

Delignification of Sawdust White Teak (*Gmelina arborea* Roxb.) by Fungi *Phanerochaete chrysosporium* Irradiated Gamma Ray

Nurhasni¹, Tri Retno Dyah Larasati², Afinanisa Iksan¹

¹Program Studi Kimia FST UIN Syarif Hidayatullah Jakarta

²Pusat Teknologi Pengolahan Limbah Radioaktif BATAN

Email: nurhasni@uinjkt.ac.id

Received: April 2016; Revised: June 2016; Accepted: November 2016; Available Online: December 2016

Abstrak

Biomassa lignoselulosa yang merupakan limbah pemanenan kayu harus dilakukan proses untuk memisahkan selulosa, hemiselulosa dan lignin sehingga dapat dimanfaatkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas inokulan fungi *Phanerochaete chrysosporium* iradiasi gamma dan *pretreatment* kimia terhadap percepatan delignifikasi serbuk kayu jati putih (*Gmelina arborea* Roxb.) sehingga dapat dimanfaatkan dalam proses *pulping*. Pada penelitian ini dilakukan *pretreatment* substrat kayu jati putih (*Gmelina arborea* Roxb.) menggunakan larutan NaOH 1% dan H₂SO₄ 1% serta iradiasi gamma Co-60, yang mempunyai daya ionisasi kecil, daya tembus yang tinggi serta Co-60 dapat memancarkan sinar gamma dengan waktu paruh pendek. Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap, tahap pertama penentuan dosis optimum iradiasi gamma terhadap fungi *Phanerochaete chrysosporium* (0 Gy, 200 Gy, 400 Gy, 600 Gy, 800 Gy, dan 1000 Gy) dan tahap kedua analisis karakteristik substrat kayu jati putih yang telah di *pretreatment* dengan metode *Solid State Fermentation* (SSF) selama 21 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis optimum pemberian iradiasi gamma pada fungi *Phanerochaete chrysosporium* yaitu pada dosis 600 Gy yang dapat meningkatkan aktivitas enzim lignin peroksidase (LiP) sebesar 22.18 U/mL. Proses *pretreatment* kimia dengan menggunakan H₂SO₄ 1% dapat mempercepat proses biodelignifikasi yang menghasilkan efisiensi degradasi lignin tertinggi yaitu sebesar 25.65%.

Kata kunci: Lignoselulosa, delignifikasi, *Solid State Fermentation* (SSF), *Phanerochaete chrysosporium*, iradiasi gamma.

Abstract

Lignocellulose biomass is waste wood harvesting should be a process for separating cellulose, hemicellulose and lignin that can be utilized. This study aims to determine the effectiveness of the inoculant fungi *Phanerochaete chrysosporium* gamma irradiation and chemical pretreatment to accelerate delignification powder white teak (*Gmelina arborea* Roxb.). In this research, pretreatment of substrate wood white teak (*Gmelina arborea* Roxb.) Using a solution of NaOH 1% and H₂SO₄ 1% and gamma-ray irradiation Co-60, have the power of ionization is small, high penetrating power, and Co-60 which can emit gamma rays a short half-life time. This research was conducted in two stages, the first stage of determining the optimum dose gamma irradiation for fungi *Phanerochaete chrysosporium* (0 Gy, 200 Gy, 400 Gy, 600 Gy, 800 Gy, and 1000 Gy) and the second stage of the analysis of the characteristics of the substrate wood white teak has been in pretreatment by methode *Solid State Fermentation* (SSF) for 21 days. The results showed that the optimum dose administration of gamma irradiation on fungi *Phanerochaete chrysosporium* is a dose of 600 Gy which can increase the activity of enzymes lignin peroxidase (LiP) amounted to 22.18 U / mL. Chemical pretreatment process using H₂SO₄ 1% biodelignification can accelerate the process of lignin degradation that produces the highest efficiency of 25.65%.

Keywords: Lignocellulose, delignification, *Solid State Fermentation* (SSF), *Phanerochaete chrysosporium*, gamma irradiation.

DOI: <http://dx.doi.org/10.15408/jkv.v0i0.3079>

1. PENDAHULUAN

Agroindustri merupakan salah satu sektor industri yang memegang peranan penting dalam perekonomian Indonesia. Salah satu sektor agroindustri yang berkembang pesat di Indonesia pada saat ini adalah industri pulp dan kertas. Industri kertas merupakan salah satu jenis industri terbesar di dunia dengan menghasilkan 178 juta ton pulp dan 278 juta ton kertas dan karton, dan menghabiskan 670 juta ton kayu (Rini, 2002).

Pembuatan kertas lebih membutuhkan selulosa dan hemiselulosa daripada lignin. Dalam industri kertas, lignin harus dihilangkan dari kayu karena akan mengganggu terbentuknya pulp dalam pembuatan kertas. Pengaruh lignin dalam proses *pulping* maupun mutu pulp dan kertas adalah menyulitkan dalam penggilingan, pulp berkekuatan rendah, sulit diputihkan, dan kertas yang dihasilkan bersifat kaku, warnanya kuning dan mutunya rendah (Kenneth, 1970). Oleh karena itu, diperlukan teknik tertentu untuk mendegradasi lignin dari *wood chips* yang akan dibuat kertas.

Penanganan limbah setelah pemanenan kayu dilakukan proses yang dapat bersifat fisika, kimia, biologi ataupun terpadu dengan teknologi tertentu. Teknik *biopulping* merupakan salah satu alternatif dalam pemecahan masalah tersebut. Teknik *biopulping* memberi peranan bagi organisme tertentu misalnya fungi, serangga, dan bakteri dalam proses pembuatan kertas. Penerapan biodelignifikasi pada proses *pulping* menggunakan asam sulfat memang lebih toleran untuk semua jenis kayu akan tetapi rendemen kertas yang dihasilkan kecil dan tidak ramah lingkungan. *Biopulping* dengan fungi lebih efektif dan efisien dibandingkan proses kimia lainnya (Kartasasmita *et al.*, 2011). Limbah lignoselulosa yang berlimpah dan belum dimanfaatkan dapat dikonversi menjadi produk akhir yang lebih bernilai secara ekonomi dengan menggunakan fermentasi fase padat (Prabhakar *et al.*, 2005).

