

## 2.2 Komponen dan Struktur Lignoselulosa

Lignoselulosa tersusun dari mikrofibril selulosa yang membentuk kluster-kluster, dengan ruang antar mikrofibril terisi dengan hemiselulosa, dan kluster tersebut terbebat kuat oleh lignin. Jadi secara kimia, lignoselulosa terdiri atas tiga komponen utama, yaitu lignin, hemiselulosa, selulosa dan sedikit kandungan ekstraktif.

### 2.2.1 Selulosa

Selulosa merupakan homopolisakarida yang tersusun atas  $\beta$ -D- glukopiranososa yang terikat satu sama lain dengan ikatan-ikatan  $\beta$ -(1,4)-glikosida. Molekul selulosa memiliki kecenderungan membentuk ikatan hidrogen intra dan inter molekul. Sebagai struktur yang berserat dan memiliki ikatan hidrogen yang kuat, selulosa memiliki kekuatan tarik yang tinggi dan tidak larut dalam banyak jenis pelarut (Holtzapple *et al.*,2003). Struktur selulosa ditunjukkan pada gambar 2.2.



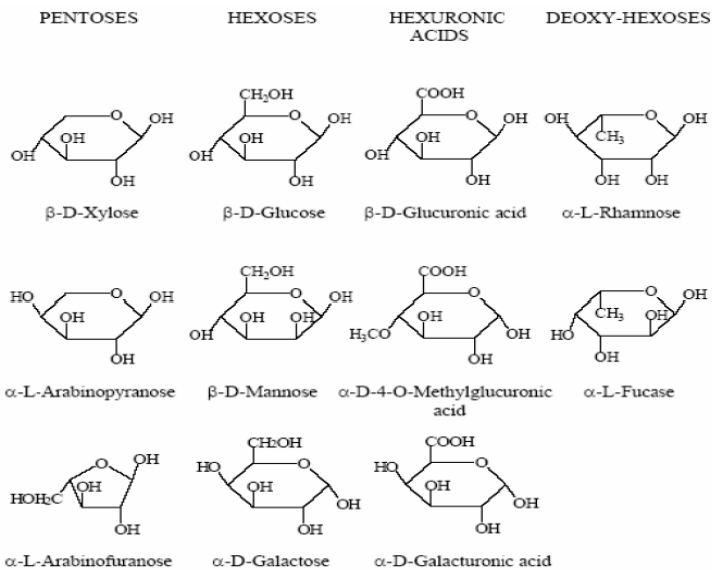
Gambar 2.2 Struktur selulosa  
(Sumber : Lehninger, 1993)

Selulosa tidak pernah ditemukan dalam keadaan murni di alam, tetapi selalu berasosiasi dengan polisakarida lain seperti lignin, pectin, hemiselulosa, dan xilan (Goyskor dan Eriksen 1980

dalam Fitriani 2003). Kebanyakan selulosa berasosiasi dengan lignin sehingga sering disebut sebagai lignoselulosa. Di dalam tumbuhan molekul selulosa tersusun dalam bentuk fibril yang terdiri atas beberapa molekul paralel yang dihubungkan oleh ikatan glikosidik sehingga sulit diuraikan (Goyskor dan Eriksen 1980 dalam Fitriani 2003). Komponen-komponen tersebut dapat diuraikan oleh aktifitas mikroorganisme. Beberapa mikroorganisme mampu menghidrolisis selulosa untuk digunakan sebagai sumber energi, seperti bakteri dan fungi (Sukumaran *et.al* 2005).

### **2.2.2 Hemiselulosa**

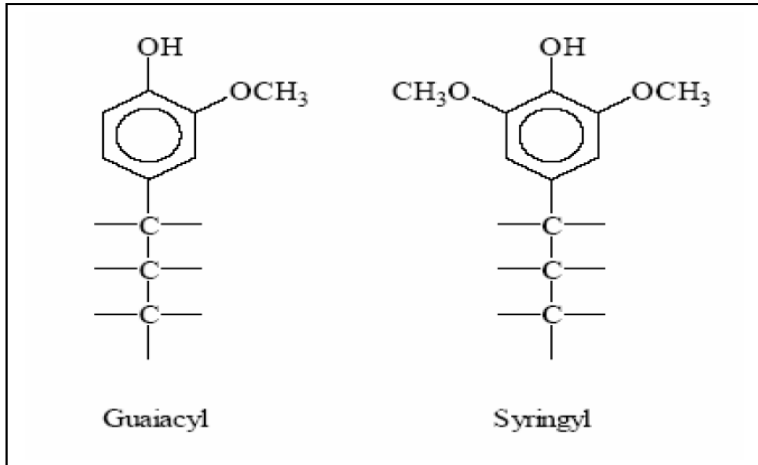
Hemiselulosa termasuk dalam kelompok polisakarida heterogen yang dibentuk melalui jalan biosintesis yang berbeda dari selulosa. Hemiselulosa relatif mudah dihidrolisis oleh asam menjadi komponen-komponen monomer hemiselulosa. Hemiselulosa mempunyai rantai polimer yang pendek dan tak berbentuk, oleh karena itu sebagian besar dapat larut dalam air. Rantai utama dari hemiselulosa dapat berupa homopolimer atau heteropolimer. Hemiselulosa relatif mudah dihidrolisis oleh asam menjadi komponen-komponen monomernya. Hemiselulosa dapat diisolasi dengan cara ekstraksi menggunakan dimetilsulfoksida dan alkali (KOH dan NaOH) (Ibrahim, 1998). Hemiselulosa dihubungkan oleh ikatan kovalen dengan lignin. Selulosa secara alami terproteksi dari degradasi dengan adanya hemiselulosa dan lignin. Hemiselulosa mengikat lembaran serat selulosa membentuk mikrofibril yang meningkatkan stabilitas dinding sel. Hemiselulosa juga berikatan silang dengan lignin membentuk jaringan kompleks dan memberikan struktur yang kuat. Struktur penyusun hemiselulosa ditunjukkan pada gambar 2.3.



Gambar 2.3 Struktur unit-unit penyusun hemiselulosa  
(Sumber: Ibrahim, 1998)

### 2.2.3 Lignin

Lignin merupakan makromolekul yang memainkan peran penting dalam memberikan dukungan mekanik untuk mengikat serat tanaman. Lignin adalah polimer berkadar aromatik-fenolik yang tinggi, berwarna kecoklatan, dan relatif lebih mudah teroksidasi. Lignin memiliki berat molekul yang bervariasi yaitu antara 1000—20.000, tergantung pada sumber biomasnya. Lignin mempunyai titik pelunakan dan titik leleh yang rendah. Sifat lignin yang terpenting yang digunakan dalam penentuan pelarut adalah kelarutannya dalam larutan basa. Beberapa contoh spesies jamur yang dapat mendegradasi lignin adalah *Penicillium* sp. *Aspergillus niger*, *Oidium* sp. dan *Glomastix* sp (Fengel, 1984). Struktur penyusun lignin ditunjukkan pada gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur penyusun lignin  
(Sumber: Ibrahim, 1998)

#### 2.2.4 Pengolahan Bahan Lignoselulosa

Upaya pengolahan dan pemanfaatan bahan berlignoselulosa menjadi produk bernilai tambah banyak dilakukan untuk meminimalisir limbah karena bahan berlignoselulosa terutama lignin sulit terdegradasi dalam kondisi anaerob.

Selulosa sebagai komponen kayu dapat dihidrolisis oleh enzim menjadi glukosa yang selanjutnya dapat di fermentasi menjadi alkohol. Untuk menghidrolisis selulosa dalam lignoselulosa jauh lebih sulit dibandingkan hidrolisis selulosa yang bebas, karena lignoselulosa merupakan bahan yang sangat rapat sehingga pada kondisi biasa bersifat inert (Soerawidjaja dan Amirudin, 2007). Oleh sebab itu diperlukan suatu proses awal (*pretreatment*) untuk mempersiapkan bahan agar dapat disakarifikasi oleh enzim dan difermentasi oleh mikroorganisme yang bebas dari lignin dan hemiselulosa (Mosier *et al.*, 2005). Keberhasilan *pretreatment* ini ditentukan oleh besarnya kandungan lignin dan hemiselulosa yang hilang dari bahan.

Pemanfaatan limbah bonggol jagung saat ini telah banyak diupayakan dan banyak macamnya. Salah satunya adalah produksi xilan, bahan yang diekstrak dari bonggol jagung berupa hemiselulosa (Mosier *et al.*, 2005).

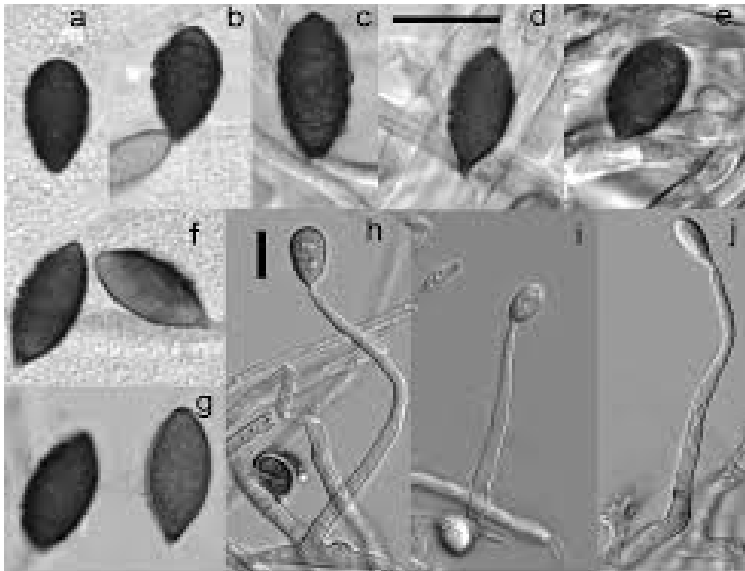
### 2.3 *Gliomastix* sp.

Klasifikasi *Gliomastix* sp. :

Kingdom : Fungi  
 Divisio : Ascomycota  
 Subdivisio : Ascomycotina  
 Classes : Sordariomycetes  
 Ordo : Hypocrales  
 Family : Bionectriaceae  
 Genus : *Gliomastix*  
 Species : *Gliomastix* sp.

(Sumber: Global Biodiversity Information Facility, 2015)

*Gliomastix* memiliki ciri-ciri ; memiliki hifa yang lembut, berwarna putih, warna margin putih dan sporulasi sedikit. Genus *Gliomastix* memproduksi konidiofor, warna konidia gelap dengan permukaan halus dan bersel satu yang kemudian menjadi hitam dan membentuk cincin konsentris. Spesies-spesies dari *Gliomastix* menyusun sebagian kecil dari biota jamur. Genus ini berkaitan dengan *Acremonium* dan spesies monophialidic dari *Paecilomyces*. Habitat dari *Gliomastix* adalah tanaman, kayu, tanah dan bahan selulosa. *Gliomastix* juga dapat ditemukan di pembuangan sampah. *Gliomastix* ditunjukkan pada gambar 2.5.



Gambar 2.5 *Gliomastix* sp.

Keterangan : a-g) Konidia, h-j) konidiospora dan sel konidiogenus (Lechat *et al.*, 2010)

*Gliomastix* sp. mampu menghasilkan enzim ligninolitik diantaranya lakase, mangan peroksidase (MnP), dan lignin peroksidase (LiP) pada medium limbah organik (Kuswytasari dkk, 2015). *Gliomastix* sp. T3.7 mempunyai kemampuan mendegradasi lignin paling besar diantara kapang koleksi laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi ITS lainnya (Kuswytasari dkk, 2012). Uji aktivitas enzim Lignin peroksidase (LiP) oleh *Gliomastix* sp. ini dapat dideteksi dengan menggunakan spektrofotometer (Syafrizal, 2007).

