

# ***Pretreatment dengan Phanerochaete chrysosporium dalam Hidrolisis Asam Encer Sludge Kertas***

## ***Pretreatment with Phanerochaete chrysosporium in Paper Sludge Dilute Acid Hidrolisis***

Elis Nina Herliyana<sup>1</sup>, Ai Rosah Aisah<sup>1</sup> dan Isroi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departemen Silviculture, Fakultas Kehutanan IPB

<sup>2</sup>Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia

### **ABSTRACT**

*Fungi Phanerochaete chrysosporium is one of Basidiomycetes, which is able to degrade lignocelluloses materials, such as paper sludge. The cellulose from paper sludge could be used as bioethanol raw materials, so there is need a delignification process in order to remove lignin. The delignification process could be performed by utilizing fungi P. chrysosporium as lignin degrading agent. In this work, duration of incubation (6 days, 12 days and control) and acid concentration (2.5 %, 5 % and control) factors were used to determine the reducing sugar content of paper sludge. The contents of cellulose and hemicelluloses exhibited increase as compared with those of control namely between 3.5-4.5% and 0.4-1.7% respectively, whereas kappa number exhibited decrease as compared to control namely between 10.2-15%. The enzyme activities of LiP, MnP and cellulase of 6 days incubation as much as 0.789 and 0.062, and 0 U/ml, whereas those of 12 days incubation as much as 0, 0.069 and 0.165 U/ml. The reducing sugar produced was still relatively low, namely between 0.3x10<sup>-2</sup>-2.6 g/l. Factor of acid concentration gave significant effect on reducing sugar produced, and on the basis of Duncan advanced test, each level of the acid concentration differed significantly from each other.*

**Key words:** Paper sludge, *Phanerochaete chrysosporium*, Reducing sugars.

### **PENDAHULUAN**

Indonesia memiliki kekayaan alam yang beraneka ragam untuk memenuhi kebutuhan sandang, pangan dan papan. Salah satu contoh kekayaan alam tersebut adalah hutan yang dapat menghasilkan produk berupa kayu maupun non-kayu. Hasil non-kayu dari hutan juga dapat memberi banyak manfaat bagi kehidupan manusia. Diantara hasil tersebut yaitu buah-buahan, tanaman obat, rotan, dan jamur pelapuk kayu.

Jamur *Phanerochaete chrysosporium* merupakan jamur pelapuk putih (*white rot-fungi*) dari kelas Basidiomycetes yang mampu mendegradasi lignoselulosa. Ketersediaan bahan lignoselulosa di Indonesia cukup banyak, hal ini didukung dengan terus berkembangnya industri pertanian dan kehutanan yang banyak menghasilkan limbah lignoselulosa. Sebagai contoh, yaitu *sludge* (limbah padat) kertas yang diproduksi oleh P.T. Pindo Deli Pulp and Paper Mills pada tahun 2006 yaitu sebanyak 1000-1500 ton/bulan. *Sludge* kertas biasanya tersedia melimpah di pabrik kertas dan belum dimanfaatkan secara ekonomis. Salah satu cara untuk mengatasi hal tersebut yaitu dengan memanfaatkannya sebagai bahan baku bioetanol.

Bioetanol merupakan salah satu bahan bakar biologi (*biofuel*) yang saat ini mulai diminati sebagai bahan bakar pengganti bensin. Hal ini dikarenakan selain ramah lingkungan, bioetanol merupakan sumber energi yang dapat diperbaharui dan ketersediaan bahan bakunya melimpah. Bioetanol dari bahan lignoselulosa pada umumnya diperoleh dari fraksi selulosa dan

hemiselulosa karena lignin tidak dapat digunakan untuk produksi etanol melalui proses hidrolisis. Oleh karena itu perlu dilakukan delignifikasi untuk memisahkan selulosa dan hemiselulosa dari ikatan lignin. Proses delignifikasi dapat menggunakan jamur pelapuk putih sebagai tahap *pretreatment*. Hal ini dapat dilakukan dengan memanfaatkan jamur *P. chrysosporium*, karena memiliki kemampuan untuk mendegradasi lignin melalui enzim ekstraseluler yang disekresikan oleh hifa. Sebelum *sludge* kertas menjadi etanol, gula pereduksi dari hidrolisat perlu diketahui terlebih dahulu. Hal ini dilakukan untuk memperkirakan jumlah etanol yang akan diperoleh. Adapun cara untuk memperoleh gula pereduksi yaitu dengan hidrolisis asam encer yang sebelumnya dilakukan *pretreatment* dengan menggunakan jamur pelapuk putih.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengamati pertumbuhan diameter dan penyebaran koloni isolat jamur *P. chrysosporium* pada media PDA dan *sludge* kertas serta menentukan tingkat degradasi dan laju dekomposisi *sludge* kertas sebagai pengaruh dari lama inkubasi jamur. Penelitian ini juga bertujuan untuk menentukan komponen kimia *sludge* kertas dan aktivitas enzim dari isolat jamur *P. chrysosporium* sebagai pengaruh dari lama inkubasi serta menentukan gula pereduksi yang dihasilkan sebagai pengaruh dari lama inkubasi dan konsentrasi asam.