Produksi enzim banyak dilakukan dengan menggunakan metode fermentasi fase padat atau *SolidState Fermentation (SSF)*. Prinsip dasar *SSF* adalah pertumbuhan mikroba pada substrat padat basah dengan kadar air rendah atau berada di dalam pori tanpa adanya pergerakan air bebas (Prabhakar *et al.*, 2005). Proses produksi dengan *SSF* memiliki beberapa keuntungan jika

dibandingkan dengan metode lain seperti *Submerged Fermentation (SmF)*. Substrat padat tersebut digunakan sebagai tempat hidup dan sumber nutrisi mikroba untuk melakukan aktivitas hidupnya (Shah dan Madamwar, 2005).

Pemakaian dosis iradiasi dalam bidang mikrobiologi selain untuk tujuan pengawetan bahan makan juga ditunjukkan untuk membantu perbaikan galur sehingga dapat menghasilkan keturunan yang lebih baik (Sudaryati dan Djajasukma, 1990) atau juga untuk menstimulasi pertumbuhan mikroba yang bermanfaat (Siagian, 1980). Hal ini dikarenakan sinar gamma akan meradiolisis sel dengan menghasilkan radikal H• dan OH• yang akan bergerak bebas menyerang apa saja yang terdekat hingga memperoleh kestabilan. Radikal bebas ini akan memutus DNA fungi secara acak dan jika urutan *sequence* nukleotida DNA kembali pada posisi semula atau pada posisi berbeda tetapi bersifat indusif maka hal ini akan menstimulasi fungsi. Iradiasi sinar gamma dosis rendah mampu meningkatkan aktivitas enzim oxamyl peptisida pada fungi *Trichoderma, spp.* Dosis rendah pada radiasi pengion dalam mikroorganisme bertanggungjawab dari dipercepatnya aktivitas enzim dan jika pada dosis tinggi sel fungi akan rusak dan mati sehingga akan bersifat sterilisasi.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui efektivitas inokulan fungi *Phanerochaete chrysosporium* iradiasi gamma dan *pretreatment* kimia terhadap percepatan delignifikasi serbuk kayu jati putih (*Gmelina arborea* Roxb.).

2. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sumber isotop Cobalt-60 dalam chamber IRPASENA 4000A laju dosis 2.1 kGy/jam, *cutting mill*, autoklaf *laminar air flow*, *sentrifuge*, spektrofotometer UV-Vis, inkubator, *furnace*, oven, pH meter, neraca analitik, desikator, *micropipette*, *microtube*, vortex, *shaker* mekanis, *micropipette*, *microtube*, cawan petri, bunsen, ose, gunting, spatula, cawan porselein, aluminium foil dan peralatan gelas lainnya.

Bahan yang digunakan adalah kayu jati putih, strain *Phanerochaete chrysosporium* dari koleksi kultur terseleksi di PAIR-BATAN,

Potato Dextrose Broth (PDB), *Potato Dextrose Agar* (PDA), larutan fisiologis (NaCl 0.85%), reagen nelson, larutan arsenomolibdat, glukosa, alkohol, *yeast extract*, asam sitrat, buffer sitrat pH 5, buffer asetat pH 3, selenium, MnSO₄, CuSO₄, ZnSO₄, KH₂PO₄, K₂HPO₄, MgSO₄.7H₂O, (NH₄)₂SO₄, H₂SO₄, NaOH, H₃BO₃, H₂O₂, HCl, K₂Cr₂O₇, FeSO₄, (NH₄)₂C₂O₄, HCHO, Natrium tetrafenilboron (STPB), benzalkonium klorida (BAC), indikator Titan Yellow, indikator feroin, indikator conway, indikator fenolftalein dan akuades.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor dan 2 ulangan (Tabel 1). Faktor pertama yaitu bioaktivator yang meliputi kontrol dan inokulan fungi *Phanerochaete chrysosporium* serta fungi *Phanerochaete chrysosporium* iradiasi gamma dengan dosis optimum. Dosis optimum diperoleh dengan cara orientasi dosis pada dosis 0, 200, 400, 600, 800, dan 1000 Gy. Faktor kedua yaitu meliputi kontrol dan penggunaan larutan kimia NaOH dan H₂SO₄.

Tabel 1. Perlakuan sampel

Faktor		Ulangan	
Fungi	Pre-treatment	1	2
<i>Phanerochaete chrysosporium</i> 0 Gy	Kontrol	K1F1	K1F1'
	NaOH	K2F1	K2F1'
	H ₂ SO ₄	K3F1	K3F1'
<i>Phanerochaete chrysosporium</i> 600 Gy	Kontrol	K1F2	K1F2'
	NaOH	K2F2	K2F2'
	H ₂ SO ₄	K3F2	K3F2'

Keterangan :

K1F1 : substrat kontrol inokulum *P.chrysosporium* 0 Gy

K2F1 : substrat *pretreatment* NaOH inokulum *P.chrysosporium* 0 Gy

K3F1 : substrat *pretreatment* H₂SO₄ inokulum *P.chrysosporium* 0 Gy

K1F2 : substrat kontrol inokulum *P.chrysosporium* 600 Gy

K2F2 : substrat *pretreatment* NaOH inokulum *P.chrysosporium* 600 Gy

K3F2 : substrat *pretreatment* H₂SO₄ inokulum *P.chrysosporium* 600 Gy

Preparasi Serbuk Kayu Jati Putih (*Gmelina arborea* Roxb.) dan Pretreatment

Kayu jati putih (*Gmelina arborea* Roxb.) dengan ukuran partikel < 2 mm direndam dengan NaOH 1% dan H₂SO₄ 1% dengan perbandingan 1:10. Masing-masing campuran bahan tersebut diaduk secara merata

dan dibiarkan selama 1-2 jam kemudian dilakukan pencucian dengan air mengalir dan dikeringkan dalam oven pada 40 °C sampai diperoleh berat yang konstan.