#### 2.4 Media Pembawa Tanah Gambut

Indonesia memiliki lahan rawa yang cukup luas dan sebagian besar lahan rawa tersebut merupakan gambut yang tersebar terutama di Sumatera, Kalimantan dan Papua. Tanah gambut terbentuk oleh lingkungan yang khas yaitu rawa atau

suasana genangan yang terjadi hampir sepanjang tahun. Tanah gambut terbentuk dari timbunan bahan organik, sehingga kandungan karbon pada tanah gambut sangat besar. Fraksi organik tanah gambut di Indonesia lebih dari 95%, kurang dari 5% sisanya adalah fraksi anorganik. Fraksi organik terdiri atas senyawa-senyawa humat sekitar 10 hingga 20%, sebagian besar terdiri atas senyawa-senyawa non-humat yang meliputi senyawa lignin, selulosa, hemiselulosa, lilin, tannin, resin, suberin, dan sejumlah kecil protein. Sedangkan senyawa-senyawa humat terdiri atas asam humat, himatomelanat dan humin (Stevenson, 1994; Tan, 1993). Selain memiliki kapasitas memegang kelembaban yang tinggi dan kandungan materi organik yang tinggi yang sangat penting untuk kehidupan naungan kultur bakteri yang lebih baik, tanah gambut juga meningkatkan kelestarian sel-sel *Rhizobium* pada kulit biji, terutama di dalam kondisi tanah yang kering (Rao, 1994).

Penelitian tentang media pembawa tanah gambut telah banyak dilakukan. Pada penelitian sebelumnya yang berjudul Ketahanan Hidup Konsorsium Bakteri Petrofilik pada Media Pembawa Tanah Gambut selama Masa Penyimpanan menyebutkan bahwa Medium pembawa tanah gambut dengan penambahan  $\text{CaCO}_3$  hingga pH 6,5 dapat disimpan selama tiga bulan dan mampu menurunkan Total Petroleum Hidrokarbon (TPH) sebesar 11,36% selama satu minggu pada proses bioremediasi tanah terkontaminasi minyak bumi skala mesokosmos. Gambut terbentuk dari timbunan sisa-sisa tanaman yang telah mati, baik yang sudah lapuk maupun belum. Timbunan terus bertambah karena proses dekomposisi terhambat oleh kondisi anaerobik dan/atau kondisi lingkungan lainnya yang menyebabkan rendahnya tingkat perkembangan biota pengurai. Pembentukan tanah gambut merupakan proses geogenik yaitu pembentukan tanah yang disebabkan oleh proses deposisi dan transportasi, berbeda dengan proses pembentukan tanah mineral yang pada umumnya merupakan proses pedogenik (Hardjowigeno, 1986).





Gambar 2.6 Lahan gambut

Gambut di Indonesia umumnya merupakan gambut ombrogen, terutama gambut pedalaman yang terdiri atas gambut tebal dan miskin unsur hara, digolongkan ke dalam tingkat oligotrofik (Radjaguguk, 1997). Gambut oligotropik, seperti banyak ditemukan di Kalimantan, mempunyai kandungan kation basa seperti Ca, Mg, K, dan Na sangat rendah terutama pada gambut tebal (Driessen dan Suhardjo, 1976).

### **2.5 Media Pembawa Bonggol Jagung**

Bahan lain yang dapat dimanfaatkan sebagai media pembawa adalah bonggol jagung. Pemanfaatan jagung saat ini sangat beraneka ragam mulai bahan pangan hingga bioenergi. Buah jagung terdiri dari 30% limbah yang berupa bonggol jagung. Sehingga dari jumlah limbah tersebut dapat dikatakan cukup banyak dan akan menjadi sangat potensial jika dapat dimanfaatkan secara tepat (Gozan, 2007). Bonggol jagung memiliki kandungan selulosa yang cukup tinggi (Johnson, 1991). Limbah bonggol jagung sebanyak 30% dari berat total jagung (Koswara, 1991)

merupakan salah satu sumber lignoselulosa yang ketersediaannya cukup melimpah.



Gambar 2.7 Limbah bonggol jagung

Limah pertanian (termasuk bonggol jagung), mengandung selulosa (40-60%), hemiselulosa (20-30%) dan lignin (15-30%). Komposisi kimia tersebut membuat tongkol jagung dapat digunakan sebagai sumber energi, bahan pakan ternak dan sebagai sumber karbon bagi pertumbuhan mikroorganisme (Irawadi, 1990 dalam Shofiyanto, 2008).

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**

## **BAB III METODOLOGI**

### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari-Juni 2016. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.

### **3.2 Alat dan Bahan dan Cara Kerja**

#### **3.2.1 Subkultur *Gliomastix* sp.**

Isolat uji yakni *Gliomastix* sp. LM 1020 merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya yang diisolasi dari Wonorejo, Pantai Timur Surabaya. Isolat *Gliomastix* sp. disubkultur pada medium PDA-C miring (*slant agar*) dalam tabung reaksi secara duplo. Satu kultur untuk kultur kerja dan satu kultur lainnya untuk kultur stok. Kultur kerja *Gliomastix* sp. diinkubasi pada suhu kamar selama 7 hari dalam kondisi aerob. Kultur stok disimpan pada lemari pendingin pada suhu 4°C selama 30 hari. Isolat *Gliomastix* sp. dikultur secara berkala tiap bulan untuk uji-uji selanjutnya.

#### **3.2.2 Pre treatment Limbah Organik Lignoselulosa**

Substrat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanah gambut dan bonggol jagung. Substrat sebanyak 2 kg dikeringkan di bawah sinar matahari, kemudian dihaluskan. Substrat digiling menggunakan mesin penggiling. Kemudian dioven pada suhu 65°C selama 3 hari. Hasil *pre-treatment* bonggol jagung dan tanah gambut disimpan untuk dilakukan treatment selanjutnya.

#### **3.2.3 Pembuatan Medium**

##### **a. Medium *Potato Dextrose Agar-Chloramphenicol* (PDA-C)**

*Potato Dextrose Agar* (PDA) digunakan untuk menumbuhkan isolat kapang. Sedangkan medium PDA-C adalah medium yang mengandung PDA dengan *chloramphenicol*.

Medium PDA dibuat dengan cara: 39 gram media PDA dan 100 mg *chloramphenicol* dihomogenkan hingga larut dalam 1 liter akuades dan dipanaskan hingga mendidih dengan *hot stirrer*. Medium disterilkan pada suhu 121°C dengan tekanan 1,5 atm selama 15 menit (Schegel, 1993).

#### **b. Medium Basal- *Chloramphenicol***

Medium pertumbuhan digunakan untuk meningkatkan produksi enzim. Komposisi medium dalam 1 liter akuades terdiri dari 1 gram  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 1,5 gram  $KH_2PO_4$ ; 0,2 gram  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ ; 0,02 gram  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 0,2 gram  $MnSO_4$ ; 2 gram yeast ekstrak dan 0,5 gram *Chloramphenicol*. (Komposisi media dasar dimodifikasi dari Fauzan, 2009; Thorn, 1996; dan Pointing, 1999).

#### **3.2.4 Pembuatan starter**

*Gliomastix* sp. LM 1020 usia 5 hari pada agar miring disuspensikan dengan menambahkan 10 ml akuades. Suspensi spora konsentrasi  $10^6$  (dihitung dengan *Haemocytometer*) sebanyak 10% (w/v) di inokulasikan ke dalam 12,5 ml medium basal dan 2,5 gram substrat bonggol jagung. Starter diinkubasi pada suhu ruang selama 5 hari. (Metode dimodifikasi dari Yang *et al.*, 2005)

#### **3.2.5 Optimasi**

Optimasi dilakukan dengan menggunakan fermentasi padat. Substrat bonggol jagung yang telah melalui tahapan *pretreatment* diambil sebanyak 5 gram dan dimasukkan ke dalam botol. Kemudian starter *Gliomastix* sp. LM 1020 sebanyak 10% w/v di inokulasikan ke dalam 25 ml medium basal dengan pH 6,0 dan 5 gram substrat bonggol jagung, kemudian di homogenkan/diaduk dan di inkubasi pada suhu ruang selama 6 hari, (Metode dimodifikasi dari Aurora, 2002).

#### **3.2.6 Produksi Enzim Ligninolitik**

Tahap pembuatan kultur produksi dilakukan dengan disiapkan 50 gram substrat bonggol jagung dimasukkan ke dalam botol dengan daya tampung 500 ml. Kemudian ditambahkan 250 ml medium basal dengan pH 6,0 (kondisi optimum pertumbuhan *Gliomastix* sp.) dengan ditambahkan NaOH 1 M dan HCl 1M.

Medium disterilkan dengan autoklaf pada temperatur 121°C tekanan 1,5 atm selama 15 menit. Medium didinginkan hingga mencapai suhu ruang, kemudian starter sebanyak 10% (w/v) di inokulasikan ke dalam medium dan di inkubasi selama 13 hari, dan dilakukan uji aktivitas enzim MnP, LiP dan *laccase* (Metode dimodifikasi dari Aurora, 2002 dan Syafrizal, 2007).

### **3.2.7 Formulasi Media Pembawa Tanah Gambut dan Bonggol Jagung**

Media pembawa (tanah gambut dan bonggol jagung) dikeringkan, digiling dan disaring menggunakan saringan dengan ukuran 50-100 mesh. Selanjutnya untuk masing-masing media pembawa disiapkan wadah dan di isi masing-masing media pembawa (tanah gambut dan bonggol jagung) sebanyak 20 gram. Selanjutnya pada masing-masing wadah di tambahkan kultur produksi pada masing-masing media pembawa dengan perbandingan 1:10. Formulasi tanah gambut dan bonggol jagung di simpan selama 2 bulan untuk kemudian dilakukan uji viabilitas dan aktivitas enzim ligninolitik *Gliomastix* sp. pada minggu ke 0, 2, 4, 6, dan 8 (Metode dimodifikasi dari Munawar, 2011).

### **3.2.8 Uji Viabilitas *Gliomastix* sp. LM 1020 pada media pembawa**

Uji viabilitas *Gliomastix* sp. LM 1020 pada media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung dilakukan dengan cara isolat kapang dalam media pembawa ditumbuhkan pada medium PDA-C. Pengamatan dilakukan pada minggu ke 0, 2, 4, 6, dan 8 pada masa inkubasi selama 2 bulan (modifikasi: Mariano *et.al.*, 2007).

### **3.2.9 Ekstraksi Enzim Kasar**

Biakan kapang yang telah tumbuh pada masing-masing media (tanah gambut dan bonggol jagung) diambil sebanyak 3 gram dan ditambahkan 12 ml buffer fosfat pH 7, kemudian dihomogenkan dengan vortex. Setelah homogen, dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf dan disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Supernatan hasil sentrifus dipisahkan dari endapannya dan dimasukkan ke tabung Eppendorf yang lain.

Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak enzim kasar yang kemudian akan dianalisis aktivitas enzimnya (Metode dimodifikasi dari Syafrizal, 2007).

