

ISOLASI DAN SELEKSI JAMUR APHYLLOPHORALES PENGURAI LIGNIN DI HUTAN BUKIT BANGKIRAI, KALIMANTAN TIMUR¹

[Isolation and Selection of Aphyllorphorales as Lignin Degrading Fungi in Bukit Bangkirai Forest, East Kalimantan]

YBSubowo

Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta-Bogor Km 46, Cibinong 16911
* e-mail: yosubowo@yahoo.com

ABSTRACT

Isolation and selection of Aphyllorphorales as lignin degrading fungus had been done in Bukit Bangkirai Forest, East Kalimantan. Aim of the research was to obtain Aphyllorphorales fungi which have ability to degrade lignin. The fresh fruit bodies were collected from trunks, branches and litters of plants in the forest. The work was conducted at dry season. Fruit bodies were taken to base camp for isolation. The isolates were tested for their ability to degrade lignin. We found 24 isolates of Aphyllorphorales fungi. Those isolates were grown in poly R-478 medium, 12 isolates were able to degrade lignin. *Megaspororia* sp. strain IB-24 had the highest ability in lignin degradation. The fungus can degrade poly R-478 8,05% during 90 minutes.

Kata kunci: Aphyllorphorales, degradasi lignin, Hutan Bukit Bangkirai.

PENDAHULUAN

Jamur merupakan kelompok organisme yang dapat hidup di berbagai lingkungan seperti tanah, perairan, udara, sisa tumbuhan dan bahkan di dalam tubuh organisme lain. Dalam suatu lingkungan, jamur memiliki satu fungsi sesuai dengan kemampuan yang dimilikinya. Salah satu kelompok jamur yang tumbuh pada batang kayu adalah Aphyllorphorales. Anggota kelompok ini memiliki hymenium berbentuk tabling dengan permukaan seperti pori-pori; contohnya *Polyporus squamosus* (Webster, 1970).

Anggota Aphyllorphorales sebagian besar hidup pada kayu baik yang masih hidup maupun sudah mati, sehingga tentunya memiliki enzim yang dapat menguraikan lignin. Berdasarkan kemampuan menguraikan substansi kayu, jamur dibagi menjadi 2 kelompok yaitu *white rot* dan *brown rot*. *White rot* adalah kelompok jamur Basidiomycetes yang mampu menguraikan lignin, selulosa dan hemiselulosa. *Brown rot* adalah kelompok jamur Basidiomycetes yang hanya menguraikan selulosa dan hemiselulosa (Hammel, 1997). Jamur *white rot* selain menguraikan lignin diduga juga dapat menguraikan senyawa polutan lain. Dilaporkan bahwa jamur ini juga dapat menguraikan DDT, PCB, lindan, dioxin dan benzo-a-pyrene. Jamur ini menghasilkan enzim ekstraseluler sehingga tahan terhadap bahan beracun atau bahan kimia mutagenik

(Aust and Benson, 1993). Beberapa jamur *white rot* telah digunakan dalam penguraian lignin, misalnya *Bjerkandera adusta* mampu mendegradasi lignin 40% dan pengurangan warna lignin sekitar 70% pada inkubasi selama 40 jam (Nakamura *et al.*, 1999).

Beberapa industri menggunakan bahan baku kayu, seperti industri kertas dan industri tekstil. Pada industri kertas bahan baku yang dibutuhkan adalah selulosa; seringkali lignin yang tercampur di dalamnya menjadi penyebab menurunnya kualitas kertas. Melalui proses pulping, serat selulosa diekstrak untuk menghilangkan lignin dari material kayu. Untuk menghilangkan senyawa lignin biasanya digunakan bahan kimia, tetapi ini cukup mahal. Alternatif lain, adalah dengan menggunakan jamur pendegradasi lignin, yang tentunya relatif lebih murah. Jamur *white rot* mempunyai potensi besar untuk aplikasi bioteknologi dalam proses pulping sebab menghasilkan enzim ligninolitik yang dibutuhkan untuk degradasi lignin. Moreira *et al.* (2004) melaporkan bahwa kemampuan degradasi jamur *white rot* membuka prospek baru untuk perkembangan proses bioteknologi yang bertujuan pada degradasi polimer kompleks seperti senyawa xenobiotik, pengurangan warna *effluent* dan *biobleaching* dari kraft pulp.