## BAHAN DAN METODE

### Persiapan Bahan

Kegiatan ini meliputi penyediaan dan pengeringan *sludge* kertas, pembuatan media PDA dan MEL serta perbanyak isolat jamur *P. chrysosporium*. *Sludge* kertas dikeringudarkan di rumah kaca kemudian dioven pada suhu lebih kurang 60°C selama 24 jam. Perbanyak isolat *P. chrysosporium* dilakukan di *laminar air flow* dengan kondisi steril. Biakan isolat *P. chrysosporium* diperbanyak di cawan Petri berisi media PDA yang telah disterilkan dengan autoklaf. Kultur ini diinkubasi pada suhu ruang dan dilakukan pengamatan dari hari ke-6 sampai semua permukaan media dipenuhi oleh koloni jamur.

### Inokulasi Isolat

Koloni isolat jamur yang telah memenuhi cawan Petri diinokulasikan ke dalam botol kaca yang berisi media MEL. Isolat jamur dalam botol kaca selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang sampai terlihat ada pertumbuhan koloni isolat jamur. Ketika diameter koloni isolat jamur mencapai ukuran lebih kurang 1-2 cm, botol kaca dikocok sampai koloni isolat jamur hancur. Setelah mencapai 5-10 hari inkubasi, isolat pada media cair diambil sebanyak 10 ml untuk diinokulasikan pada botol kaca yang berisi media *sludge* kertas lalu diaduk. Isolat kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 6 dan 12 hari.

### Persentase Penurunan Bobot Kering dan Laju Dekomposisi *Sludge* Kertas

Penentuan persentase kehilangan bobot kering *sludge* kertas dapat dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{Penurunan bobot } \textit{sludge} \textit{ kertas hari ke-t (\%)} = \frac{\text{BKO hari ke-0} - \text{BKO hari ke-t}}{\text{BKO hari ke-0}} \times 100\%$$

Keterangan: BKO = Berat Kering Oven (gram)

Penentuan laju dekomposisi *sludge* kertas dapat dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$-k = \frac{\ln\left(\frac{x_t}{x_0}\right)}{t}$$

Keterangan: k = laju dekomposisi *sludge* kertas (gram/hari)

$x_0$  = Berat kering oven hari ke-0 (gram)

$x_t$  = Berat kering oven hari ke-t (gram)

t = Lama waktu inkubasi (hari)

### Analisis Komponen Kimia *Sludge* Kertas Setelah Inkubasi Jamur

#### Kadar Holoselulosa

Kadar holoselulosa dilakukan berdasarkan TAPPI T 9 m-54.

$$\text{Holoselulosa (\%)} = \frac{A}{B} \times 100\%$$

Keterangan: A = Berat holoselulosa (gram)

B = BKT bebas ekstraktif (gram)

#### Kadar Selulosa

Penentuan kadar selulosa dilakukan berdasarkan TAPPI T 17 m-55.

$$\text{Selulosa (\%)} = \frac{A}{B} \times 100\%$$

Keterangan: A = Berat selulosa (gram)

B = BKT bebas ekstraktif (gram)

#### Kadar Hemiselulosa

Kadar hemiselulosa diperoleh dengan mengurangi kadar holoselulosa dengan kadar selulosa. Kadar hemiselulosa dihitung dengan persamaan:

$$\text{Hemiselulosa (\%)} = A - B$$

Keterangan: A = Holoselulosa (%)

B = Selulosa (%)

#### Bilangan Kappa

Penentuan bilangan kappa dilakukan berdasarkan TAPPI T 236 cm-85.

Perhitungan nilai bilangan kappa adalah sebagai berikut:

$$K = \frac{P \times F}{W}$$

$$\text{dimana } P = \frac{B - A}{0.1} \times N$$

Keterangan:

K = Bilangan kappa (ml/g)

P = ml larutan kalium permanganat yang terpakai dalam titrasi contoh

F = Faktor koreksi

W = Berat kering tanur contoh (g)

B = ml larutan natrium thiosulfat yang terpakai oleh titrasi blanko

A = ml larutan natrium thiosulfat yang terpakai oleh titrasi contoh

N = Normalitas larutan thiosulfat

Kadar lignin diperoleh melalui konversi:

$$\text{Lignin (\%)} = \text{Bilangan kappa} \times 0.147$$

### Uji Aktivitas Enzim Ligninase dan Selulase

#### Aktivitas Enzim LiP

Aktivitas enzim LiP dianalisis berdasarkan reaksi dengan veratil alkohol pada panjang gelombang 310 nm (Tien dan Kirk 1984). Untuk perhitungan aktivitas enzim menggunakan rumus sebagai berikut:

Aktivitas enzim (U/ml)

$$= \frac{(A_t - A_0) \times V_{\text{tot}} \text{ (ml)} \times 10^5}{\epsilon_{\text{maks}} \times d \times \text{Vol enzim (ml)} \times t}$$

Keterangan:  $\epsilon_{\text{maks}}$  = absorpsivitas molar veratil alkohol (9300 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>)

d = tebal kuvet (cm)

t = waktu (menit)

#### Aktivitas Enzim MnP

Aktivitas enzim MnP diukur berdasarkan reaksi dengan guaiakol pada panjang gelombang 465 nm (Fujita *et al.* 1992 dalam Fitria 2005). Perhitungan

aktivitas enzim diperoleh dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Aktivitas enzim (U/ml)} = \frac{(\text{At}-\text{A0}) \times V_{\text{tot}} (\text{ml}) \times 10^9}{\epsilon_{\text{maks}} \times d \times \text{Vol enzim (ml)} \times t}$$

Keterangan:  $\epsilon_{\text{maks}}$  = absorpsivitas molar veratil alkohol (9300 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>)

d = tebal kuvet (cm)

t = waktu (menit)

Aktivitas enzim MnP setiap unit = A (U) – B (U)

#### Aktivitas Enzim Selulase (*Carboxy Methyl Cellulose*)

Penentuan nilai aktivitas CMC-ase dilakukan menurut Mandels *et al.* (1976) dalam Montesqrit (1998). Perhitungan untuk mendapatkan aktivitas enzim CMC-ase diperoleh dengan dasar bahwa 1  $\mu$  mol = 0.18 mg dan 1 unit aktivitas CMC-ase adalah 1  $\mu$  mol glukosa yang dihasilkan per menit. Apabila inkubasi dilakukan selama 30 menit, maka 1 mg glukosa yang dihasilkan per ml:

$$\text{Aktivitas enzim (U/ml)} = \frac{\text{Unit}}{0.18 \times \text{Vol enzim} \times t (\text{menit})}$$

Keterangan: t = Lama waktu inkubasi

#### Hidrolisis Asam Encer

*Sludge* kertas yang akan dihidrolisis diblender selama lebih kurang 4 detik untuk memperkecil ukuran. Setelah diblender, *sludge* kertas ditimbang sebanyak 10 gram, lalu dimasukkan ke dalam botol kaca. Berikutnya larutan asam encer sebanyak 30 ml ditambahkan ke dalam botol kaca, kemudian diaduk rata. Botol kaca selanjutnya ditutup dengan aluminium foil lalu panaskan di autoklaf dengan suhu 121°C tekanan 1 atm selama 30 menit. *Sludge* kertas yang sudah dihidrolisis kemudian disaring untuk memisahkan hidrolisat dengan sisa hidrolisis. Hidrolisat selanjutnya diukur pH nya dengan pH meter lalu dinetralkan dengan larutan NaOH. Apabila pH hidrolisat telah netral maka analisis gula pereduksi dapat dilakukan.

#### Analisis Gula Pereduksi

Penentuan gula reduksi dilakukan berdasarkan metode DNS (Miller 1959 dalam Hartadi 1989). Langkah pertama adalah membuat larutan glukosa standar dan pengenceran sampel bahan. Selanjutnya sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu tambahkan 1 ml aquades (untuk blanko ditambahkan 2 ml aquades) diikuti dengan penambahan larutan DNS sebanyak 3 ml. Tabung reaksi kemudian digojog homogen dengan vortex dan setelah itu dilanjutkan dengan pemanasan dalam *water bath* selama 15 menit. Sebelum dilakukan pengukuran gula, tabung reaksi didinginkan terlebih dahulu selama lebih kurang 20 menit. Apabila tabung reaksi sudah dingin, maka sampel dimasukkan ke dalam spektrofotometer kemudian absorbansinya dibaca pada panjang gelombang 575 nm. Langkah berikutnya adalah membuat persamaan regresi hubungan antara absorbansi dengan kadar gula standar dan terakhir menentukan kadar gula sampel.

#### Rancangan Percobaan dan Analisis Data

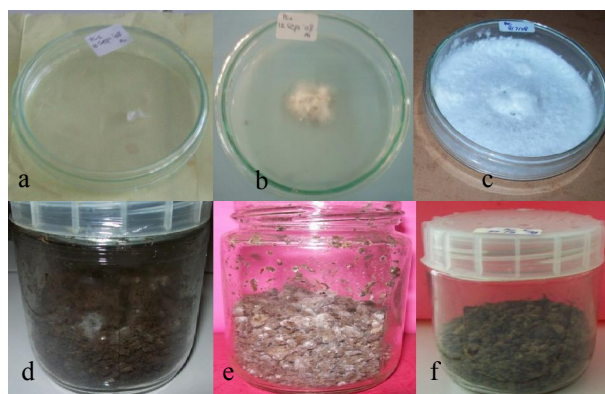
Penelitian ini menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan pola faktorial yang terdiri atas 2