### 3.2.10 Analisa Enzim

#### 3.2.10.1 Uji Aktivitas Lignin peroksidase (LiP)

Aktivitas LiP dianalisis berdasarkan reaksi oksidasi veratril alkohol menjadi veratril aldehyd (Castillo *et al.*, 1997). Sebanyak 0,2 ml filtrat enzim; 0,05 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5 mM; 0,1 ml veratril alcohol 8 mM; 0,2 ml buffer asetat 0,05 M pH 3 dan 0,45 ml akuades dimasukkan ke dalam kuvet kemudian dikocok. Larutan tersebut dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 310 nm pada interval waktu 0 dan 30 menit. Aktivitas enzim diukur menggunakan persamaan:

$$\text{Aktivitas enzim} \left( \frac{U}{ml} \right) = \frac{(\Delta t) \times V_{tot}(ml) \times 10^9}{\epsilon_{maks} \times d \times Vol \text{ enzim} (ml) \times t}$$

Keterangan:

- $\Delta t$  : Selisih absorbansi pada menit ke-0 dan menit ke-30
- $V_{tot}$  : Volume total bahan (ml)
- $V_{enzim}$  : Volume filtrat enzim
- $\epsilon_{maks}$  : Absorptivitas molar veratril alkohol (9300 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>)
- $d$  : Tebal kuvet (1 cm)
- $t$  : Waktu (menit)

#### 3.2.10.2 Uji Aktivitas Mangan Peroksidase (MnP)

Aktivitas MnP diukur berdasarkan reaksi dengan guaikol pada panjang gelombang 465 nm. Sebanyak 0,25 ml buffer Phosphate-citrate pH 5,5; 0,25 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 50 mM; 0,25 ml MnSO<sub>4</sub> 1 mM; 0,5 guaikol 4 mM, 0,375 ml akuades dan 0,25 ml filtrat enzim. Larutan di vortex lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 465 nm dengan interval waktu 0 dan 30 menit. Pengukuran aktivitas MnP diperoleh dengan melakukan reaksi dengan komposisi pereaksi yang sama dengan campuran A hanya saja tanpa penambahan MnSO<sub>4</sub>, sehingga akuades yang

ditambahkan pada reaksi ini sebanyak 0,625 l (campuran B).  
Aktivitas enzim diukur berdasarkan persamaan:

$$\text{Aktivitas enzim} \left( \frac{U}{ml} \right) = \frac{(\Delta t) \times V_{tot}(ml) \times 10^9}{\epsilon_{maks} \times d \times Vol \text{ enzim} (ml) \times t}$$

Keterangan:

$\Delta t$  : Selisih absorbansi pada menit ke-0 dan menit ke-30

$V_{tot}$  : Volume total bahan (ml)

$V_{enzim}$  : Volume filtrat enzim

$\epsilon_{maks}$  : Absorptivitas molar guaiakol ( $12100 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )

$d$  : Tebal kuvet (1cm)

$t$  : Waktu (menit)

Aktivitas MnP/unit = Aktivitas enzim A- Aktivitas enzim B. Satu unit MnP sebanding dengan 1  $\mu\text{mol}$  produk yang dihasilkan per menit (Syafrizal, 2007).

### 3.2.9.3 Uji Aktivitas Laccase

Sebanyak 0,4 ml filtrat enzim dicampur dengan 0,5 ml buffer asetat 0,5 M pH 5 dan 0,1 ml ABTS 1 mM. Campuran dimasukkan ke dalam kuvet dan dikocok. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 420 nm dengan interval waktu 0 dan 30 menit. Aktivitas enzim diukur berdasarkan persamaan:

$$\text{Aktivitas enzim} \left( \frac{U}{ml} \right) = \frac{(\Delta t) \times V_{tot}(ml) \times 10^9}{\epsilon_{maks} \times d \times Vol \text{ enzim} (ml) \times t}$$

Keterangan:

$\Delta t$  : Selisih absorbansi pada menit ke-0 dan menit ke-30

$V_{tot}$  : Volume total bahan (ml)

$V_{enzim}$  : Volume filtrat enzim

$\epsilon_{maks}$  : Absorptivitas molar ABTS ( $36000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )

$d$  : Tebal kuvet (1 cm)

$t$  : Waktu (menit)



### 3.3 Rancangan Penelitian dan Analisa Data

Penelitian ini mengkaji dua faktor yakni jenis media pembawa (tanah gambut dan bonggol jagung) serta lama waktu simpan/ inkubasi ( $w_0$ ,  $w_2$ ,  $w_4$ ,  $w_6$ , dan  $w_8$ ). Penelitian ini dianalisis dengan metode analisis deskriptif kualitatif untuk mengetahui daya hidup dan daya kerja jamur *Gliomastix* sp. pada media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung selama 2 bulan pada masa simpan/ inkubasi.

w =week

$w_0$  = minggu ke-0

$w_2$  = minggu ke-2

$w_4$  = minggu ke-4

$w_6$  = minggu ke-6

$w_8$  = minggu ke-8

## BAB IV HASIL & PEMBAHASAN

### 4.1 *Pre-treatment* Tanah Gambut dan Bonggol Jagung

*Pre-treatment* pada tanah gambut dan limbah bonggol jagung dilakukan dengan tujuan untuk mempersiapkan bahan agar dapat disakarifikasi oleh enzim dan difermentasi oleh mikroorganisme yang bebas dari lignin dan hemiselulosa karena menurut Mosier *et al.* (2005), komponen selulosa tidak pernah ditemukan dalam keadaan murni akan tetapi selalu berasosiasi dengan lignin dan hemiselulosa. *Pre-treatment* akan menurunkan tingkat kekristalan selulosa sehingga meningkatkan fraksi *amorph* selulosa, serta meningkatkan porositas (kemampuan area permukaan) selulosa sehingga meningkatkan konversi selulosa menjadi glukosa. Menurut Hunggate (1966), peningkatan kuantitas bagian yang dapat diolah oleh mikroorganisme dapat dilakukan melalui proses kimia, fisik dan biologi. Perlakuan fisik yang dilakukan dalam penelitian ini sesuai dengan penelitian Walter and Kohler (1978), berupa pemotongan, penggilingan dan penghancuran. Hasil *pre-treatment* tanah gambut dan bonggol jagung ditunjukkan pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Tanah gambut dan bonggol jagung setelah dijemur dan digiling

Tanah gambut dan bonggol jagung dikeringkan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari selama  $\pm 7$  hari untuk mempermudah proses penggilingan. Kemudian tanah gambut dan

bonggol jagung dihilangkan kadar airnya dengan cara di oven pada suhu  $65^{\circ}\text{C}$  selama 3 hari. Pengovenan juga berfungsi sebagai proses sterilisasi, sterilisasi bertujuan untuk menjaga agar jumlah inokulan kapang yang tumbuh pada media pembawa dapat bertahan dalam jangka waktu yang lama dan tidak terkontaminasi mikroba lain. *Pre-treatment* tanah gambut membutuhkan waktu lebih lama dibanding proses *pre-treatment* bonggol jagung terutama pada proses pengeringan, hal tersebut dikarenakan kondisi tanah gambut yang didapatkan sangat basah, seperti yang telah diketahui bahwa kadar air tanah gambut berkisar antara 100 – 1.300% dari berat keringnya atau 13 kali bobotnya (Sajarwan, 2007).

#### 4.2 Optimasi

Tahap optimasi dilakukan dengan metode fermentasi padat (*Solid State Fermentation*). Keuntungan dari metode fermentasi padat adalah dapat menggunakan limbah padat hasil pertanian secara langsung sebagai mediumnya, menghasilkan kepekatan produk, serta produktivitas yang lebih tinggi (Candra, 2011). Komposisi pada tahap optimasi starter terdiri dari 10% w/v starter *Gliomastix* sp. yang diinokulasikan ke dalam 5 gram substrat bonggol jagung yang telah melalui tahap *pre-treatment* ditambah dengan 25 ml medium basal-*Chloramphenicol* dengan pH 6,0 dan diinkubasi pada suhu ruang selama 6 hari. Hasil optimasi ditunjukkan pada gambar 4.2.



Gambar 4.2. Optimasi *Gliomastix* sp. hari ke-6

Pertumbuhan kultur *Gliomastix* sp. pada medium produksi diamati secara visual, pada hari ke-6 masa inkubasi tampak miselium telah tumbuh memenuhi botol kultur. Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan pertumbuhan kapang salah satunya adalah pH. Pengaruh pH terhadap enzim bervariasi tergantung pada jenisnya. *Gliomastix* sp. bekerja optimum pada pH 6,0. Selain itu menurut penelitian Kuswyasari dkk. (2013), hari ke-6 merupakan waktu pertumbuhan dengan laju pertumbuhan maksimum sehingga ditetapkan sebagai usia starter untuk produksi enzim ligninolitik.

#### **4.3 Produksi Enzim Ligninolitik**

Tahap produksi enzim ligninolitik juga dilakukan dengan metode fermentasi padat. Fermentasi padat digunakan untuk produksi enzim karena penanganannya mudah dan dapat digunakan untuk masa inkubasi yang lebih lama (Candra, 2011). Produksi enzim terdiri dari 10% w/v starter hasil optimasi usia 6 hari, 50 gram substrat bonggol jagung dan 250 ml medium basal-*Chloramphenicol*. Inkubasi pada tahap produksi enzim dilakukan selama 13 hari, substrat yang digunakan pada tahap produksi enzim ligninolitik adalah limbah bonggol jagung. Tingginya kandungan lignoselulosa pada tongkol jagung ini menyebabkan adanya potensi tongkol jagung bertindak sebagai media pertumbuhan bagi jamur (Lorentz & Kulp, 1991). Menurut Kuswyasari dkk. (2013), bonggol jagung merupakan medium yang paling baik untuk menghasilkan aktifitas ligninolitik maksimum terutama LiP pada *Gliomastix* sp. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Zhang (2009), yang mengatakan bahwa *Irpex lacteus* CD2 memproduksi LiP untuk proses delignifikasi bonggol jagung. Kultur produksi ditunjukkan pada gambar 4.3.



Gambar 4.3. Kultur produksi usia 13 hari

Berdasarkan gambar 4.3 terlihat pertumbuhan miselium *Gliomastix* sp. memenuhi medium bonggol jagung. Substrat yang digunakan dalam proses fermentasi berpengaruh terhadap aktivitas dan produktivitas enzim. Adanya substrat tertentu di dalam medium produksi dapat memacu mikroorganisme untuk mensekresi metabolit selnya. Zat makanan utama bagi pertumbuhan mikroorganisme adalah sumber karbon, nitrogen, dan komponen mineral terutama fosfat. Formulasi media dalam pertumbuhan dan produksi hasil fermentasi merupakan suatu tahap penting dalam merancang percobaan dalam skala kerja (Stanbury dan Whitaker, 1984). Pada tahap produksi enzim dilakukan uji aktivitas enzim ligninolitik pada kultur produksi, aktivitas enzim Lignin Peroksidase yang dihasilkan sebesar 931,89 U/ml, Mangan Peroksidase sebesar 343,75 U/ml, dan laccase sebesar 123,96 U/ml.

#### **4.4 Formulasi Media Pembawa Tanah Gambut dan Bonggol Jagung**

Formulasi media pembawa terdiri dari kultur produksi dan masing-masing media pembawa (tanah gambut dan bonggol jagung) dengan perbandingan 1:10. Bahan pembawa dapat melindungi dan mempertahankan keberadaan cendawan pada saat diaplikasikan di lapangan (Prayogo, 2006). Formulasi media

sebagai pembawa *Gliomastix* sp. dibutuhkan untuk meningkatkan efikasinya dalam mengendalikan proses degradasi (Feng *et al*, 1994). Kultur produksi *Gliomastix* sp. pada media pembawa bonggol jagung dan tanah gambut ditunjukkan pada gambar 4.4.



Gambar 4.4 kultur produksi *Gliomastix* sp. pada media pembawa bonggol jagung dan tanah gambut

Tanah gambut yang digunakan sebagai media pembawa diperoleh dari hutan gambut di Palangkaraya, Kalimantan Tengah. Karakteristik tanah gambut di daerah tersebut yakni mempunyai nilai kejenuhan basa < 10% dan nilai kapasitas tukar kation yang tinggi. Lahan gambut di Kalimantan tengah tergolong sebagai gambut ombrogen dengan komposisi vegetasi penyusun gambut didominasi dari bahan kayu-kayuan yang banyak mengandung senyawa lignin. Menurut Andriesse (1974) dan Driessen (1978), kapasitas tukar kation tanah gambut ombrogen di Indonesia sebagian besar ditentukan oleh fraksi lignin dan senyawa humat. Kandungan lignoselulosa dan senyawa-senyawa lain pada tanah gambut ditunjukkan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 kandungan lignoselulosa dan senyawa lain pada tanah gambut

Komposisi	Bobot (%)
Lignin	64-74
Senyawa humik	10-20
Selulosa	0,2-10
Hemiselulosa	1-2
Lain-lain	<5

Sumber: Driessen, 1978

Analisa Al, Fe, dan C organik yang terkandung dalam tanah gambut pada penelitian ini dilakukan di Balai Penelitian dan Konsultasi Industri Laboratorium Penelitian dan Konsultasi Industri Surabaya. Hasil analisa tanah gambut ditunjukkan pada tabel 4.2

Tabel 4.2 analisa kandungan tanah gambut

<b>Komponen</b>	<b>Kandungan (%)</b>
Al	0,28
Fe	4,86
C organik	17,82

Sumber: Balai Penelitian dan Konsultasi Industri Laboratorium Penelitian dan Konsultasi Industri Surabaya

Hasil analisis tanah gambut menunjukkan bahwa kandungan Al pada tanah gambut yang akan digunakan sebagai medium pembawa tergolong rendah yakni sebesar 0,28% selain itu tanah gambut tidak memiliki potensi Al yang beracun. Adanya unsur kation polivalen seperti Al dan Fe dapat mengurangi pengaruh buruk asam-asam organik yang beracun dalam tanah. Dari hasil tersebut kandungan C-organik tanah tergolong tinggi (Tabel 4.2).