Selain itu jamur pengurai lignin juga dapat digunakan dalam pengolahan limbah, misalnya limbah

tekstil dan hidrokarbon. Abadulla *et al.* (2000) melaporkan bahwa enzim laccase dari *Trametes hirsuta* dapat mengurangi warna dan toksisitas pewarna tekstil, serta mampu mendegradasi triarylmethana, indigoid, azo, dan pewarna anthraquinon. Jamur *Pleurotus ostreatus* dilaporkan mampu mendegradasi Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAHs) benzo [a] anthracene, chrysene, benzo[b]fluoranthene, benz[k]fluoranthene, benzo[a]pyrene, dibenzo[a,h]anthracene dan benzo [ghi]perylene pada tanah tidak steril, ada dan tidak ada Cadmium dan merkuri (Baldrian *et al.*, 2000). Cadmium dan merkuri adalah logam berat yang berpengaruh pada aktivitas enzim jamur.

Begitu pentingnya peran jamur pengurai lignin dalam bidang industri dan lingkungan, maka isolasi jamur ini terus dilakukan di beberapa lokasi, salah satunya di Hutan Bukit Bangkirai. Hutan Bukit Bangkirai yang terletak di Propinsi Kalimantan Timur merupakan kawasan hutan yang dilindungi; hutan didominasi oleh pohon Bangkirai (*Shorea laevis* Ridl). Di kawasan hutan ini populasi jamur berkembang dengan baik. Sampai saat ini penelitian mengenai jamur pengurai lignin di Kawasan Bukit Bangkirai belum banyak dilakukan.

Tujuan penelitian

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dalam upaya mengeksplorasi dan memperoleh isolat jamur yang memiliki kemampuan tinggi dalam mendegradasi senyawa lignin.

BAHANDANMETODE

Bahan yang dibutuhkan adalah amplop jamur, kantung plastik, pisau, spidol, kaca pembesar, pengering jamur, ose jamur, media PDA, kertas label, test tube, petridish, erlemeyer 100cc, shaker, media mengandung poly R-478 (KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, K_2HPO_4 , $(\text{NH}_4)_2$ tartrat, sorbose, Poly R-478, Agar, Stok mineral), kertas saring Whatman No 1, neraca, oven, sentrifus dan spektrofotometer.

Koleksi dan isolasi jamur

Koleksi jamur berpori anggota Aphyloporales dilakukan di Hutan Lindung Bukit Bangkirai, Kalimantan Timur. Koleksi dilakukan pada plot-plot permanen (ekologi) yang telah dibuat oleh Profesor

Suzuki pada Januari 2000. Jamur hasil koleksi dimasukkan amplop. Sebagian jamur diambil yang segar kemudian dicuplik sedikit dan dimasukkan pada media PDA, dibiarkan sampai miselium tumbuh. Setelah tumbuh miselium jamur dipindahkan pada media PDA baru untuk pemurnian. Setelah murni, isolat disimpan dalam refrigerator. Sebagian lagi dikeringkan di pengering selama 24 jam pada suhu sekitar 40°C.

Identifikasi

Identifikasi jamur dilakukan dengan melihat bentuk tubuh buah jamur dan ukuran spora masing-masing jamur kemudian mencocokkan dengan buku pegangan (literatur), untuk menentukan jenis jamur yang diperoleh. Buku acuan yang digunakan adalah *The Fungi* Vol IVB (GC Ainsworth, FK Sparrow and AS Sussman, 1973) dan *A Preliminary Polypore Flora of East Africa* (L Ryvardeen and I Johansen, 1980).

Pertumbuhan isolat jamur pada media lignin

Isolat jamur yang sudah murni, masing-masing kemudian ditumbuhkan pada media padat mengandung lignin sederhana (poly R-478) pada cawan petri. Kemudian biakan diinkubasi pada suhu kamar selama satu minggu. Setelah itu dilakukan pengamatan; isolat jamur yang membentuk zona bening di sekitar koloni berarti menghasilkan ligninase. Zona bening merupakan hasil penguraian poly R-478 oleh enzim yang dihasilkan jamur. Isolat yang membentuk zona bening besar yaitu diameter di atas 0,6 cm dipisahkan dari isolat yang membentuk zona bening kecil atau diameter kurang dari 0,5 cm. Isolat yang membentuk zona bening besar kemudian diseleksi lebih lanjut.