Preparasi Kultur Fungi *Phanerochaete chrysosporium*

Strain fungi *Phanerochaete chrysosporium* diperoleh dari koleksi kultur terseleksi yang dipelihara dalam slent dengan media PDA pada 4 °C di Bidang Industri dan Lingkungan, Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, Batan Tenaga Nuklir Nasional.

Penentuan Dosis Iradiasi Optimum

Sebanyak 1.5 g substrat kayu jati putih dimasukkan ke dalam botol yang berukuran 250 mL ditambahkan 30 mL larutan nutrisi dan garam mineral. Setiap liter larutan nutrisi dan garam mineral mengandung 24g PDB, 5g yeast ekstrak, 1g (NH₄)₂SO₄, 0.5g KH₂PO₄, 0.5g K₂HPO₄ dan 0.2g MgSO₄.7H₂O. Semua medium *Sub Merged Fermentation* (SmF) disterilkan dengan *autoclave* pada 121°C selama 2x15 menit kemudian didinginkan. Ke dalam 30 mL medium SmF steril diinokulasi 1 mL kultur cair fungi *Phanerochaete chrysosporium* dosis 0, 200, 400, 600, 800, dan 1000 Gy dengan kerapatan masing-masing sekitar 10⁶ spora/mL, diinkubasi dalam shaker mekanis pada 75 rpm dan suhu ruang selama 4 hari. Kemudian diuji aktivitas enzim lignin peroksidase. *Strain* yang memiliki aktivitas enzim tertinggi akan digunakan pada fermentasi substrat padat atau *Solid State Fermentation* (SSF).

Solid State Fermentation (SSF) Substrat Kayu Jati Putih (*Gmelina arborea* Roxb.)

Sebanyak 80 g kayu jati putih dimasukkan ke dalam botol fermentasi yang berukuran 500 mL ditambahkan 80 mL larutan nutrisi dan garam mineral. Setiap liter larutan nutrisi dan garam mineral mengandung 5g yeast ekstrak, 1g (NH₄)₂SO₄, 0.5g KH₂PO₄, 0.5g K₂HPO₄ dan 0.2g MgSO₄.7H₂O. Akuades ditambahkan ke dalam substrat sehingga diperoleh perbandingan substrat dan cairan sekitar 1:6 atau kadar kelembaban sekitar 89.5% (Pensupa *et al.*, 2013). pH substrat diatur sekitar 6.5 dan disterilkan dengan *autoclave* pada 121 °C selama 2x15 menit kemudian didinginkan. Ke dalam substrat steril diinokulasi kultur cair fungi *Phanerochaete chrysosporium* sesuai dengan perlakuan pada

rancangan penelitian. Inokulasi kultur cair fungi dengan kerapatan masing-masing sekitar 10^6 spora/mL dilakukan secara aseptik di dalam *laminar air flow*. Substrat yang tidak diinokulasi kultur cair fungi digunakan sebagai kontrol. Semua substrat dalam botol fermentasi ditutup rapat dan diinkubasi di ruang gelap pada 28-32 °C selama 21 hari.

Penentuan Kadar Lignin, Selulosa, dan Hemiselulosa (Metode Chesson dan SNI 0492:2008)

Penentuan kadar lignin, selulosa dan hemiselulosa dilakukan pada hari ke-0 dan hari ke-21. Sebanyak 1 g sampel kering oven (berat a) dimasukkan ke dalam botol berukuran 250 mL, tambahkan 150 mL akuades atau alkohol : benzene (1:2), kemudian dididihkan dan didinginkan. Pemisahan residu (endapan) dan ekstraktif menggunakan cawan masir, residu dicuci dengan 300 mL air panas, kemudian dikeringkan dalam oven pada 105 °C selama 24 jam (berat b). Pindahkan residu (endapan) ke dalam erlenmeyer ukuran 500 mL, tambahkan 150 mL H₂SO₄ 1N, kemudian dididihkan dan didinginkan.

Pemisahan residu dilakukan dengan cawan masir, residu dicuci dengan 300 mL akuades, kemudian dikeringkan dalam oven pada 105 °C selama 24 jam (berat c). Pindahkan residu ke dalam erlenmeyer ukuran 500 mL, tambahkan 100 mL H₂SO₄ 72%, rendam pada suhu kamar selama 2-4 jam, tambahkan 150 mL H₂SO₄ 1N, kemudian dididihkan dan didinginkan. Pemisahan residu dilakukan dengan cawan masir, residu dicuci dengan 400 mL akuades, kemudian dikeringkan dalam oven pada 105 °C selama 24 jam (berat d). Residu diabukan pada 650 °C selama 5-6 jam (berat e).

Perhitungan :

$$\text{Kadar lignin} = \frac{(d-e)}{a} \times 100\%$$

$$\text{Kadar selulosa} = \frac{(c-d)}{a} \times 100\%$$

$$\text{Kadar hemiselulosa} = \frac{(b-c)}{a} \times 100\%$$

Keterangan :

a = berat kering sampel (gram)

b = berat residu pertama (gram)

c = berat residu kedua (gram)

d = berat residu ketiga (gram)

e = berat residu keempat (gram)

Uji Aktivitas Enzim Lignin Peroksidase (Bonnen *et al.*, 1994)

Uji aktivitas enzim lignin peroksidase dilakukan pada hari ke-0, ke-7, ke-14 dan ke-21. Ke dalam tube 2 mL, dimasukkan 0.1 mL veratryl-alkohol 8 mM; 0.2 mL buffer asetat 50 mM pH 3; 0.45 mL akuades; 0.05 mL H₂O₂ 5 mM; 0.2 mL filtrat enzim (Volume total = 1 mL). Tabung/cuvet dikocok perlahan agar semua bahan tercampur. Reaksi aktivitas enzim dilakukan pada suhu 20±1 °C. Absorbansi diukur pada waktu 0 dan 10 menit (atau lebih lama) pada panjang gelombang (λ) 310 nm.