Menurut Hakiki (2013), bonggol jagung yang digunakan sebagai media memiliki pengaruh terhadap kualitas fisik jamur yang lebih baik. Bonggol jagung merupakan salah satu limbah lignoselulosik yang banyak tersedia di Indonesia. Limbah lignoselulosik adalah limbah pertanian yang mengandung selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Masing-masing merupakan senyawa-senyawa yang potensial dapat dikonversi menjadi senyawa lain secara biologi. Selulose merupakan sumber karbon yang dapat digunakan mikroorganisme sebagai substrat dalam proses fermentasi untuk menghasilkan produk yang mempunyai nilai ekonomi tinggi (Suprpto dan Rasyid, 2002 dalam Shofiyanto, 2008). Komposisi bonggol jagung ditunjukkan pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 komposisi bonggol jagung

<b>Kandungan</b>	<b>Persentase</b>
Selulosa	41
Hemiselulosa	36
lignin	16
Air dan lain-lain	7

Sumber : Huda, 2007 dalam Shofiyanto, 2008

#### 4.5 Uji Viabilitas

Uji viabilitas dilakukan untuk mengetahui daya hidup jamur ligninolitik *Gliomastix* sp. pada masing-masing media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung. Uji viabilitas dilakukan dengan cara menumbuhkan kultur pada medium PDA-C. Pengujian dilakukan pada minggu ke 0, 2, 4, 6, dan 8 selama 2 bulan masa inkubasi pada tiap media pembawa. Hasil uji viabilitas jamur ligninolitik *Gliomastix* sp. ditunjukkan pada tabel 4.4

Tabel 4.4 uji viabilitas *Gliomastix* sp. pada media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung

<b>Inkubasi (minggu ke-)</b>	<b>Sampel</b>	<b>Media pembawa</b>	
		<b>Tanah gambut</b>	<b>Bonggol jagung</b>
0	A	-	-
	B	-	-
	C	+	+
2	A	+	+
	B	+	+
	C	+	+
4	A	+	+
	B	+	+
	C	+	+
6	A	+	+
	B	+	+
	C	+	+
8	A	+	+



	B	+	+
	C	+	+

Keterangan :

A, B, dan C = sampel (pengulangan)

(+) Tumbuh (-) Tidak tumbuh

Hasil uji viabilitas *Gliomastix* sp. pada media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung menunjukkan bahwa masih terjadi pertumbuhan *Gliomastix* sp. pada kedua jenis media pembawa hingga minggu ke-8 atau akhir masa inkubasi yang ditentukan. Hal ini selaras dengan masih adanya aktifitas enzimatis yang ditunjukkan dengan nilai aktifitas anzim. Pertumbuhan *Gliomastix* sp. pada medium PDA-C tampak di hari ke 3 inkubasi. Pada minggu ke-0 terlihat bahwa tidak terjadi pertumbuhan *Gliomastix* sp. pada sampel A dan B untuk media tanah gambut maupun bonggol jagung. Hal tersebut dapat terjadi karena proses pengadukan yang tidak merata pada saat inokulasi kultur produksi ke dalam media pembawa. Pada minggu ke-0 belum terjadi pertumbuhan miselium kapang pada media pembawa sehingga kemungkinan yang ditumbuhkan pada medium PDA-C hanya media pembawa tanpa kultur.

Karbon berperan penting dalam viabilitas mikroorganisme karena merupakan tulang punggung (*backbone*) berbagai molekul organik yang mana ikut serta dalam anabolisme struktur dan komponen sel. Pertumbuhan isolat kapang pada media pembawa dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu nutrisi, suhu, pH dan adanya senyawa toksik yang mungkin terkandung dalam media pembawa. Ketersediaan nutrisi merupakan faktor penting yang dapat mempengaruhi viabilitas kapang pada media pembawa. Pada saat nutrisi dari medium basal telah habis di akhir-akhir masa penyimpanan, di mana mendekati fase stasioner kapang akan memanfaatkan media pembawa sebagai sumber nutrient. Media pembawa berupa tanah gambut merupakan serasah organik yang terdekomposisi secara anaerobik dimana laju penambahan bahan

organik lebih tinggi daripada laju dekomposisinya (Ambak & Melling, 2000).

#### **4.6 Aktivitas Enzim Ligninolitik *Gliomastix* sp. pada Media Pembawa Tanah Gambut dan Bonggol Jagung**

Berdasarkan penelitian sebelumnya, diketahui bahwa *Gliomastix* sp. menghasilkan ketiga macam enzim ligninolitik yakni LiP, MnP dan laccase, sehingga *Gliomastix* sp. sangat efektif digunakan untuk agen biologis pendegradasi lignin. Uji aktivitas enzim ligninolitik dilakukan untuk mengetahui daya kerja jamur ligninolitik *Gliomastix* sp. pada media pembawa dengan masa simpan selama 2 bulan, uji aktivitas dilakukan pada minggu ke 0, 2, 4, 6, dan 8. Aktivitas enzim yang diuji meliputi, aktivitas lignin peroksidase (LiP), mangan peroksidase (MnP), serta *laccase*. Tahap awal uji aktivitas enzim adalah ekstraksi enzim kasar dari media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung untuk mendapatkan *crude* enzim.

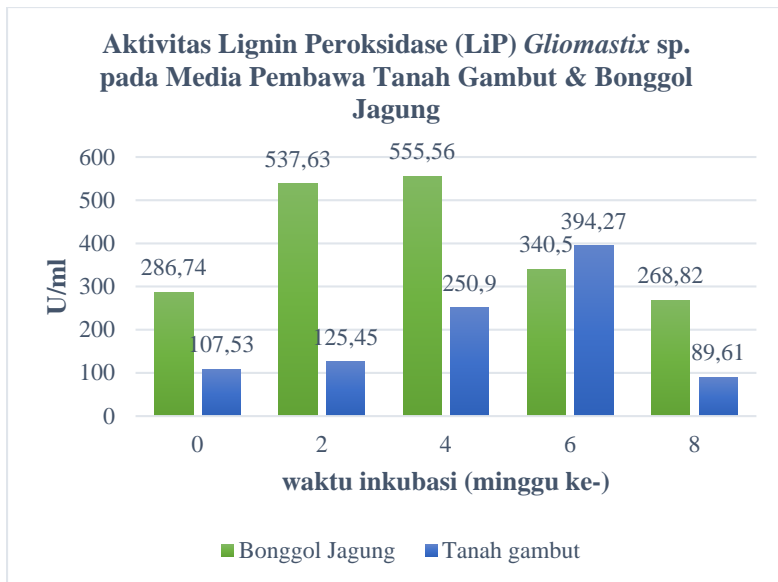
Ekstraksi dilakukan dengan buffer fosfat pH 7 untuk mempertahankan pH protein yang memerlukan kisaran pH tertentu agar dapat mempertahankan struktur protein. Jika tidak, struktur protein akan terdenaturasi. Ekstraksi enzim kasar dilakukan dengan menggunakan sentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Setelah proses sentrifugasi akan didapatkan supernatan yang akan digunakan untuk analisa aktifitas enzim ligninolitik.



Gambar 4.5 supernatan (atas), natan (bawah)

#### 4.6.1 Aktivitas Lignin Peroksidase (LiP)

Lignin peroksidase (LiP) adalah enzim peroksidase ekstraseluler yang aktivitasnya bergantung pada  $H_2O_2$ . LiP mengoksidasi senyawa aromatik (phenolik dan non fenolik) dengan memindahkan 1 elektron, menghasilkan *phenoxy radical* dan kation radikal. Pengukuran aktifitas enzim LiP menggunakan 0,05 ml  $H_2O_2$  5 mM; 0,1 ml *veratril alcohol* 8 mM; 0,2 ml buffer asetat 0,05 M pH 3 dan 0,45 ml akuades.  $H_2O_2$  berfungsi sebagai reduktor yang akan mengoksidasi enzim pada keadaan awal (*restyng enzyme*) dengan dua elektron membentuk senyawa intermediet I. *Veratril alcohol* berfungsi sebagai mediator dalam reaksi redoks untuk menstimulasi oksidasi LiP pada substrat limbah organik lignoselulosa. Buffer asetat berfungsi sebagai larutan penyangga untuk mempertahankan pH pada saat terjadinya reaksi enzimatik, dan pH 3 merupakan pH optimum untuk menghasilkan aktifitas LiP yang maksimum. Pengukuran dilakukan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 310 nm karena jumlah *veratryl aldehyd* yang terbentuk dapat dibaca pada panjang gelombang tersebut. Aktifitas enzim LiP *Gliomastix* sp. pada media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung ditunjukkan pada gambar 4.6.



Gambar 4.6 grafik aktifitas LiP *Gliomastix* sp. pada media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung

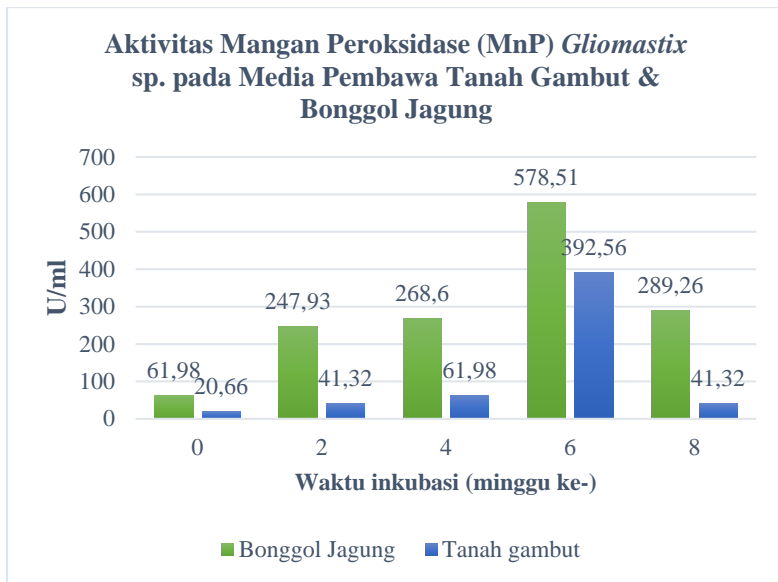
Berdasarkan grafik aktifitas enzim LiP *Gliomastix* sp. pada media pembawa, aktifitas LiP tertinggi adalah aktifitas *Gliomastix* sp. yang dikemas pada media pembawa bonggol jagung yakni sebesar 555,56 U/ml. Aktifitas tertinggi terjadi pada minggu ke-4 masa inkubasi. Sedangkan pada media pembawa tanah gambut aktifitas LiP tertinggi terjadi pada minggu ke-6 inkubasi yakni sebesar 430,11 U/ml.