Pengukuran bobot biomassa

Isolat jamur yang membentuk zona bening besar kemungkinan menghasilkan ligninase lebih besar. Isolat-isolat ini kemudian ditumbuhkan pada media cair mengandung poly R-478. Kultur kemudian diinkubasi pada suhu kamar, di atas shaker dengan kecepatan 115 rpm. Setelah 7 hari kemudian, miselium jamur yang tumbuh pada media cair disaring menggunakan kertas saring Whatman No 1; kemudian dikering-oven selama 24 jam pada suhu 80°C (Garraway dan Evans, 1991). Setelah itu berat miselium ditimbang, yaitu selisih berat antara kertas saring kosong dan kertas saring + miselium.

Pola pertumbuhan jamur

Isolat jamur yang menghasilkan bobot miselium paling besar kemungkinan mempunyai aktivitas enzim ligninase paling besar pula. Isolat ini dipilih untuk diamati pola pertumbuhannya. Isolat terpilih ditumbuhkan pada media cair mengandung poly R-478. Setiap hari ditentukan bobot miseliumnya sampai hari ke7.

Kemampuan degradasi jamur terhadap Poly R-478

Isolat jamur terpilih ditumbuhkan pada media cair mengandung poly R-478 untuk memperbanyak miselium. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang di atas shaker dengan kecepatan 115 rpm. Setelah 7 hari miselium dipanen dengan cara sentrifugasi, kemudian miselium disimpan di dalam buffer sitrat.

Untuk menguji kemampuan degradasi jamur terhadap poly R-478, 9 ml buffer sitrat mengandung poly R-478 sebanyak 200 ppm ditambah 1 ml miselium jamur dalam buffer sitrat, kemudian dinkubasi di atas shaker dengan kecepatan 115 rpm. Kandungan poly R-478 ditentukan pada lama inkubasi 0,30,90 dan 150

menit, menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm dan 350nm (Moreira *et al.*, 2004).

HASIL

Dari tiga tempat di Hutan Bukit Bangkirai, diperoleh sebanyak 24 isolat jamur anggota Aphillophorales. Semua isolat ini tumbuh pada kayu baik masih hidup maupun yang sudah mati (Tabel 1).

Isolat jamur yang berhasil diisolasi dari lapangan dibawa ke laboratorium, kemudian ditumbuhkan pada media mengandung lignin sederhana (poly R-478).

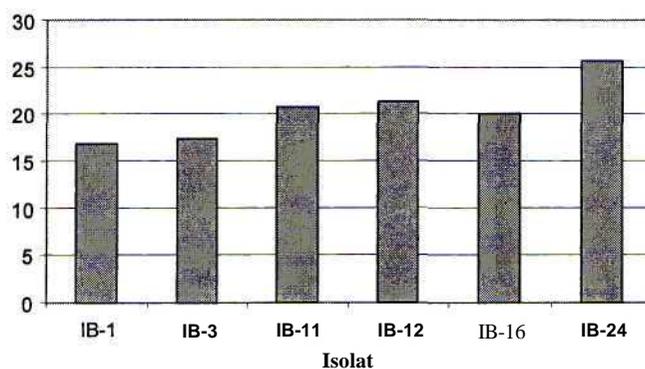
Hasil menunjukkan bahwa tidak semua isolat dapat membentuk zona bening (*clear zona*) pada media mengandung poly R-478. Zona bening ini terbentuk sebagai hasil degradasi enzim jamur terhadap poly R-478. Enam isolat membentuk zona bening besar, dengan diameter di atas 0,6 cm (++), 6 isolat membentuk zona bening kecil dengan diameter kurang dari 0,5 cm (+)