faktor. Faktor pertama adalah waktu inkubasi jamur (A) dan faktor ke dua konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (B), yang terdiri atas: A0 = Kontrol (Tidak diinkubasi); A1 = Diinkubasi 6 hari; A2 = Diinkubasi 12 hari; B0 = Kontrol (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0%); B1 = Konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2.5%; B2 = Konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5%. Setiap faktor terdiri dari 3 taraf dan setiap kombinasi dilakukan 2 kali ulangan, sehingga terdapat 18 unit percobaan. Analisis data hasil pengamatan dilakukan dengan menggunakan program Minitab 15, SPSS 13 dan SAS 16.2.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Penampakan Visual Koloni Isolat Jamur *P. chrysosporium* pada Media PDA dan *Sludge* Kertas

Koloni isolat *P. chrysosporium* pada media PDA terlihat berwarna putih dan pertumbuhannya menuju ke segala arah, sedangkan pada *sludge* kertas, koloni isolat *P. chrysosporium* 6 hari inkubasi terlihat lebih sedikit dan kurang merata jika dibandingkan dengan 12 hari inkubasi (Gambar 1). Koloni isolat *P. chrysosporium* pada media PDA, di awal pertumbuhan terlihat tipis, akan tetapi seiring dengan lamanya waktu inkubasi koloni isolat *P. chrysosporium* akan semakin menebal. Penampakan visual koloni isolat *P. chrysosporium* pada *sludge* kertas setelah 6 hari inkubasi sudah terlihat tumbuh, akan tetapi *sludge* kertas masih terlihat berwarna hitam. Setelah 12 hari inkubasi, koloni isolat *P. chrysosporium* terlihat berwarna putih, tipis dan tersebar lebih merata jika dibandingkan dengan 6 hari inkubasi.

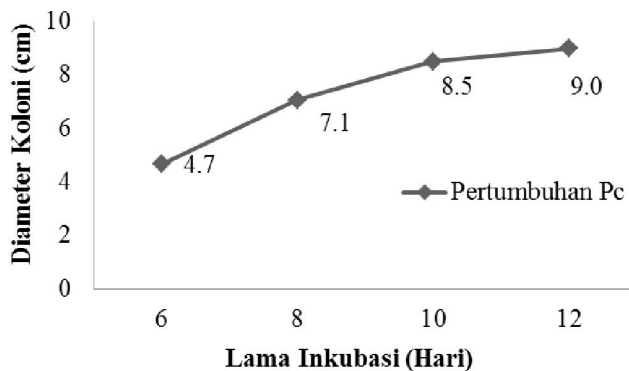


Gambar 1. Penampakan visual koloni isolat jamur *P. chrysosporium* pada media PDA (a. 0 hari inkubasi, b. 4 hari inkubasi, c. 14 hari inkubasi) dan *sludge* kertas (d. kontrol, e. 6 hari inkubasi, f. 12 hari inkubasi).

Sedikitnya koloni isolat jamur *P. chrysosporium* yang tumbuh pada *sludge* kertas dengan 6 hari inkubasi diduga terjadi karena beberapa faktor, misalnya pH dan kandungan nutrisi media. Berdasarkan analisis Widiastuti dan Panji (2008), *sludge* kertas memiliki pH 6.7, sedangkan pertumbuhan optimum jamur *P. chrysosporium* yaitu pada pH 5 (Rayner dan Lynne 1988).

### Pertumbuhan Diameter Koloni Isolat Jamur *P. chrysosporium* pada Media PDA dan Pertumbuhan Koloni Isolat Jamur *P. chrysosporium* pada *Sludge* Kertas

Diameter koloni isolat *P. chrysosporium* pada pengamatan hari ke-6 mencapai 4.7 cm. Gambar 2 menunjukkan bahwa diameter koloni terus bertambah pada masa inkubasi ke-8, 10 dan 12 hari, yaitu menjadi 7.1 cm, 8.5 cm dan 9.0 cm.



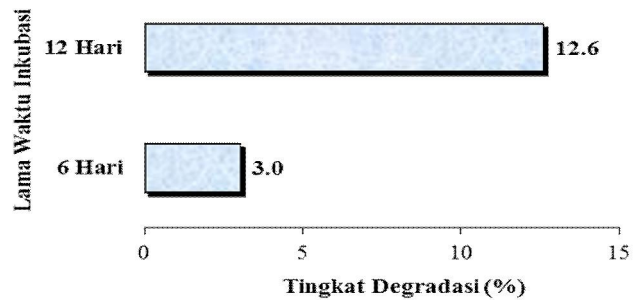
Gambar 2. Diameter koloni isolat jamur *P. chrysosporium* pada media PDA selama 12 hari inkubasi pada suhu ruang (29°C).