Perhitungan :

$$\text{Aktivitas enzim (U/mL)} = \frac{\Delta\text{OD}_{310} \times V_{\text{total}} \text{ (mL)} \times 10^9}{\text{e}_{\text{max}} \times d \times V_{\text{enzim}} \text{ (mL)} \times t}$$

Keterangan :

ΔOD = selisih absorbansi pada 10 dan 0 menit

V_{total} = 1 mL

V_{enzim} = 0.2 mL

e_{max} = absorpsivitas molar veratryl-alkohol 9300/M.cm

d = tebal bagian dalam kuvet (cm)

t = waktu reaksi aktivitas enzim (menit).

Penentuan Nilai pH

Pengukuran pH dilakukan dengan cara sampel ditimbang sebanyak 2-3 gram dan ditambahkan akuades sebanyak 10-15 mL. Selanjutnya dihomogenkan menggunakan *shaker* mekanis selama 15 menit dan diukur dengan menggunakan pH meter.

Bobot Biomassa Fungi (Hamzah *et al.*, 2012)

Sebanyak 3 g substrat kayu jati putih fermentasi dilarutkan dengan 30 mL larutan fisiologis NaCl 0.85% kemudian disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Filtrat diambil lalu ditaruh ke dalam cawan porselein yang telah diketahui bobotnya kemudian dioven pada suhu 60 °C selama 1 hari untuk mengetahui berat kering sampel. Supernatan disentrifuse kembali dengan kecepatan 12000 rpm selama 15 menit. Filtrat ditaruh ke dalam cawan porselein lalu dioven pada suhu 60 °C selama 1 hari untuk mengetahui bobot biomassa fungi.

Penentuan Kadar Air (BSN, 1992)

Cawan dikeringkan dalam oven pada suhu 105 °C selama 1 jam. Cawan kemudian diletakkan ke dalam desikator (15 menit) dan dibiarkan sampai dingin kemudian ditimbang. Sampel seberat 2-3 gram ditimbang ke dalam

cawan, dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 102-105 °C selama 5-6 jam kemudian ke dalam desikator dan dibiarkan sampai dingin (30 menit) dan ditimbang hingga memperoleh bobot yang tetap. Perhitungan kandungan air dapat dilakukan menggunakan rumus :

$$\% \text{ kadar air} = \frac{b-c}{b-a} \times 100\%$$

Keterangan :

a = berat cawan kosong (gram)

b = berat cawan yg diisi dengan sampel (gram)

c = berat cawan yg sudah dikeringkan (gram)

Analisis Data

Data hasil penelitian ini dianalisis menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) pada SPSS versi 20.0 dengan batas kepercayaan sebesar 95% ($\alpha = 0.05$) dan uji lanjut Duncan. Pengujian hipotesis didasarkan pada ketetapan H_0 dan H_1 .

H_0 = *Phanerochaete chrysosporium* yang diradiasi gamma pada dosis yang sesuai dengan diberikan alkali treatment dapat meningkatkan aktivitas enzim peroksidase dan mengoptimalkan delignifikasi jerami padi.

H_1 = *Phanerochaete chrysosporium* yang diradiasi gamma pada dosis yang sesuai tanpa diberikan alkali treatment dapat meningkatkan aktivitas enzim peroksidase dan mengoptimalkan delignifikasi jerami padi.

Penarikan kesimpulan berdasarkan nilai signifikansi, yaitu :

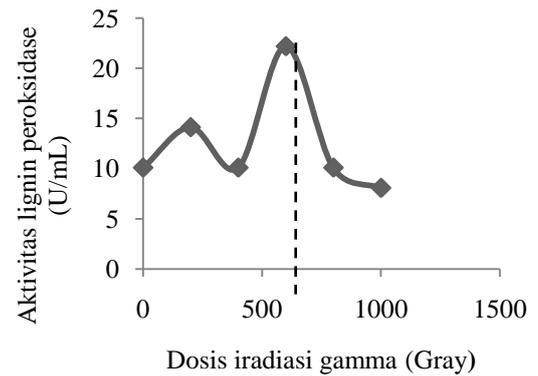
Jika $p < 0.05$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima

Jika $p > 0.05$ maka H_0 diterima dan H_1 ditolak.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Orientasi Dosis Optimum Iradiasi Gamma Fungi *Phanerochaete chrysosporium*

Kultur *Phanerochaete chrysosporium* ditanam dalam media padat *Potato Dextrose Agar* (PDA) untuk dilakukan proses iradiasi. Dalam media padat, *Phanerochaete chrysosporium* menunjukkan hifa yang berwarna putih. PDA dipilih sebagai medium pertumbuhan *Phanerochaete chrysosporium* agar lebih resisten saat diiradiasi dibandingkan pada media cair *Potato Dextrose Broth* (PDB).



Gambar 1. Grafik hubungan dosis iradiasi dengan aktivitas lignin peroksidase (LiP) pada *Phanerochaete chrysosporium*.

Gambar 1 dapat dilihat puncak dosis iradiasi optimum berada pada dosis 600 Gray pada medium substrat kayu jati putih dengan aktivitas enzim lignin peroksidase yaitu sebesar 22.18 U/mL. Hasil uji statistik Duncan memperlihatkan beda nyata pada dosis 600 Gray dengan dosis lainnya. Peningkatan aktivitas enzim lignin peroksidase (LiP) yang terjadi pada dosis 600 Gray, disebabkan dosis yang diberikan merupakan dosis yang tertinggi yang menyebabkan fungi mengalami kerusakan sel yang lebih besar sehingga fungi tersebut memproduksi enzim yang lebih besar, oleh karena itu akan meningkatkan aktivitas enzimatis (Wahyudi *et al.*, 2005).