Tabel 1. Hasil isolasi jamur berpori di Bukit Bangkirai

| No | Kode Isolat | Nama Jamur |
|----|-------------|-----------------------------------|
| 1 | IB-1 | <i>Rigidoporns vinctus</i> |
| 2 | IB-2 | <i>Cyclomyces tabacinus</i> |
| 3 | IB-3 | <i>Pyrofomes albomarginatus</i> |
| 4 | IB-4 | <i>Ganoderma chaliceum</i> |
| 5 | IB-5 | <i>Ganoderma australe</i> |
| 6 | IB-6 | <i>Microporus xanthops</i> |
| 7 | IB-7 | <i>Nigroporus durus</i> |
| 8 | IB-8 | <i>Hyphodontia sp.</i> |
| 9 | IB-9 | <i>Eariella scabrosa</i> |
| 10 | IB-10 | <i>Hymenochaeta sp.</i> |
| 11 | IB-11 | <i>Ganoderma australe</i> |
| 12 | IB-12 | <i>Grammothele lineata</i> |
| 13 | IB-13 | <i>Ganoderma chaliceum</i> |
| 14 | IB-14 | <i>Phellinus pectinatus</i> |
| 15 | IB-15 | <i>Phellinus lamaensis</i> |
| 16 | IB-16 | <i>Coriolopsis strumosa</i> |
| 17 | IB-17 | <i>Stereum lobatum</i> |
| 18 | IB-18 | <i>Ganoderma australe</i> |
| 19 | IB-19 | <i>Panus sp.</i> |
| 20 | IB-20 | <i>Phellinus lamaensis</i> |
| 21 | IB-21 | <i>Steccherinum sp.</i> |
| 22 | IB-22 | <i>Erythromyces crocicreas</i> |
| 23 | IB-23 | <i>Megasporoporia cavernulosa</i> |
| 24 | IB-24 | <i>Megasporoporia sp.</i> |

Tabel 2. Pertumbuhan isolat jamur pada media Poly R-478

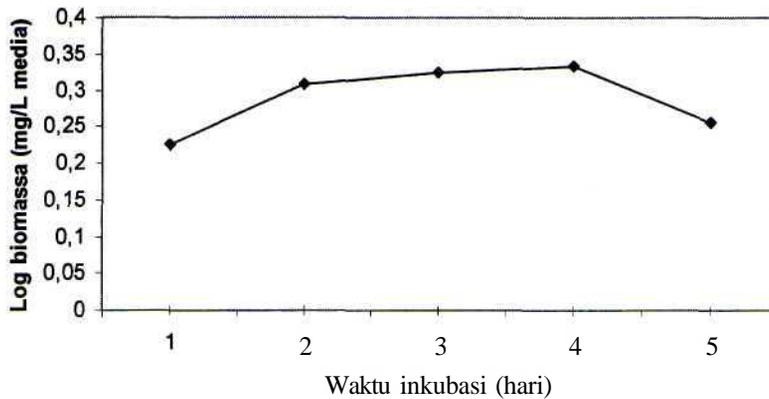
| No | Kode Isolat | Nama Jamur | Diameter " clear zone" | | |
|----|-------------|----------------------------------|------------------------|---------|------|
| | | | <0,5 cm | >0,6 cm | 0 cm |
| 1 | IB-1 | <i>Rigidoporus vinctus</i> | | ++ | |
| 2 | IB-2 | <i>Cyclomyces tabacinus</i> | | | - |
| 3 | IB-3 | <i>Pyrofomes albomarginatus</i> | | ++ | |
| 4 | IB-4 | <i>Ganoderma chalceum</i> | + | | |
| 5 | IB-5 | <i>Ganoderma australe</i> | | | - |
| 6 | IB-6 | <i>Microporus xanthops</i> | | | - |
| 7 | IB-7 | <i>Nigroporus durus</i> | + | | |
| 8 | IB-8 | <i>Hyphodontia sp</i> | | | - |
| 9 | IB-9 | <i>Eariella scabrosa</i> | + | | |
| 10 | IB-10 | <i>Hymenochaeta sp</i> | | | - |
| 11 | IB-11 | <i>Ganoderma australe</i> | | ++ | |
| 12 | IB-12 | <i>Grammothele lineata</i> | | ++ | |
| 13 | IB-13 | <i>Ganoderma chalceum</i> | | | - |
| 14 | IB-14 | <i>Phellinus pectinatus</i> | + | | |
| 15 | IB-15 | <i>Phellinus lamaensis</i> | + | | |
| 16 | IB-16 | <i>Coriolopsis strumosa</i> | | ++ | |
| 17 | IB-17 | <i>Stereum lobatum</i> | | | - |
| 18 | IB-18 | <i>Ganoderma australe</i> | | | - |
| 19 | IB-19 | <i>Panus sp</i> | | | - |
| 20 | IB-20 | <i>Phellinus lamaensis</i> | | | - |
| 21 | IB-21 | <i>Steccherinum sp</i> | | | - |
| 22 | IB-22 | <i>Erythromyces crocicreas</i> | + | | |
| 23 | IB-23 | <i>Megasporoporia cavemulosa</i> | | | - |
| 24 | IB-24 | <i>Megasporoporia sp</i> | | ++ | |