Menurut Herliyana (1997), kecepatan pertumbuhan diameter koloni isolat *P. chrysosporium* untuk memenuhi cawan Petri dipengaruhi oleh kondisi media dan lingkungan yang digunakan untuk pertumbuhannya. Kondisi media yaitu seperti kandungan nutrisi, kadar air dan tingkat keasaman, sedangkan kondisi lingkungan meliputi suhu dan kelembaban. Hasil penelitian Herliyana (1997) menunjukkan bahwa jamur *P. chrysosporium* memiliki kisaran suhu yang cukup lebar, yaitu dari 20 samapi dengan 42°C.

Pertumbuhan koloni isolat *P. chrysosporium* pada *sludge* kertas hanya diamati secara visual, yaitu melihat penyebaran koloni baik di bagian permukaan, pinggir dan bawah botol. Hal ini dikarenakan inokulum diinokulasikan secara merata pada *sludge* kertas. Oleh sebab itu, koloni bisa tumbuh di bagian permukaan, pinggir, dan bawah botol. Koloni isolat *P. chrysosporium* pada *sludge* kertas mulai terlihat tumbuh pada inkubasi hari ke-2. Koloni yang baru tumbuh pada umunya tipis dan hanya pada bagian tertentu saja, misalnya pinggir botol.

### Persentase Penurunan Bobot Kering dan Laju Dekomposisi *Sludge* Kertas

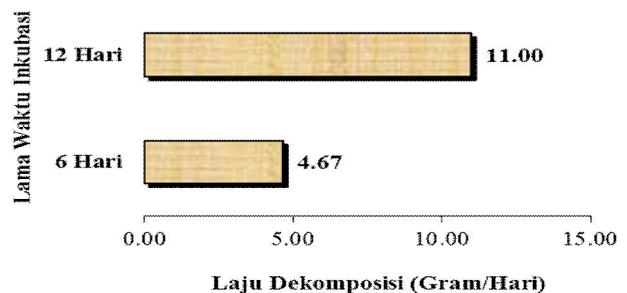
Berdasarkan Gambar 3, *sludge* kertas mengalami peningkatan nilai tingkat degradasi. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa faktor waktu inkubasi jamur memberi pengaruh sangat nyata pada taraf uji 5% terhadap tingkat degradasi *sludge* kertas. Tingkat degradasi tertinggi dimiliki oleh *sludge* kertas dengan 12 hari inkubasi, sedangkan tingkat degradasi terendah dihasilkan oleh *sludge* kertas dengan 6 hari inkubasi.



Gambar 3. Tingkat degradasi *sludge* kertas pada 6 dan 12 hari inkubasi.

Terjadinya degradasi *sludge* kertas selama waktu inkubasi diduga karena adanya enzim yang dikeluarkan oleh jamur *P. chrysosporium*. Enzim yang dikeluarkan oleh jamur mampu mengkatalis reaksi biokimia pada media lignoselulosa, sehingga holoselulosa dan lignin dapat dirombak menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana (Herliyana 1997). Menurut Tambunan dan Nandika (1989) dalam Herliyana (1997), senyawa-senyawa ini selanjutnya dapat diabsorpsi dan dimetabolisme oleh jamur.

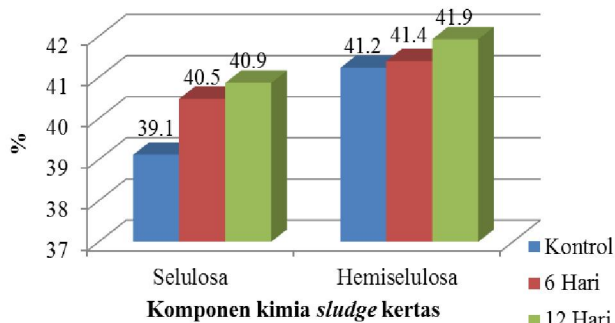
Tingkat degradasi berhubungan dengan laju dekomposisi yang merupakan penurunan bobot kering per satuan waktu. Laju dekomposisi *sludge* kertas selama waktu inkubasi mengalami peningkatan (Gambar 4). Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa faktor waktu inkubasi jamur memberi pengaruh nyata pada taraf uji 5% terhadap laju dekomposisi *sludge* kertas.



Gambar 4. Laju dekomposisi *sludge* kertas pada 6 dan 12 hari inkubasi.

### Komponen Kimia *Sludge* Kertas Setelah Inkubasi Jamur

Komponen kimia *sludge* kertas yang dianalisis meliputi kadar holoselulosa, selulosa dan bilangan kappa. Selama waktu inkubasi, kadar holoselulosa *sludge* kertas mengalami kenaikan. Hal ini dapat dilihat berdasarkan peningkatan kadar selulosa dan hemiselulosa selama masa inkubasi (Gambar 5). Peningkatan kadar holoselulosa diduga terjadi karena berkurangnya kadar lignin di dalam *sludge* kertas, sehingga rasio holoselulosa:lignin dalam *sludge* kertas menjadi meningkat. Berkurangnya kadar lignin dalam *sludge* kertas terjadi karena jamur *P. chrysosporium* mengeluarkan enzim ligninase yang mampu mendegradasi lignin.