Kemampuan *Phanerochaete chrysosporium* dalam biodegradasi lignin disebabkan fungi ini mampu menghasilkan enzim lignin peroksidase (LiP), mangan peroksidase (MnP), dan lakase. 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. MnP juga merupakan enzim yang mengandung heme dan menggunakan H_2O_2 untuk mengkatalisis oksidasi Mn^{2+} menjadi Mn^{3+} . MnP memiliki kemampuan oksidasi baik komponen fenolik maupun non fenolik senyawa lignin. Walaupun mekanisme kerjanya sama seperti LiP namun MnP tidak memiliki kemampuan yang sama untuk mengoksidasi substansi dengan potensial redoks yang lebih tinggi.

Karakteristik Substrat Kayu Jati Putih Pra-SSF (*Solid State Fermentation*)

Sebelum dilakukan proses fermentasi fase padat, kayu jati putih (*Gmelina arborea* Roxb.) dipreparasi terlebih dahulu dengan perlakuan fisik dan kimia. Perlakuan fisik dilakukan dengan cara penggilingan substrat dengan tujuan memperkecil ukuran partikel sehingga luas permukaannya meningkat (Utomo dan Soejono, 1987). Luas permukaan yang lebih besar akan mempermudah aktivitas mikroorganisme perombak sehingga proses dekomposisi menjadi lebih cepat (Djuarnani *et al.*, 2008). Perlakuan kimia dilakukan dengan cara merendam serbuk kayu jati putih dengan larutan NaOH 1% dan H₂SO₄ 1% selama 1 jam.

Hasil analisis karakteristik substrat kayu jati putih (*Gmelina arborea* Roxb.) yang digunakan dalam penelitian ini dengan *pretreatment* dapat dilihat pada Tabel 1. Penggunaan larutan NaOH sebagai *pretreatment* biomassa karena dapat merusak struktur lignin pada bagian kristalin dan amorf serta memisahkan sebagian hemiselulosa. Julfana (2012), mengatakan bahwa ekstraksi hemiselulosa dapat menggunakan pelarut seperti NaOH, NH₄OH dan KOH. Di antara ketiga pelarut tersebut yang paling baik digunakan adalah NaOH. Hemiselulosa memiliki struktur amorf sehingga penggunaan NaOH dapat menghilangkan lignin sekaligus mengekstraksi hemiselulosa. Larutan NaOH dapat menyerang dan merusak struktur lignin

pada bagian kristalin dan amorf serta memisahkan sebagian hemiselulosa (Safaria, 2013).

Tabel 1. Karakteristik substrat kayu jati putih (*Gmelina arborea* Roxb.)

Karakteristik	K1	K2	K3
pH	6.11	6.56	5.39
Bahan Org (%)	97.60	96.61	97.35
C-org (%)	24.47	21.51	26.42
Total N (%)	0.3719	0.3667	0.4017
Ekstraktif (%)	7.12	5.78	9.27
Hemiselulosa (%)	17.32	15.17	8.14
Selulosa (%)	43.39	48.13	53.4
Lignin (%)	31.28	30.03	27.92
Abu (%)	0.89	0.89	1.27

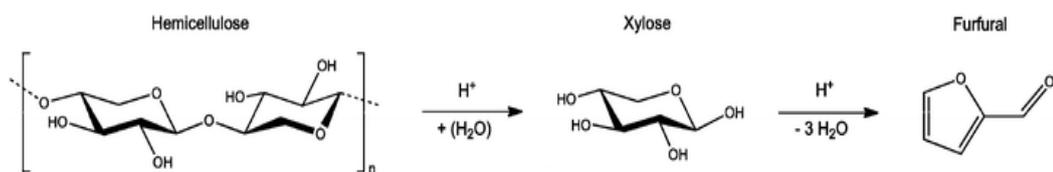
Keterangan :

K1 : substrat tanpa *pretreatment* (Kontrol)

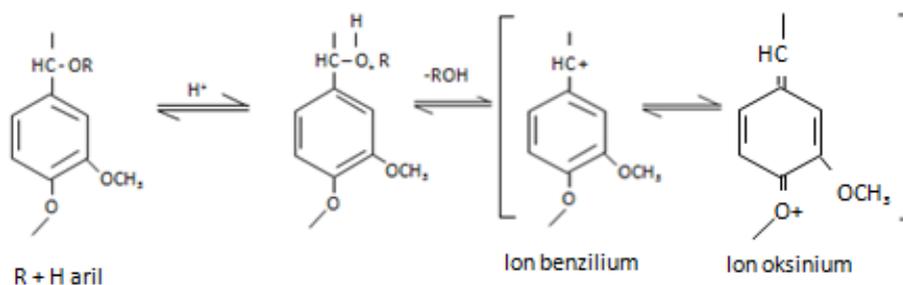
K2 : substrat dengan *pretreatment* NaOH 1%

K3 : substrat dengan *pretreatment* H₂SO₄ 1%

Hidrolisis asam merupakan hidrolisis yang memutuskan ikatan antara lignin dan selulosa, tetapi pemutusan yang bersifat acak menyebabkan kadar lignin yang diperoleh pun tidak mempunyai pola yang teratur. Peningkatan konsentrasi asam menyebabkan terjadinya protonasi gugus eter pada atom C α dari benzil. Protonasi terjadi lalu molekul alkohol terlepas menghasilkan sistem benzilium dan oksonium.