Nilai aktifitas enzim LiP yang dihasilkan *Gliomastix* sp. pada media pembawa bonggol jagung lebih tinggi dibandingkan aktifitas *Gliomastix* sp. pada media pembawa tanah gambut. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Kuswytasari dkk. (2013) yang mengatakan bahwa bonggol jagung merupakan medium yang paling baik untuk menghasilkan aktifitas LiP maksimum pada *Gliomastix* sp. Namun nilai aktifitas enzim LiP *Gliomastix* sp. pada

media pembawa tanah gambut juga tergolong tinggi, gambut di Indonesia (dan di daerah tropis lainnya) mempunyai kandungan lignin yang lebih tinggi dibandingkan dengan gambut yang berada di daerah beriklim sedang karena terbentuk dari pepohonan, sehingga jumlah lignin yang didegradasi oleh enzim LiP lebih besar (Driessen dan Suhardjo, 1976).

#### **4.6.2 Aktivitas Mangan Peroksidase (MnP)**

Mangan peroksidase juga merupakan enzim yang mengandung gugus heme peroksidase dan menggunakan  $H_2O_2$  untuk mengkatalisis oksidasi dari  $Mn^{2+}$  ke  $Mn^{3+}$ , proses ini selanjutnya mengoksidasi kembali substrat fenol. Aktifitas MnP dirangsang oleh asam organik yang berfungsi sebagai pengkelat atau penstabil  $Mn^{3+}$ . Pengukuran aktivitas enzim MnP menggunakan 0,25 ml buffer Phosphat-citrat pH 5,5; 0,25 ml  $H_2O_2$  50 mM; 0,25 ml  $MnSO_4$  1 mM; 0,5 guaiakol 4 mM, dan 0,375 ml akuades (campuran A), dan campuran B dengan komposisi yang sama tanpa penambahan  $MnSO_4$ . Buffer Phosphat-citrat pH 5,5 berperan untuk mempertahankan pH saat terjadi reaksi,  $MnSO_4$  merupakan sumber  $Mn^{2+}$  yang berfungsi sebagai kofaktor enzim MnP (Urek, 2007). Sedangkan guaiacol berfungsi sebagai mediator enzim MnP dan akuades berfungsi sebagai pelarut yang bebas ion ion yang dapat mengganggu selama proses enzimatik. Pengukuran absorbansi dilakukan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 465 nm karena jumlah guaiacol yang hilang dapat dideteksi pada panjang gelombang tersebut. Satu unit aktivitas enzim setara dengan berkurangnya satu nmol guaiacol per menit. Aktifitas MnP *Gliomastix* sp. pada media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung ditunjukkan pada gambar 4.7.



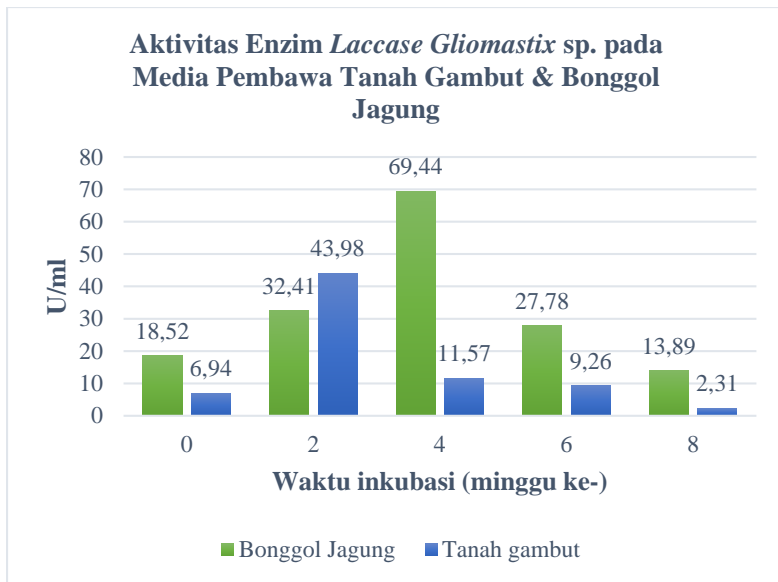
Gambar 4.7. grafik aktifitas MnP *Gliomastix* sp. pada media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung

Berdasarkan grafik aktifitas MnP *Gliomastix* sp. pada media pembawa, aktifitas MnP tertinggi adalah aktifitas *Gliomastix* sp. yang dikemas pada media pembawa bonggol jagung yakni sebesar 578,51 U/ml. Aktifitas tertinggi terjadi pada minggu ke-6 masa inkubasi. Sedangkan pada media pembawa tanah gambut aktifitas LiP tertinggi juga terjadi pada minggu ke-6 inkubasi yakni sebesar 392,26 U/ml.

MnP mengoksidasi  $Mn^{2+}$  menjadi  $Mn^{3+}$ , yang kemudian mengoksidasi struktur fenolik menjadi radikal fenoksil.  $Mn^{3+}$  yang terbentuk sangat reaktif dan membentuk kompleks dengan chelating asam organik seperti asam oksalat atau malat (Cui dan Dolphin 1990, Kishi *et al.* 1994), yang dihasilkan oleh kapang (Mäkelä *et al.* 2002). Dengan bantuan chelator, ion  $Mn^{3+}$  distabilkan dan dapat menembus kedalam jaringan substrat (Steffen, 2003).

#### 4.6.3 Aktivitas Enzim *Laccase*

*Laccase* merupakan enzim yang mengandung tembaga (*copper-containing glycoprotein*) yang dapat mengoksidasi bermacam-macam senyawa fenolik termasuk lignin melalui pembentukan radikal fenoksi melalui oksidasi satu-elektron (Widsten & Laine, 2002). Reaksi enzimatis pada lakase merupakan reaksi oksidasi yang menghasilkan satu elektron hasil oksidasi senyawa fenol dan mereduksi oksigen menjadi air. Pengukuran aktivitas enzim lakase menggunakan 0,5 ml buffer asetat 0,5 M pH 5 dan 0,1 ml ABTS 1 mM. Buffer asetat pH 5 berfungsi untuk mempertahankan pH protein dimana pH 5 adalah pH yang dibutuhkan untuk mendapatkan aktivitas *laccase* yang maksimum, sedangkan ABTS berfungsi sebagai mediator dalam reaksi oksidasi senyawa non fenolik yang tidak dioksidasi oleh *laccase* (Widiastuti, 2007). Pengukuran dilakukan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm. Aktifitas enzim *laccase Gliomastix* sp. pada media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung ditunjukkan pada gambar 4.8.



Gambar 4.8 grafik aktifitas enzim *laccase Gliomastix* sp. pada media pembawa tanah gambut dan bonggol jagung

Berdasarkan grafik aktifitas enzim *laccase Gliomastix* sp. pada media pembawa, aktifitas enzim tertinggi adalah aktifitas *Gliomastix* sp. yang dikemas pada media pembawa bonggol jagung yakni sebesar 69,44 U/ml. Aktifitas tertinggi terjadi pada minggu ke-4 masa inkubasi. Sedangkan pada media pembawa tanah gambut aktifitas LiP tertinggi juga terjadi pada minggu ke-2 inkubasi yakni sebesar 32,41 U/ml.

MnP dan LiP memiliki nilai aktifitas yang lebih tinggi daripada enzim *laccase* baik pada media pembawa tanah gambut maupun bonggol jagung. Enzim LiP dan MnP memiliki aktivitas oksidatif yang tinggi dan spektrum yang luas terhadap substrat lignin (Higuchi, 2004). Walaupun mekanisme kerjanya sama seperti LiP namun MnP tidak memiliki kemampuan yang sama untuk mengoksidasi substansi dengan potensial redoks yang lebih



tinggi. Potensi redoks sistem MnP lebih rendah dari pada redoks LiP dan lebih banyak mengoksidasi substrat fenolik (Vares 1996).

Aktivitas ligninolitik *Gliomastix* sp. pada media pembawa bonggol jagung lebih tinggi dibanding tanah gambut. Hal tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor salah satunya adalah pH. Tanah gambut umumnya mempunyai tingkat keasaman yang relatif tinggi dengan kisaran pH 3-4. Gambut oligotropik di Kalimantan Tengah memiliki kisaran pH 3,25-3,75. Sedangkan pH optimum yang dibutuhkan *Gliomastix* sp. untuk dapat melakukan aktivitas enzimatik dan pertumbuhan secara optimal adalah 6,0. Sehingga aktivitas ligninolitik *Gliomastix* sp. pada media pembawa tanah gambut cenderung lebih rendah meskipun memiliki kandungan bahan lignoselulosa yang lebih tinggi dibanding bonggol jagung (Tabel 4.1). Tingkat kemasaman tanah gambut berhubungan erat dengan kandungan asam-asam organik, yaitu asam humat dan asam fulvat (Andriesse, 1974; Miller dan Donahue, 1990). Bahan organik yang telah mengalami dekomposisi mempunyai gugus reaktif karboksil dan fenol yang bersifat sebagai asam lemah. Diperkirakan 85-95% sumber kemasaman tanah gambut disebabkan karena kedua gugus karboksil dan fenol tersebut. Kemasaman tanah gambut cenderung menurun seiring dengan kedalaman gambut.

Media yang mengandung nutrisi akan dirombak menjadi molekul yang lebih kecil sehingga dapat dikonsumsi jamur untuk pertumbuhan yang optimal, pertumbuhan yang optimal mengindikasikan massa jamur yang maksimal karena jamur dapat tumbuh besar dengan baik. Namun semakin mendekati akhir masa simpan, berat jamur berkurang karena asupan nutrisi yang dirombak mulai habis sehingga hasil tiap pengamatan tidak konstan dan fluktuatif (Chang, 1989). Hal ini terlihat pada nilai aktifitas LiP yang tidak konstan dan mengalami penurunan pada minggu ke-6 dan 8 masa simpan baik pada media pembawa tanah gambut maupun bonggol jagung.

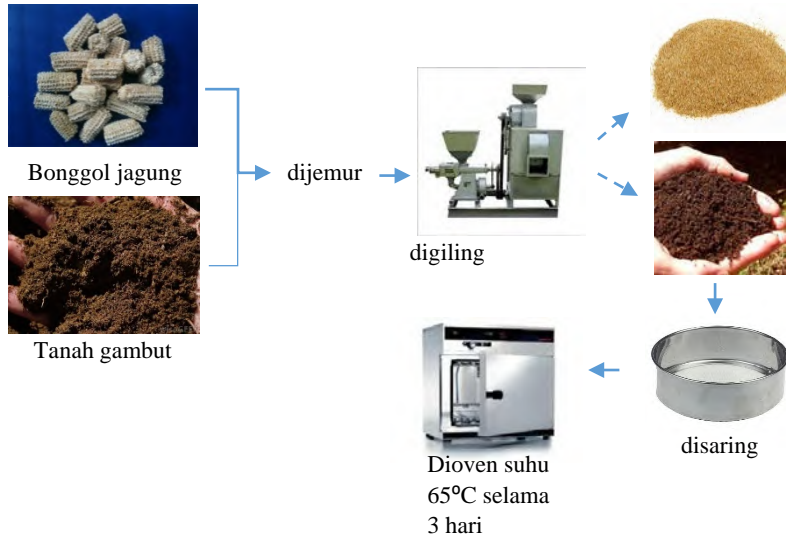
Pada grafik aktivitas LiP, MnP dan *laccase* terdapat perbedaan waktu terjadinya aktivitas enzim lignolitik tertinggi pada masing-masing media pembawa. Dimana pada bonggol jagung aktivitas LiP tertinggi terjadi di minggu ke-4, aktivitas MnP tertinggi terjadi di minggu ke-6, dan aktivitas *laccase* tertinggi di minggu ke-4. Sedangkan pada media pembawa tanah gambut aktivitas LiP dan MnP tertinggi terjadi di minggu ke-6 serta aktivitas *laccase* tertinggi di minggu ke-2. Hal ini dapat terjadi karena setiap fungi mempunyai pH dan suhu optimum, minimum dan maksimum yang berbeda untuk pertumbuhannya termasuk dalam proses sekresi enzim. Sedangkan semua perlakuan pada penelitian ini dilakukan pada pH dan suhu yang sama. Pertumbuhan pada suhu di bawah suhu optimum dapat menurunkan rata-rata metabolisme selnya (Hossain, 2008). Suhu yang diperlukan oleh *Gliomastix* sp. untuk menghasilkan aktifitas enzim LiP maksimum adalah 35°C dengan pH 6 yaitu pada limbah bonggol jagung, *Gliomastix* sp. dapat tumbuh optimal dan menghasilkan aktifitas enzim LiP pada range pH dan suhu yang luas, sehingga tidak terdeteksi secara signifikan pengaruhnya terhadap aktifitas enzim LiP (Kuswytasari, 2013). Sumber lain menyebutkan bahwa suhu optimal yang diperlukan oleh fungi dalam memproduksi enzim lignin peroxidase dan mangan peroxidase adalah 39°C (Singh, 2006).