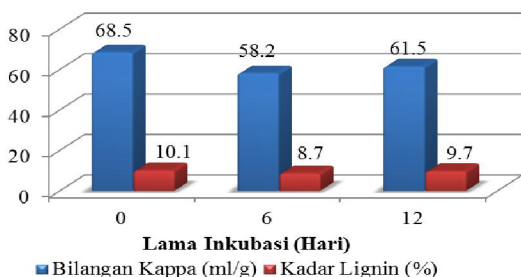


Gambar 5. Kadar selulosa dan hemiselulosa *sludge* kertas pada 6 dan 12 hari inkubasi.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa faktor waktu inkubasi memberi pengaruh nyata pada taraf uji 5% terhadap kadar holoselulosa *sludge* kertas. Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa kadar holoselulosa *sludge* kertas kontrol berbeda nyata dengan *sludge* kertas 6 dan 12 hari inkubasi. *Sludge* kertas 6 hari inkubasi berbeda nyata dengan kontrol dan *sludge* kertas 12 hari inkubasi. *Sludge* kertas 12 hari inkubasi berbeda nyata dengan kontrol dan *sludge* kertas 6 hari inkubasi.

Kadar selulosa *sludge* kertas yang diberi perlakuan jamur *P. chrysosporium* memiliki nilai yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan kontrol. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa faktor waktu inkubasi tidak memberi pengaruh nyata pada taraf uji 5% terhadap kadar selulosa *sludge* kertas.

Berdasarkan Gambar 6, bilangan kappa *sludge* kertas mengalami penurunan dibanding kontrol, yaitu berkisar antara 10.2 sampai dengan 15%, dan kadar lignin *sludge* kertas menurun berkisar antara 3.8 sampai dengan 13.9%. Penurunan bilangan kappa *sludge* kertas diduga terjadi karena adanya enzim ekstraseluler yang dikeluarkan oleh jamur *P. chrysosporium*. Enzim LiP dan MnP merupakan enzim peroksidase yang memiliki peranan sangat penting dalam proses biodelignifikasi (Puspita 2007). Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa faktor lama inkubasi jamur *P. chrysosporium* tidak memberi pengaruh nyata pada taraf uji 5% terhadap bilangan kappa *sludge* kertas.

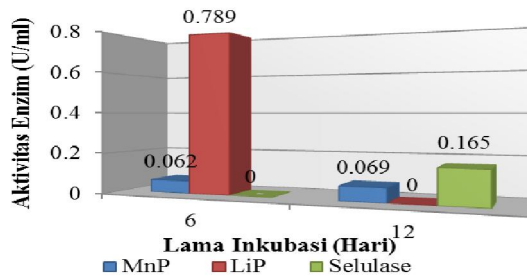


Gambar 6. Bilangan kappa dan kadar lignin *sludge* kertas pada 6 dan 12 hari inkubasi.

**Aktivitas Enzim Lignoselulase**

Aktivitas enzim setelah 6 hari inkubasi yaitu LiP sebesar 0.789 U/ml, MnP sebesar 0.062 U/ml, sedangkan aktivitas enzim selulase tidak terdeteksi (Gambar 7). Adapun aktivitas enzim setelah 12 hari

inkubasi yaitu enzim MnP sebesar 0.069 U/ml, selulase 0.165 U/ml, sedangkan aktivitas enzim LiP tidak terdeteksi.



Gambar 7. Aktivitas enzim isolat jamur *P. chrysosporium* pada 6 dan 12 hari inkubasi.

Setelah 6 hari inkubasi, aktivitas enzim LiP lebih besar dibandingkan dengan MnP dan selulase. Sedangkan setelah 12 hari inkubasi enzim selulase memiliki aktivitas lebih tinggi dibandingkan dengan LiP dan MnP. Enzim LiP atau MnP mampu mengoksidasi berbagai jenis substrat aromatik melalui oksidasi satu elektron (Wariishi 2000).

Degradasi lignin oleh jamur pelapuk putih telah dipelajari secara ekstensif, dan hasil menunjukkan bahwa fenoloksidase ekstraseluler diberi nama LiP, MnP dan lakase (*Lac*), ketiganya memiliki respon untuk memulai depolimerisasi lignin. Pola ekspresi dari enzim ini tergantung dari jenis mikroorganismenya, ada yang mengeluarkan enzim LiP dan MnP tanpa lakase, dan ada juga yang mengeluarkan enzim MnP dan lakase tanpa LiP (Ohkuma *et al.* 2001).