Gambar 2. Reaksi hidrolisis senyawa hemiselulosa membentuk furfural



Gambar 3. *Pretreatment* H₂SO₄ pada lignin (Arianie dan Idiawati, 2011)

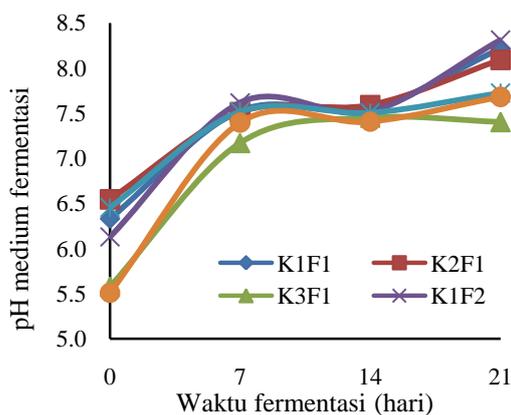
Skema reaksi hidrolisis dengan asam yaitu proton dari asam akan berinteraksi secara cepat dengan ikatan glikosidik oksigen pada dua unit gula sehingga akan membentuk asam konjugasi (Xiang *et al.*, 2003). Proses tersebut berlangsung secara kontinyu sampai semua molekul selulosa terhidrolisis menjadi glukosa.

Fermentasi Serbuk Kayu Jati Putih dengan Metode SSF (*Solid State Fermentation*)

Fermentasi serbuk kayu jati putih menggunakan fungi *Phanerochaete chrysosporium* dilakukan selama 21 hari dengan perbandingan substrat dan liquid (1:6). Liquid dalam proses fermentasi meliputi penambahan larutan nutrisi, inokulum *Phanerochaete chrysosporium* 0 Gy dan 600 Gy serta akuades. Larutan nutrisi atau *Mineral Salts Medium* (MSM) memiliki peran penting pada proses fermentasi karena mempengaruhi kestabilan mikroorganisme (Somda *et al.*, 2011). Penambahan *yeast extract* berfungsi sebagai penyedia asam-asam amino tunggal, faktor pertumbuhan dan berbagai vitamin yang dibutuhkan sel (Haltrich *et al.*, 1996).

Nilai pH

pH merupakan satu diantara beberapa faktor penting yang mampu mempengaruhi pertumbuhan fungi dan proses fermentasi. Perubahan nilai pH selama proses fermentasi dapat dilihat pada Gambar 4.



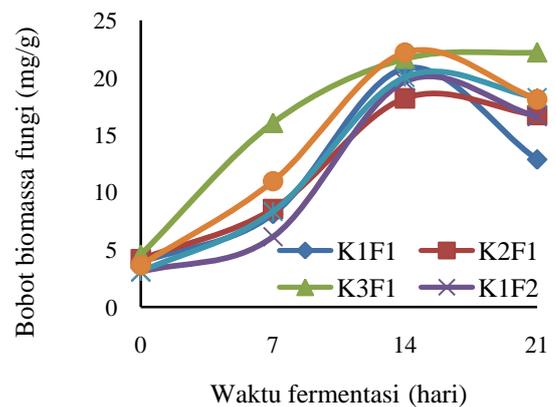
Gambar 4. Perubahan pH oleh *Phanerochaete chrysosporium* terhadap proses fermentasi serbuk kayu jati putih selama 21 hari

Nilai pH selama proses fermentasi mengalami fluktuasi. Menurut Fadila *et al.*, (2008), *Phanerochaete chrysosporium*

mempunyai pertumbuhan optimum pada pH 4-7, suhu 40 °C, dan aerob. pH optimum akan mempengaruhi pertumbuhan fungi dimana pertumbuhan biomassa fungi dapat meningkat. Kondisi pH yang optimum akan membantu enzim untuk mengkatalis suatu reaksi dengan baik. Enzim tidak dapat bekerja pada pH yang terlalu rendah atau pH yang terlalu tinggi karena akan mengakibatkan enzim terdenaturasi sehingga sisi aktif enzim terganggu (Safaria, 2013).

Bobot Biomassa Fungi

Bobot biomassa fungi ditentukan melalui proses pemisahan antara fungi dengan substratnya. Pada Gambar 5, dapat dilihat bahwa bobot biomassa fungi optimum pada hari ke 14. Hal ini juga diperkuat dengan hasil uji statistik Duncan yang menunjukkan perbedaan nyata.



Gambar 5. Perubahan bobot biomassa fungi pada proses fermentasi selama 21 hari

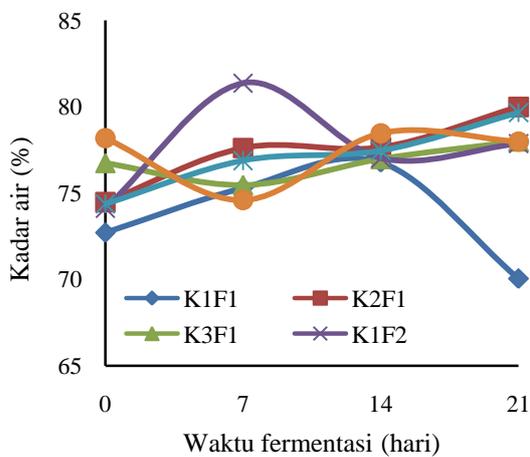
Pada awal fermentasi, fungi masih mengalami fase adaptasi dengan medium sehingga pertumbuhan populasi masih sangat sedikit. Fase ini disebut dengan fase lambat atau *lag phase*. Setelah *lag phase*, fungi akan memasuki fase pertumbuhan logaritma atau eksponensial. Pertumbuhan seimbang ditandai dengan bertambahnya populasi secara teratur (Pelczar, 2006). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa fase stationer berada pada hari ke-14 di mana bobot biomassa pada semua sampel mengalami peningkatan yang signifikan. Peningkatan bobot biomassa tersebut menunjukkan bahwa fungi *Phanerochaete chrysosporium* tumbuh dengan baik karena terdapat kecocokan sifat fungi dengan fisiologi fermentasi fungi tersebut

(Murni *et al.*, 2008). Pertumbuhan fungi berlangsung dengan mengkonsumsi nutrisi yang terdapat dalam medium fermentasi sekaligus mengeluarkan produk-produk metabolisme (Kusumaningati *et al.*, 2013).