Masa simpan terbaik untuk media pembawa bonggol jagung adalah 4 minggu (W4) setelah itu terjadi penurunan nilai aktivitas enzim, sedangkan masa simpan terbaik untuk media pembawa tanah gambut adalah 6 minggu (W6) selanjutnya akan terjadi penurunan nilai aktivitas enzim lignolitik. Penurunan nilai aktivitas tersebut terjadi karena asupan nutrisi yang dirombak semakin berkurang.

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**

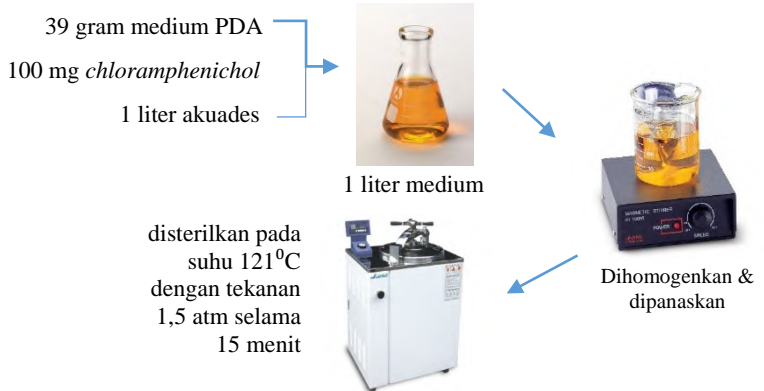
## LAMPIRAN

### Lampiran 1. *Pre-treatment* limbah bonggol jagung dan tanah gambut

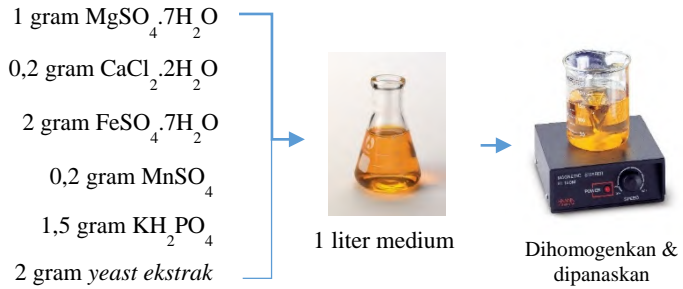


### Lampiran 2. Pembuatan Medium

#### a. Pembuatan Medium PDA- *Chloramphenicol*



b. Pembuatan Medium Basal-*Chlororamphenicol*



**Medium Basal**

disterilkan pada suhu  $121^\circ\text{C}$  dengan tekanan 1,5 atm selama 15 menit



Lampiran 3. Pembuatan Buffer

a. Pembuatan Buffer Fosfat pH 7.0

756,0 mls 0,1M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (14,2g/l) ----- ●  
 244 mls 0,1 HCL ----- ●



b. Pembuatan Buffer Asetat 0.05M pH 3.0 dan 0.5M pH 5.0

982,3 mls 0,1M  $\text{CH}_3\text{COOH}$  ----- ●  
 17,7 mls 0,1M Sodium acetate (13,6 g/l) ----- ●



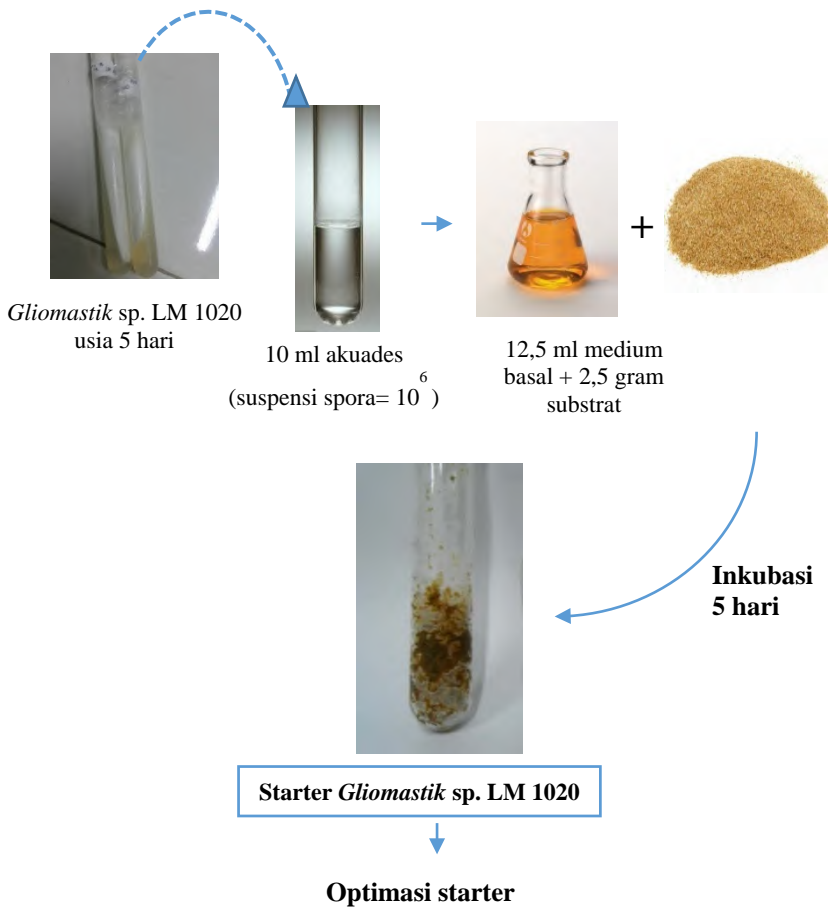
c. Pembuatan Buffer Phosphate-Citrate pH 5.5

28,0 mls 0,2M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ———— ●  
 21,3 mls 0,1M citric acid ———— ●