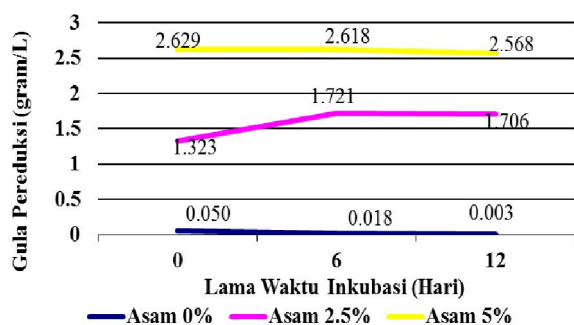
Berdasarkan Gambar 7 aktivitas enzim selulase hanya terdeteksi setelah 12 hari inkubasi. Hal ini diduga terjadi karena pada awal inkubasi jamur *P. chrysosporium* mengeluarkan enzim ligninase untuk mendegradasi lignin. Menurut Eriksson *et al.* (1990), enzim selulase didefinisikan sebagai enzim yang menghidrolisis selulosa menjadi larutan gula. Enari (1983) menyebutkan bahwa jamur yang baik untuk memproduksi enzim selulase adalah *Trichoderma reesei*, *T. viride*, *Aspergillus terreus*, *A. niger*, *Fusarium sola* dan *P. chrysosporium*.

**Gula Pereduksi**

Gula pereduksi adalah gula sederhana hasil hidrolisis karbohidrat kompleks, contohnya adalah glukosa (Devis 2008). Gambar 8 menunjukkan bahwa gula pereduksi yang dihasilkan hidrolisat *sludge* kertas berkisar antara  $0.3 \times 10^{-2}$  samapi dengan 2.6 g/l atau kurang dari 0.3%.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa faktor lama inkubasi jamur dan interaksi antara faktor lama inkubasi jamur dengan faktor konsentrasi asam tidak memberi pengaruh nyata pada taraf uji 5% terhadap gula pereduksi yang dihasilkan, sedangkan faktor konsentrasi asam memberi pengaruh nyata pada taraf uji 5% terhadap gula pereduksi yang dihasilkan. Tidak berpengaruhnya faktor lama inkubasi jamur *P. chrysosporium* terhadap hasil gula pereduksi *sludge* kertas, bukan berarti jamur *P. chrysosporium* tidak

memiliki kemampuan untuk merombak lignoselulosa dalam *sludge* kertas. Hal ini diduga disebabkan oleh faktor *sludge* kertas itu sendiri.



Gambar 8. Pengaruh waktu inkubasi jamur *P. chrysosporium* pada berbagai kondisi konsentrasi asam.

*Sludge* kertas yang digunakan sebagai media tumbuh jamur tidak dapat memenuhi kebutuhan nutrisi jamur. Selain karena kekurangan nutrisi, sifat fisik dari *sludge* kertas juga kurang baik untuk pertumbuhan jamur karena relatif padat. Kedua hal tersebut diduga dapat mengakibatkan pertumbuhan jamur tidak optimal, sehingga enzim-enzim yang dikeluarkan jamur juga kurang optimal dalam merombak lignoselulosa pada *sludge* kertas. Oleh sebab itu, gula pereduksi yang dihasilkan *sludge* kertas relatif sedikit karena selama proses hidrolisis asam berlangsung, lignin yang masih ada dalam *sludge* kertas tidak mudah dilepas dari ikatan selulosa.

Karena gula pereduksi yang dihasilkan *sludge* kertas masih relatif rendah maka hidrolisat yang diperoleh belum dapat difermentasi untuk menghasilkan etanol. Gula pereduksi yang dihasilkan dalam penelitian ini jauh lebih rendah jika dibandingkan dengan penelitian (Devis 2008) yang menghasilkan gula pereduksi sebesar 16 g/l. Amerine *et al.* (1980) dalam Devis (2008) menyatakan bahwa glukosa dapat difermentasi dengan baik pada kadar gula pereduksi 15 sampai dengan 20%. Higinis *et al.* (1984) dalam Hartoto *et al.* (1991) menyatakan bahwa konsentrasi gula yang baik untuk fermentasi etanol adalah 16 sampai dengan 25%, yang akan menghasilkan etanol sebesar 6 sampai dengan 12% (b/v). Apabila konsentrasi gula lebih tinggi, misalnya di atas 25% maka khamir tidak akan memfermentasi lagi karena kadar gula yang ada terlalu pekat sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

Berdasarkan hasil uji lanjut Duncan, konsentrasi asam 0% berbeda nyata dengan konsentrasi asam 2.5 dan 5%. Konsentrasi asam 2.5% berbeda nyata dengan konsentrasi asam 0 dan 5%. Konsentrasi asam 5% berbeda nyata dengan konsentrasi asam 0 dan 2.5%.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Koloni isolat jamur *P. chrysosporium* yang diinokulasikan pada media PDA dapat mencapai diameter maksimum pada cawan Petri diameter 9 cm setelah 12 hari inkubasi dan koloni isolat jamur yang

diinokulasikan pada media *sludge* kertas terlihat merata setelah 12 hari inkubasi. Inkubasi isolat jamur *P. chrysosporium* selama 12 hari telah menurunkan bobot kering *sludge* kertas dengan nilai tingkat degradasi tertinggi yaitu sebesar 12.6% dan laju dekomposisi sebesar 11 mg/hari.