Pada hari ke-21, bobot biomassa fungi mengalami penurunan hampir pada semua sampel. Hal ini disebabkan karena habisnya nutrisi yang terkandung dalam medium sehingga menyebabkan beberapa sel fungi mati (Pelczaret *al.*, 2006).

Kadar Air

Kadar air substrat kayu jati putih selama fermentasi cenderung mengalami peningkatan sampai pada hari ke-21. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Perubahan kadar air pada fermentasi selama 21 hari

Berdasarkan uji statistik Duncan terlihat perbedaan nyata pada sampel K3F1 dan K3F2 pada hari ke-0 yang disebabkan oleh *pretreatment* di awal fermentasi menggunakan H₂SO₄ 1%. Kadar air tertinggi adalah pada hari ke-7 untuk sampel K1F2 sebesar 81.37%.

Pada proses fermentasi, kadar air berfungsi untuk proses transport nutrisi dan

produk-produk metabolit melalui membran sel (Hilakore, 2008). Peningkatan kadar air disebabkan karena semakin lama waktu fermentasi, aktivitas *Phanerochaete chrysosporium* juga semakin meningkat. Pengurangan kadar air yang terjadi juga dapat disebabkan oleh pemanfaatan air tersebut oleh fungi untuk proses metabolisme dalam tubuhnya. Fungi dapat tumbuh dengan baik pada kelembaban kurang lebih 80%, dan pada kondisi lingkungan yang hipotonik cairan dari lingkungan akan masuk ke dalam sel fungi. Keadaan yang kering dapat menyebabkan proses pengeringan protoplasma yang berakibat berhentinya metabolisme (Waluyo, 2004).

Hasil SSF (Solid State Fermentation) Serbuk Kayu Jati Putih dengan *Phanerochaete chrysosporium* selama 21 Hari

Proses fermentasi yang dilakukan selama 21 hari dengan metode *Solid State Fermentation* menghasilkan perubahan yang terlihat dalam karakterisasi sampel serbuk kayu jati putih, dimana proses degradasi lignin menggunakan fungi *Phanerochaete chrysosporium* berpengaruh terhadap penurunan kadar lignin sampel.

Efisiensi Degradasi Lignin dan Peningkatan Kadar Selulosa

Lignin merupakan komponen dinding sel tanaman yang mengalami perkembangan setelah tanaman mengalami proses pematangan. Pada Tabel 2 dapat dilihat rata-rata kandungan lignin serbuk kayu jati putih pada hari ke-0 berkisar 27.92% sampai 31.28%. Menurut Baharuddin (2005), kandungan lignin serbuk kayu jati sekitar 28%. Perubahan kandungan lignin pada substrat terjadi karena perombakan struktur lignin menjadi komponen yang lebih sederhana. Efisiensi degradasi lignin selama fermentasi berkisar antara 8.28-25.65% pada keenam sampel.

Tabel 2. Efisiensi degradasi lignin (%).

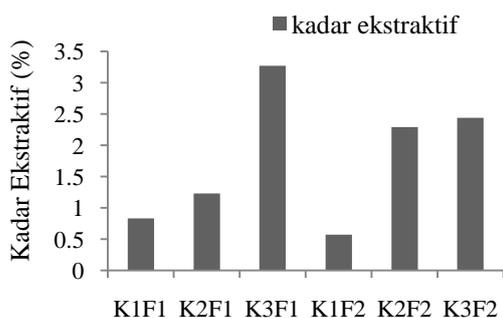
Waktu fermentasi Hari ke-	K1F1	K2F1	K3F1	K1F2	K2F2	K3F2
Lignin hari ke-0, %	31.28	30.03	27.92	31.28	29.99	27.94
Lignin hari ke-21, %	28.69	23.36	24.20	23.91	24.41	20.77
Efisiensi deg.lignin, %	8.28	22.20	13.34	23.56	18.62	25.65

Tabel 3. Peningkatan kadar selulosa (%).

Waktu fermentasi Hari ke-	K1F1	K2F1	K3F1	K1F2	K2F2	K3F2
Selulosa hari ke-0, %	43.39	48.13	53.40	43.40	48.07	53.43
Selulosahari ke-21, %	47.91	54.13	50.20	55.79	50.02	50.68
Peningkatan, %	10.43	12.47	-5.99	28.54	4.05	-5.15

Efisiensi degradasi lignin tertinggi dengan fungi *Phanerochaete chrysosporium* iradiasi 600 Gray yang terdapat pada sampel *pretreatment* menggunakan H_2SO_4 yaitu sebesar 25.65%. Kadar selulosa pada sampel *pretreatment* H_2SO_4 mengalami penurunan yaitu sampel K3F1 pada hari ke-0 sebesar 53.40% turun pada hari ke-21 menjadi 50.20%, begitu pula pada sampel K3F2 dari 53.43% menjadi 50.68%. Hal inilah yang menyebabkan persentase peningkatan kadar selulosa pada sampel K3F1 dan K3F2 menunjukkan hasil negatif. Perbedaan ini disebabkan perombakan komponen lignoselulosa oleh fungi. *Phanerochaete chrysosporium* disamping menghasilkan enzim ligninolitik juga menghasilkan enzim selulolitik.

Proses delignifikasi dengan metode fermentasi fase padat yang dilakukan selama 21 hari menyebabkan perubahan terhadap kadar zat ekstraktif dalam substrat.