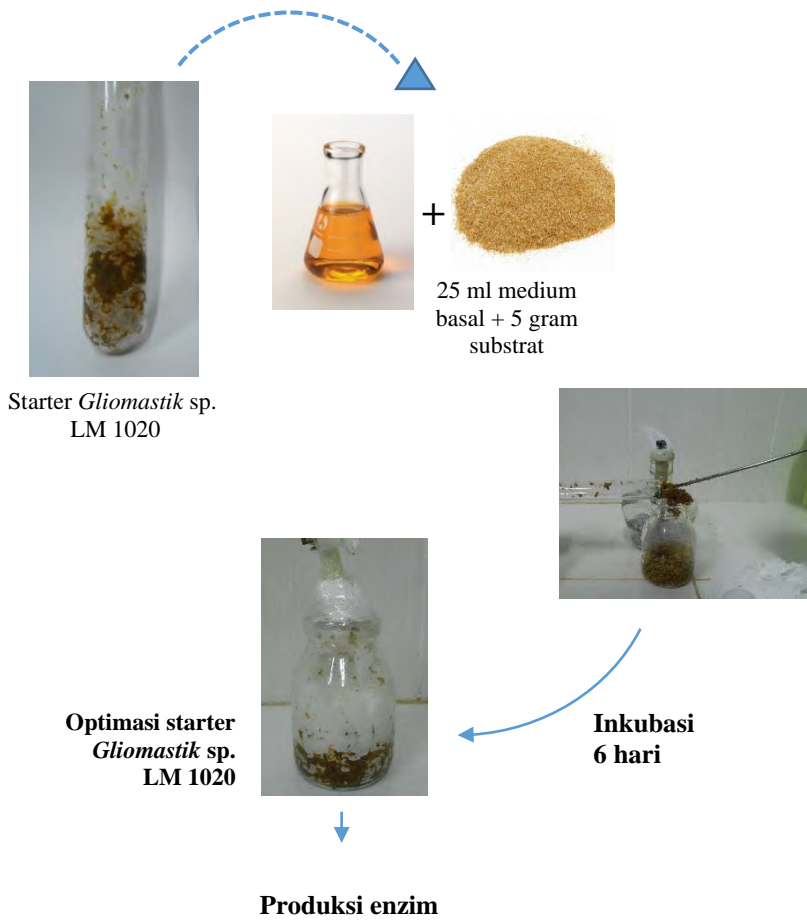


100 mls Buffer Phosphate-Citrate pH 5.5

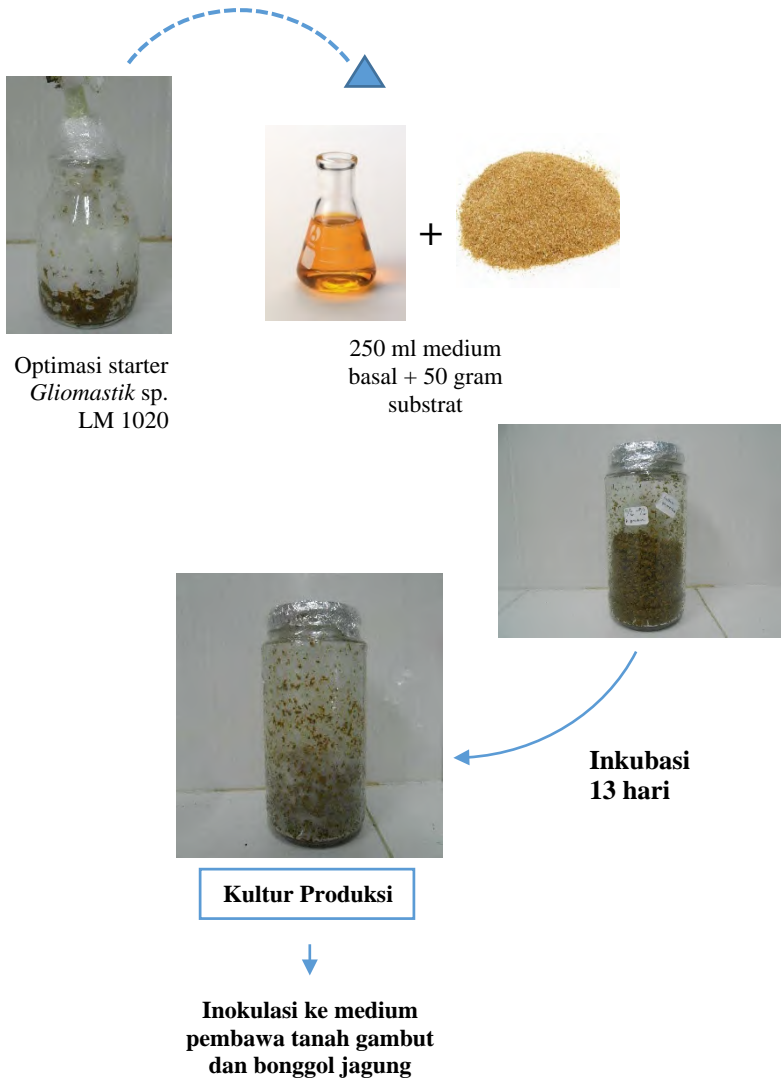
Lampiran 4. Pembuatan Starter



Lampiran 5. Tahap Optimasi

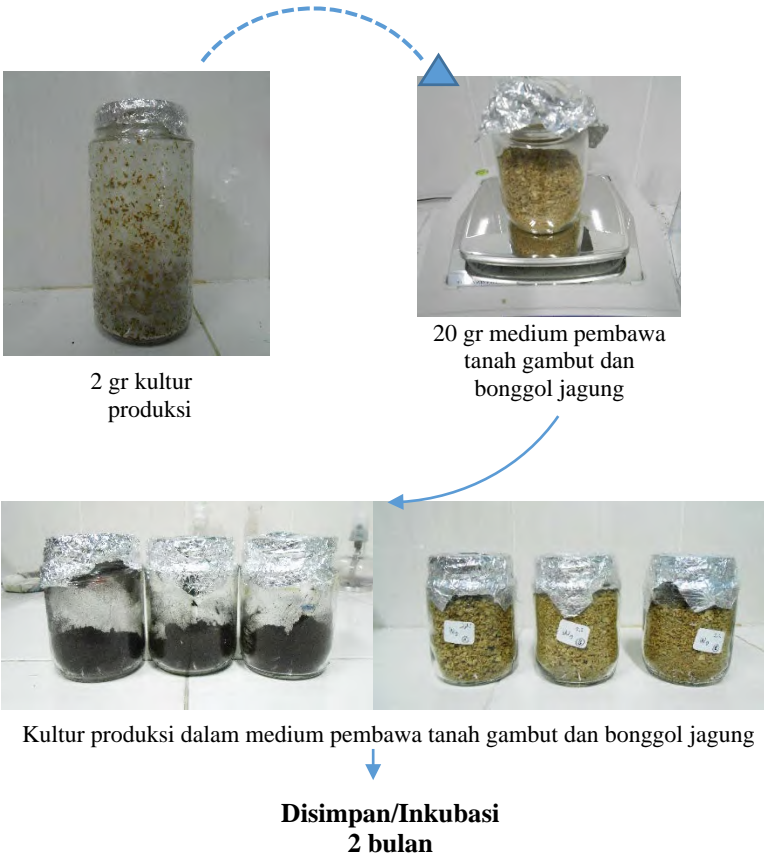


## Lampiran 6. Produksi Enzim Ligninolitik








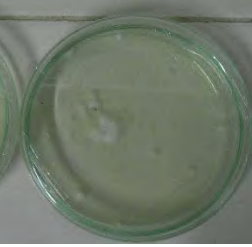





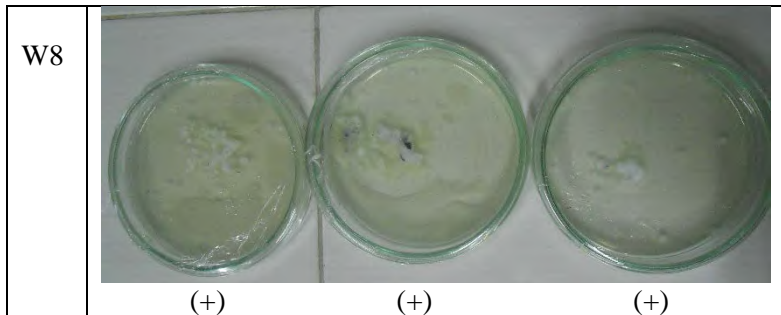
Lampiran 7. Inokulasi kultur produksi pada medium pembawa



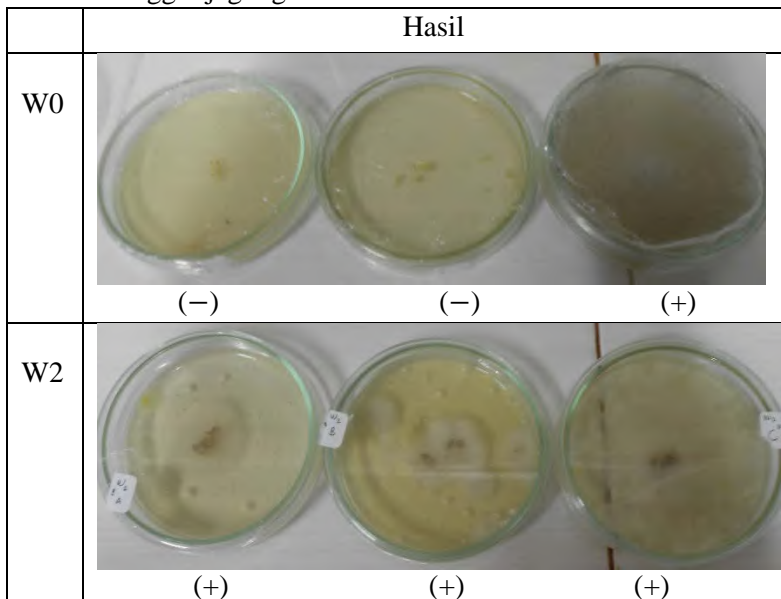
## Lampiran 8. Uji Viabilitas

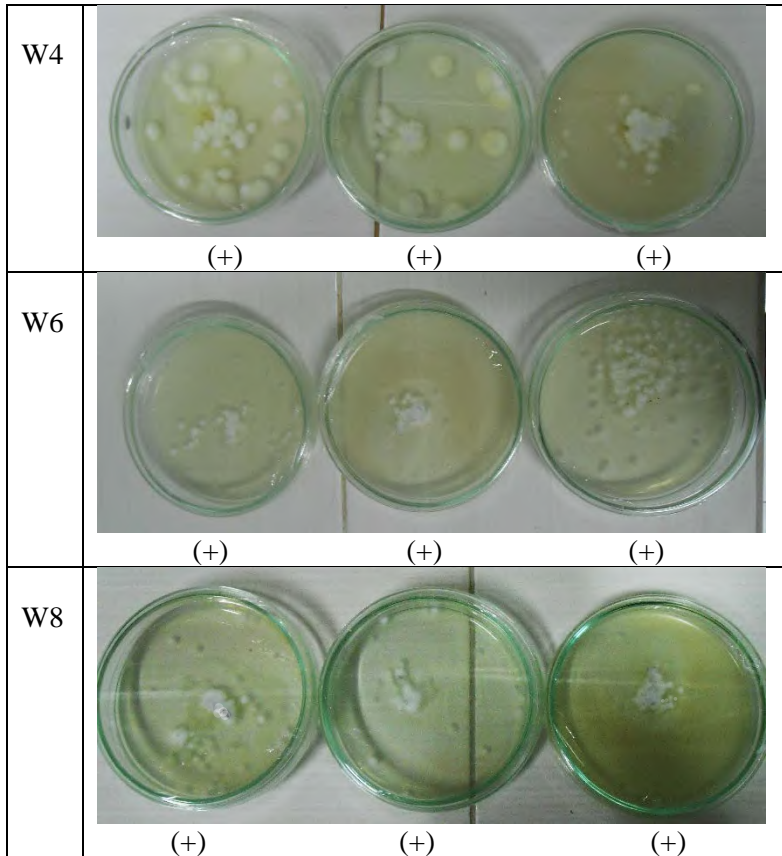
A. Uji viabilitas *Gliomastix* sp. pada media pembawa tanah gambut

	Hasil		
W0	(-)	(-)	(+)
W2			
	(+)	(+)	(+)
W4			
	(+)	(+)	(+)
W6			
	(+)	(+)	(+)



B. Uji Viabilitas *Gliomastix* sp. pada media pembawa bonggol jagung





### Lampiran 9. Ekstraksi enzim kasar

12 ml buffer fosfat pH 7

3 g kultur pada medium pembawa



vortex



Dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf



supernatan

**Uji aktivitas enzim ligninolitik**

natan



disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 KESIMPULAN**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil kesimpulan yaitu

1. Hasil uji viabilitas *Gliomastix* sp. menunjukkan bahwa *Gliomastix* sp. dapat dikemas dan disimpan pada medium pembawa tanah gambut dan bonggol jagung selama 2 bulan.
2. Aktivitas ligninolitik *Gliomastix* sp. LM 1020 tertinggi terdapat pada media pembawa bonggol jagung yakni enzim LiP sebesar 555,56 U/ml, MnP sebesar 578,51 U/ml, dan *laccase* sebesar 69,44 U/ml.
3. Masa simpan terbaik untuk media pembawa bonggol jagung adalah 4 minggu, sedangkan masa simpan terbaik untuk media pembawa tanah gambut adalah 6 minggu.

#### **5.2 SARAN**

Untuk penelitian selanjutnya disarankan untuk menganalisa jenis tanah gambut yang digunakan karena masing-masing jenis tanah gambut memiliki jumlah kandungan mineral dan senyawa kimia yang berbeda-beda yang akan berpengaruh pada proses *survival* agen biologis di dalam media pembawa.

**“Halaman ini sengaja dikosongkan**

## DAFTAR PUSTAKA

- Abadulla E, Tzanov T, Costa S, Robra KH, Cavoca-Paula A, Gubitz GM. 2000. **Decolorization and detoxification of textile dyes with a laccase from *Trametes hirsute***. Application Environ Microbiol 66: 3357-3362.
- Ahn MY, Dec J, Kim JE, Bollog JM. 2002. **Treatment of 2,4-dichloramphenol polluted soil with free and immobilized laccase**. Journal Environ Qual. 31: 1509-1515.
- Akhtar. M, R.A. **Blanchette** and **T.K. Kirk**, **Fungal Delignification and Biomechanical Pulping of wood**. *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*, Vol.57 (1997) 159-195.
- Ambak, K., dan Melling, L., 2000. **Management Practices for Sustainable Cultivation of Crop Plants on Tropical Peatlands**. Proc. Of The International Symposium on Tropical Peatlands 22-23 November 1999. Bogor-Indonesia, hal 119.
- Andriesse, J. P. 1974. **Tropical peats in South East Asia**. Dept. of Agric. Res of the Royal Trop.Inst. Comm. 63. Amsterdam. 63 p.
- Boraste A., Vamsi K.K., Jhadav A., K hairnar Y., Gupta N., Trivedi S., Patil P., Gupta G., Gupta M., Mujapara A.K., Joshi B. 2009. **Biofertilizers: A novel tool for agriculture**. *International Journal Microbiology Research*. 1(2): 23-31
- Bourbonnais R, Paice MG. 1992. **Demethylation and delignification of kraft pulp by *Trametes versicolor* laccase in presence of 2,2-azinobis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate)**. Application Microbiology Biotechnology. 36: 823-827.
- C. Xu, F. Ma, and X. Zhang, **Lignocellulose degradation and enzyme production by *Irpex lacteus* CD2 during solid-state**



**fermentation of corn stover.** *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 108 (2009) 372-375

Chang, S., & Miles. (1989). **Edible Mushrooms and Their Cultivation.** Boca Raton, Florida: CRC Press, Inc

Cui F. and D. Dolphin. 1990. **The Role of Manganese in Model Systems Related to Lignin Biodegradation.** *Holzforchung Journal.* 44:279-283

D. S. Arora, and P. K. Gill. 2002. **Production of ligninolytic enzymes by *Phlebia floridensis*.** *Journal of Basic Microbiology*, Vol. 44 (2004) 331–338.

Driessen PM. 1978. **Peat soils. Soils and Rice** . IRRI, Los Banos, Philippines. p 763-779

Driessen PM, Rochimah L, 1976. **The physical properties of lowland peats from Kalimantan. in *Proceedings of Peat and Podsollic Soils and Their Potential fo Agriculture in Indonesia.*** Soil Research Institute, Bogor. p. 56-73

Driessen PM, Soepraptohardjo, 1974. **Soils for agricultural expansion in Indonesia.** Soil Research Bull. No 1. Soil Research Institute, Bogor.

Feng, M.G., T.J. Poparwiski, and G.G. Khachatourions. 1994. **Production, Formulation, and Application of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* for insect Control:** Current status. *Bioc. Ann. Rev. Entomol.* 23:409-442

Fengel, D., dan Wegener, G., 1984, **Kayu : Kimia, Ultrastruktur, Reaksi-Reaksi,** Terjemahan oleh Hardjono Sastrohamidjojo, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

Gabriel, B.P. dan Riyatno. 1989. *Metarhizium anisopliae* (Metch.): Taksonomi, Patologi, Produksi dan Aplikasinya. Jakarta: Direktorat Perlindungan Tanaman Perkebunan, Departemen Pertanian.