Inkubasi isolat jamur *P. chrysosporium* menyebabkan perubahan terhadap nilai komponen kimia *sludge* kertas. *Sludge* kertas dengan 12 hari inkubasi memiliki kadar selulosa dan hemiselulosa tertinggi yaitu sebesar 40.9% dan 41.9%. Inkubasi isolat jamur *P. chrysosporium* juga mengakibatkan bilangan kappa *sludge* kertas menurun dan bilangan kappa terendah dimiliki oleh *sludge* kertas 6 hari inkubasi yaitu sebesar 58.2 ml/g. Menurunnya bilangan kappa *sludge* kertas diduga terjadi karena adanya enzim yang dikeluarkan isolat jamur *P. chrysosporium*. Aktivitas enzim yang terdeteksi selama waktu inkubasi yaitu enzim LiP, MnP dan selulase. Hidrolisis *sludge* kertas dengan konsentrasi asam 5% menghasilkan hidrolisat dengan gula pereduksi tertinggi yaitu sebesar 2.6 g/l. Karena gula pereduksi hidrolisat *sludge* kertas masih kurang dari 15%, maka proses fermentasi untuk menghasilkan etanol tidak dapat dilakukan.

*Sludge* kertas sebagai media tumbuh jamur *P. chrysosporium* perlu diberi bahan tambahan supaya tidak terlalu padat dan jamur dapat tumbuh dengan baik. Selain itu, perlu dicari metode lain untuk meningkatkan hasil gula pereduksi dari *sludge* kertas sehingga hidrolisat dapat difermentasi untuk menghasilkan etanol.

## DAFTAR PUSTAKA

- Devis FH. 2008. Bioetanol berbahan dasar ampas rumput laut *Kappaphycus alvarezii* [skripsi]. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB.
- Enari TM. 1983. Microbiol cellulase. Di dalam: Fogarty WM, editor. *Microbiol Enzyme and Biotechnology*. New York: Applied Science Publisher.
- Fitria R. 2005. Optimasi produksi enzim lignolitik oleh isolat A-1 dan *G. Lucidium* serta pemurnian parsial dan karakterisasi lakase [skripsi]. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Hartadi S. 1989. Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Industri. Yogyakarta: Pusat Antar Universitas Bioteknologi UGM.
- Hartoto L, Darnoko, Desrizal. 1991. *Fermentasi etanol secara sinambung dari limbah cairan pulp kakao dengan sel khamir imobil*. Di dalam: Prosiding Seminar Bioteknologi Perkebunan dan Lokakarya Biopolimer untuk Industri; Bogor, 10-11 Desember 1991. Bogor: PAU Bioteknologi IPB. hlm 190-205.
- Herliyana EN. 1997. Potensi *Schizophyllum commune* dan *Phanerochaete chrysosporium* untuk pemutihan pulp kayu *Acacia mangium* dan *Pinus merkusii* [tesis]. Bogor: Program Studi Entomologi/Fitopatologi Program Pascasarjana IPB.

- Montesqrit. 1998. Ekstraksi selulase dari kapang tanah dan aplikasinya dalam meningkatkan pencernaan pakan limbah berserat pada ruminansia [tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Ohkuma M, Maeda Y, Johjima T, Kudo T. 2001. Lignin degradation and roles of white rot fungi: study on an efficient symbiotic system in fungus-growing termites and its application to bioremediation. *RIKEN Review* 42: 39-42.
- P.T. Pindo Deli. 2006. Pemasangan boiler CFB dan penggunaan *sludge* kertas sebagai bahan bakar alternatif. <http://www.energyefficiencyasia.org/docs/casestudies/languages/Indo/Case%20studies%20Indo/Indonesia%20Bahasa/Pindo%20Deli%20-%20Installation%20of%20CFB%20Boiler%20and%20use%20paper%20sludge.pdf> [9 Agustus 2008].
- Puspita ID. 2007. Aktivitas enzim ligninase isolat *Pleurotus* spp. liar asal Bogor [skripsi]. Bogor: Departemen Silvikultur Fakultas Kehutanan IPB.
- Rayner ADM, Lynne B. 1988. *Fungal Decomposition of Wood Its Biology and Ecology*. New York: John Wiley and Sons.ltd.
- [TAPPI] Technical Association of The Pulp and Paper Industry. 1996. *TAPPI Test Method*. Atlanta: TAPPI Press.
- Tien M, Kirk TK. 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. *Proc Natl Acad Sci USA* 81: 2280-2284.
- Wariishi H. 2000. Fungal metabolism of enviromentally persistent compounds: substrate recognition and metabolic response. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 5: 422-430.
- Widiastuti H, Panji T. 2008. Pola aktivitas enzim ligninolitik *Pleurotus ostreatus* pada limbah *sludge* pabrik kertas. *Menara Perkebunan* 76 (1): 47-60.