**Gambar 7.** Kadar ekstraktif substrat setelah 21 hari fermentasi.

Kadar ekstraktif tertinggi terdapat pada sampel K3F1 dengan *pretreatment* H_2SO_4 inokulum *Phanerochaete chrysosporium* 0 Gy sebesar 3.27% sedangkan kadar ekstraktif terendah pada sampel K1F2, tanpa *pretreatment* dengan inokulum *Phanerochaete chrysosporium* 600 Gy sebesar 0.57%.

Tingginya kadar ekstraktif setelah waktu fermentasi dikarenakan miselia fungi *Phanerochaete chrysosporium* yang tumbuh pada serbuk kayu ikut terekstrak oleh pelarut yang digunakan. Begitu pula yang terjadi terhadap perubahan kadar abu pada sampel. Peningkatan kadar abu yang terjadi setelah proses fermentasi karena munculnya mineral dalam kayu setelah terserang oleh fungi yang disebabkan oleh hasil metabolik organisme tersebut (Fengel dan Wagener, 1995). Perubahan kadar zat ekstraktif pada substrat kayu jati putih diduga karena adanya penguapan zat-zat ekstraktif yang bersifat volatil pada suhu fermentasi. Selain itu jenis ekstraktif pada kayu jati yang bersifat racun terhadap mikroorganisme, menyebabkan fungi *Phanerochaete chrysosporium* tidak tumbuh dengan baik di media serbuk kayu jati (Irawati *et al.*, 2009).

4. SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa perlakuan iradiasi gamma dapat meningkatkan aktivitas enzim lignin peroksidase dari fungi *Phanerochaete chrysosporium*. Aktivitas enzim peroksidase optimum pada dosis iradiasi 600 Gray sebesar 22.18 U/mL sedangkan tanpa iradiasi sebesar 10.08 U/mL.

Pretreatment kimia berpengaruh terhadap percepatan proses biodelignifikasi yaitu dengan menggunakan H_2SO_4 1% menghasilkan efisiensi degradasi lignin sebesar 25.65%.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Standar Nasional (BSN). 1992. *Cara uji makanan dan minuman*. 01-2891-1992. Badan Standarisasi Nasional, Jakarta: BSN.
- Baharuddin. 2005. Pemanfaatan serbuk kayu jati (*Tectona grandis* L) yang direndam dalam

- air dingin sebagai media tumbuh jamur tiram (*Pleurotus comunicipae*). *Jurnal Perrenial*: 2(1). 1-5.
- Bonnen AM, Anton LH, Orth AB. 1994. Lignin-degrading enzymes of the commercial button mushroom, *agaricus bisporus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 960-965.
- Hamzah A, Zarin MA, Hamid AA. 2012. Optimal physical and nutrient parameters for growth of *trichoderma virens*. *Sains Malaysiana*. 41(1):71-79.
- Irawati D. 2006. *Pemanfaatan Serbuk Kayu untuk Produksi Etanol*. [Tesis]. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Julfana R. 2012. Hidrolisis enzimatis selulosa dari ampas sagu menggunakan campuran selulase dari *trichoderma reesei* dan *Aspergillus Niger*. *Kimia Kehutanan*. 2(1): 52-57.
- Kartasasmita M, Solikhin A, Alfajri M. 2011. Potensi Fungi *Melanotus* sp. dan *Phanerochaete chrysosporium* sebagai Bidelignifikasi Ramah Lingkungan dalam Proses Pulping. Institut Pertanian Bogor, PKM GT.
- Kenneth WB. 1970. *Handbook of pulp and paper technology* (2nd ed.). Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Murni R. 2008. *Buku ajar teknologi pemanfaatan limbah untuk pakan*. Laboratorium Makanan Ternak. Jambi: Universitas Jambi [Online].
- Pelczar MJ Jr, Chan ECS. 2006. *Dasar-dasar mikrobiologi*, Volume 1. Hadjoetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL. Penerjemah; Jakarta: UI Pr. Terjemahan dari: *Elements of microbiology*.
- Prabakhar A, Krishnaiah K, Janaun J, Bono A. 2005. Review article an overview engineering aspects of solid state fermentation. *Malaysian of Microbiology*. 1(2): 10 -16.
- Rini DS. 2002. Minimalisasi limbah industri pulp and paper. Lembaga kajian Ekologi dan Konservasi Basah.
- Safaria S. 2013. Efektivitas campuran enzim selulase dari *aspergillus niger* dan *trichoderma reesei* dalam menghidrolisis substrat sabut kelapa. ISSN: 2303-1077. 2(1): 46-51.
- Shah AR, Madamwar D. 2005. Xylanase production under solid-state fermentation and its characterization by an isolated strain of *aspergillus foetidus* in India. *World of Microbiology & Biotechnology*. 21: 233-243.
- Siagian EC. 1980. *Mikrobiologi dasar*. Pusdiklat BATAN, Jakarta.
- Somda MK, Aly S, Nicolas B, Philippe T, Alfred ST. 2011. Effect of minerals salts in fermentation process using mango residues as carbon source for bioethanol production. *Asian of Indust. Engineering*. 3(1): 29-38.
- Sudaryati YS, Djajasukma E. 1990. Pengaruh Iradiasi Sinar Neutron terhadap Produksi Enzim Selulase dan Amilase oleh *Aspergillus niger* pada Media Dedak. BATAN, Jakarta.
- Utomo RS, Soejono. 1987. Singkronisasi Degradasi Energi dan Protein Dalam Rumen pada Ransum Basal Jerami Padi untuk Meningkatkan Kecernaan Nutrien Sapi Potong. Laporan Penelitian. Lembaga Penelitian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Wahyudi P, Suwahyono U, Harsoyo, Mumpuni A, Wahyuningsih D. 2005. Pengaruh pemaparan sinar gamma isotop cobalt-60 dosis 0.25-1 kgy terhadap daya antagonistik *t. harzianum* pada *f. oxysporum*. *Berk. Penel. Hayati*. 10: 143-151
- WaluyoL. 2004. *Mikrobiologi umum*. Malang: Universitas Muhammadiyah Press.