Bobot kering miselium (g/L media)**Gam bar 1.** Bobot miselium 6 isolat jamur pada media mengandung Poly R-478

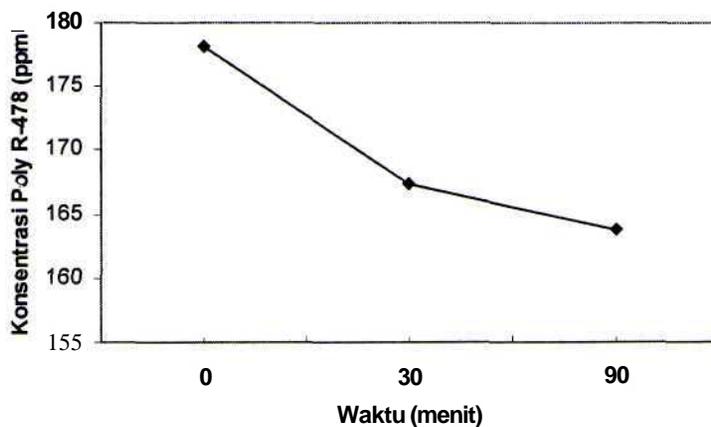
dan 12 isolat tidak membentuk zona bening (-) (Tabel 2).

Selanjutnya 6 isolat jamur yang menghasilkan zona bening besar yaitu IB-1, IB-3, IB-11, IB-12, IB-16, dan IB 24 ditumbuhkan lagi pada media cair mengandung poly R-478. Setelah 7 hari dilakukan

pemanenan miselium menggunakan sentrifus. Isolat yang menghasilkan bobot miselium besar berarti menghasilkan ligninase tinggi. Dari 6 isolat yang dicoba ternyata isolat IB-24 yaitu jamur *Megasporoporia sp.* menghasilkan bobot miselium paling tinggi, kemudian IB-12, IB-11, IB-16, IB-3, dan terakhir IB-1 (Gambar 1).



Gambar 2. Pola pertumbuhan jamur *Megasporoporia* sp IB-24 pada media Poly R-478



Gambar 3. Kemampuan degradasi jamur *Megasporoporia* sp IB-24 terhadap Poly R-478

Jamur *Megasporoporia* sp. IB-24 ditumbuhkan lagi pada media cair mengandung poly R-478 untuk melihat pola pertumbuhannya. Dari Gambar 2 tampak bahwa pertumbuhan *Megasporoporia* sp. IB-24 pada media mengandung poly R-478 sebesar 200 ppm langsung mengalami fase eksponensial, dengan laju pertumbuhan (μ) sebesar 0,009 per jam, sedangkan waktu yang dibutuhkan untuk melipatgandakan biomassa(^) adalah 77jam.

Untuk melihat kemampuan degradasi jamur *Megasporoporia* sp. IB-24 terhadap poly R-478, kemudian miselium jamur ditumbuhkan pada bufer sitrat mengandung poly R-478. Setelah dilakukan pengamatan ternyata konsentrasi poly-R pada bufer mengalami penurunan dari 178,22 ppm (menit ke0) menjadi 163,87 ppm (setelah 90 menit) atau turun 8,05% dalam 90 menit. Kemampuan degradasi jamur adalah 0,1594 ppm per menit. Aktivitas enzim ligninase sebesar 159,4 U/L (Gambar 3).

PEMBAHASAN

Isolat jamur anggota Aphylophorales yang berhasil diisolasi dari Hutan Bukit Bangkirai sebanyak 24 isolat terdiri dari 19 jenis. Hasil ini terbilang masih sedikit karena koleksi jamur dilakukan pada musim kemarau, pada saat itu kondisi hutan kering sehingga hanya sedikit jamur yang membentuk tubuh buah. Dari hasil koleksi juga diperoleh jamur *Ganoderma australe*. Jamur ini memiliki kemampuan untuk mendegradasi senyawa lignin (Mendonca *et al.*, 2008). Selain itu juga diperoleh jamur *Phellinus pectinatus* dan *P. lamaensis* serta *Rigidoporus vinctus*. Dari penelitian yang dilakukan Rosli *et al.* (2007) jamur *Phellinus noxius*, *Rigidoporus vinctus* dan *R. lignosus* dapat menurunkan bobot kering (*weight loss*) test block kayu karet 11-30% selama 12 minggu. Berarti jamur tersebut menghasilkan enzim yang dapat menguraikan lignin,