Gold M.H. and M. Alic. 1993. **Molecular biology of the lignin-degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium***. Microbiol. Rev. **57**:605-622.

Gozan, M. 2007. **Sakarafikasi dan Fermentasi Bagas Menjadi Etanol Menggunakan Enzim Sellulase dan Enzim Sellobiase**. Jurnal Teknologi

Hakiki, Aqida, Adisetyo Purnomo, dan Suksesi. 2013. **Pengaruh Tongkol Jagung sebagai Media Pertumbuhan terhadap kualitas jamur tiram (*Pleurotus Ostreatus*)**. Jurnal Sains dan Seni POMITS vol.1, no.1.

Hardjowigeno, S. 1986. **Sumber Daya Fisik Wilayah dan Tata Guna Lahan: Histosol**. Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. Hal. 86-94.

Higuchi, T. 2004. **Microbial Degradation of Lignin: Role of Lignin Peroxidase, Manganese Peroxidase, and laccase**. Proc. Jpn. Acad. 80:204-211

Hofrichter M. 2002. Review: **Lignin conversion by manganese peroxidase (MnP)**. Enzyme Microbiol. Technol. **30**:454-466.

Holtzapple, M. T. 2003. **Hemicelluloses**. In *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (pp. 3060-3071). Academic Press.

Hungate, R.E. 1996. **The Rumen and Its Microbes**. Departemen of Bacteriology and Agriculture Experiment Univ. Of California Academic Press, New York.

Ibrahim, M., 1998, **Clean Fractionation of Biomass- Steam Explosion and Extraction**. Faculty of The Virginia Polytechnic Institute and State University.

Johnson, L.A. 1991. **Corn : The major cereal of the American. In : Kulp and Ponte, Jr. Handbook of Cereal Science and technology**. Marcel Dekker, Inc. New York, Bassel. Dowsell, C.R., R.L.Paliwal, and R.P.Cantrell, 1996. Maize in the thir world. Westview Press. Kersten et al., 1990

Kersten, P. J. 1990. **Glyoxal oxidase of *Phanerochaete chrysosporium*: its characterisation and activation by lignin peroxidase**. Proc. Natl. Acad. Sei. USA 87,2936-2940.

Koswara, J. 1991. **Budidaya Jagung**. Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

Kuswytasari ND, Ima Mufidatul Ilmi. 2013. **Aktifitas Enzim Lignin Peroksidase oleh *Gliomastix* sp. T3.7 pada Limbah Bonggol Jagung dengan Berbagai pH dan Suhu**. Jurnal Sains dan Seni Pomits Vol. 2, No.1, (2013) 2337-3520

Kuswytasari ND, Maya Shovitri, and Enny Zulaika. 2015. **Ligninolytic Enzymes Produced by *Gliomastix* sp. in an Organic Waste Medium**. IPTEK, *The Journal for Technology and Science*, Vol. 26, No. 1

Lehninger. A.L. 2003. **Principles of Biochemistry**. Diterjemahkan oleh M. Thenawidjaya, 1990. *Dasar-dasar Biokimia*. Penerbit Erlangga : Jakarta

Lorenz K. J and Kulp K. 1991. **Handbook of Cereal Science and Technology**. Marcel Dekker. NewYork

Mariano, A.P. A.P.A.G. Kataoka, D.F. Angelis, and D.M. Bonotto. 2007. **Laboratory Study on The Bioremediation of**

**Diesel Oil Contaminated Soil from a Petrol Station.** *Brazilian J. Microbiology.* 38: 346-353

Mayer A.M. and R.C. Staples. 2002. **Laccase: new functions for an old enzyme.** *Phytochem.* 60:551-565.

Mosier, N. Wyman, C. Dale, B., Elander, R, Lee, Y.Y., Holtzapple, M. 2005. **Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass.** *Bioresource Technology* 96 (6), pp. 673-686

Munawar, Elfita. 2011. **Ketahanan Hidup Konsorsium Bakteri Petrofilik pada Media Pembawa Tanah Gambut selama Masa Penyimpanan.** *Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian Tahun 2011, Palembang 1-2 Desember 2011 ISBN 978-602-95965-2-6*

Nurfadilah, A. Zulhadiati, dan SB. Chandra. 2011. **Fermentasi: Teknologi Sederhana pengelolaan bahan baku lokal dalam pembuatan pakan ikan.** IPB. Bogor. (Abstr)

Parish, F., A. Sirin, D. Charman, H. Joosten, T. Minayeva, M. Silvius, and L. Stringer (Eds.). 2007. **Assessment on Peatlands, Biodiversity and Climate Change: Main Report.** *Global Environment Centre, Kuala Lumpur and Wetlands International, Wageningen*

Pointing S.B. 1999. **Qualitative Methods for The Determination of Lignocellulotik Enzyme Production by Tropical Fungi.** *Juornal Fungal Diversity.* 2: 17-33

Prayogo, Y. 2006. **Upaya Memprtahankan Keefektifan Cendawan Entonopatogen untuk Mengendalikan Hama Tanaman.** *Jurnal Litbang Pertanian.* 25(2):47-54. Balai Penelitian Tanaman Kacang-Kacangan dan Umbi-Umbian, Malang.

Radjaguguk B. 1997. **Peat soil of Indonesia: location, classification, and problems for sustainability.** *Dalam: Biodiversity and sustainability of Tropical peatlands. Proc. of the Int. Symp. On Biodiversity, Environmental Inportance of Trop. Peat and Peatlands.*

Rao, S. 1994. **Mikroba Tanah dan Pertumbuhan Tanaman.** Universitas Indonesia Press, Jakarta.

Reeves JB, Schmidt WF. 1994. **Solid-state fermentation <sup>13</sup>NMR analysis of forage and product-derived fiber and lignin residues, resolution of some discrepancies among chemical, infrared, and phyrolysis gas chromatography mass spectroscopic analysis.** *Journal Agricultural Food Chem.* 42:1462-1468.

Sajarwan A. 2007. **Kajian Karakteristik Gambut Tropika Yang Dipengaruhi Oleh Jarak Dari Sungai, Ketebalan Gambut, Dan Tipe Hutan Di Daerah Aliran Sungai Sebangun.** *Disertasi.* Fakultas Pertanian, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta

Schlegel, H. .1994. **Mikrobiologi Umum.** Edisi Keenam, Alih bahasa. Gadjah Mada University Press: Yogyakarta. Hal 484-487

Singh, H. 2006. **Mycoremediation,** John Wiley & Sons, Inc. America 358-375.

Singh, H. 2008. **Mycorrhizal fungi in rhizosphere remediation,** In: Singh, H., (Ed.), *Mycoremediation –Fungal bioremediation,* John Wiley & Sons Inc., New Jersey (USA) , pp. 533–572.

S.M. Hossain, and N. Anantharaman. 2008. **Effect of wheat straw powder on enhancement of ligninolytic enzyme activity using *Phanerochate chrysosporium.*** *Indian Journal of Biotechnology.* Vol. 7 502-507

Soerawidjaja., T.H., Z.I.E.Amiruddin, A., 2007. **Mengantisipasi Pemanfaatan Bahan Lignoselulosa Untuk Pembuatan Bioetanol** : Peluang dan Tantangan. Seminar Nasional Diversifikasi Sumber Energi untuk Mendukung Kemajuan Industri Dan Sistem Kelistrikan Nasional, UNS – Surakarta.

Shofiyanto, M. Edy. 2008. **Hidrolisa Tongkol Jagung oleh Bakteri Selulolitik untuk Produksi Bioetanol dalam Kultur Campuran**. Fakultas Teknologi Pertanian IPB. Bogor

Stanbury PF, Whitaker A. 1984. **Principles of Fermentation Technology**. Oxford: Pagamon Pr.

Steffen, K.T. 2003. **Degradation of recalcitrant biopolymers and polycyclic aromatic hydrocarbons by litter-decomposing basidiomycetous fungi**. [disertasi]. Helsinki: Division of Microbiology Department of Applied Chemistry and Microbiology Viikki Biocenter, University of Helsinki

Stevenson, F. J. 1994. **Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions**. 2th ed. John Wiley & Sons, Inc. New York.

Sukumaran,R.K., et al. 2008. **Cellulase Production Using Biomassa Feed Stock and Its Application in Lignocellulosa Saccharification for Bioethanol Production**. Renewable Energy, Vol. 30, hal. 1-4.

Syafrizal, RI. 2007. **Aktivitas ligninolitik fungi pelapuk putih *Omphalina* sp. dan *Pleurotus* sp. pada limbah lignoselulosa**. [skripsi]. Bogor. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB

Tan, K.H.1995. **Dasar Dasar Kimia Tanah**. Terjemahan D.H Goenadi dan B.Radjaguguk. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Thurston, C.F. 1994. **The structure and function of fungal laccases**, *Microbiology*. 140 (1994) 19-26

Tien M, Kirk KT. 1984. **Lignin degrading enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*: purification, characterization, and catalytic properties of a unique H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-requiring oxygenase**. Proceeding Natl Academy Sci. 81: 2280-2284.

Vares. T, and Hatakka, A. 1997. **Lignin-Degrading Activity and Ligninolytic Enzyme of Different White- Rot Fungi; Effect of Manganese and Malonate**. Con J Bot 75

Walter, H.G. and G.O. Kohler. 1978. **Treated and Untreated Cellulosic Wastes and Animal Feeds**. Recent Work Interaksi The United States of America

H. Widiastuti, Siswanto, and Suharyanto. 2007. **Optimasi pertumbuhan aktifitas enzim ligninolitik *Omphalia* sp. dan *Pleurotus ostreatus* pada fermentasi padat**. *Menara Perkebunan*, Vol. 2 . p: 93-105.

Widsten, P., Laine, J.E. and Tuominen, S. 2002. **Radical formation on laccase treatment of wood defibrated at high temperatures**. Part 2. Studies with softwood fibers. *Cellulose Chemistry and Technology* 36(1-2).

Wyman CE. 1996. **Ethanol production from lignocellulosic biomass: Overview**. In: Wyman CE. (ed). *Handbook on bioethanol: Production and utilization*. Taylor & Francis, Washington, DC.

Yang JS, HL Yuan, HXWang and WX Chen. 2005. **Purification and Characterization of Lignin Peroxidases from *Penicillium decumbens* P6**. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*.

## BIODATA PENULIS



Penulis yang akrab disapa Inen lahir di Mojokerto pada tanggal 23 Agustus 1993. Lulus tahun 2012 dari R-SMA BI SMAN 1 Sooko Mojokerto penulis diterima di Jurusan Biologi Institut Teknologi Sepuluh Nopember melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) Tulis. Selama mejalani proses perkuliahan di Institut Teknologi Sepuluh Nopember penulis pernah bergabung dengan Unit Kegiatan Mahasiswa

Sinematografi (CLICK) sebagai anggota 12/13 dan menjadi Staff Departemen Produksi CLICK 13/14. Penulis juga aktif mengikuti beberapa kegiatan kepanitian diantaranya BOF VI (2012), GEMPA 2.0 (2012), BOF VII (2013), BOF VIII (2014), ITS EXPO 2014, dan event-event lain dari dalam maupun luar ITS. Pada tahun 2015, penulis melaksanakan Kerja Praktek selama satu bulan di Laboratorium Kesehatan Kota Mojokerto di bidang Mikrobiologi Lingkungan. Ketertarikan penulis pada mikrobiologi lingkungan mendorong penulis untuk melaksanakan penelitian Tugas Akhir dengan judul “Evaluasi Daya Hidup dan Daya Kerja Jamur Ligninolitik *Gliomastix* sp. pada Media Pembawa Tanah Gambut dan Bonggol Jagung”. Untuk keperluan penelitian, penulis dapat dihubungi melalui e-mail [inenbarahani12@gmail.com](mailto:inenbarahani12@gmail.com).