

## Seleksi jamur penghasil enzim ligninase dan kemampuannya menguraikan limbah cair kelapa sawit

### The selection of ligninase enzyme producing fungi and their ability on palm oil liquid waste degradation

Y.B. SUBOWO

Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta Bogor Km 46, Cibinong, Bogor 16911, Jawa Barat. Tel./Fax. +62-21-8765066/+62-21-8765062, email: yosubowo@yahoo.com

Manuskrip diterima: 10 Agustus 2015. Revisi disetujui: 2 Oktober 2015.

**Abstrak.** Subowo YB. 2015. Seleksi jamur penghasil enzim ligninase dan kemampuannya menguraikan limbah cair kelapa sawit. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 1: 1766-1770*. Telah dilakukan penelitian mengenai seleksi jamur Basidiomycetes dan Ascomycetes yang menghasilkan enzim ligninase (Lignin Peroksidase, Mangan Peroksidase dan Lakase) untuk digunakan dalam degradasi limbah cair kelapa sawit (POME). Beberapa jenis jamur menghasilkan enzim ligninase, baik salah satu maupun ketiganya. Enzim-enzim ini dapat menguraikan senyawa lignin terutama enzim Lakase. Tujuan penelitian untuk memperoleh jamur yang mempunyai aktivitas Lakase tinggi dan mampu menguraikan limbah cair kelapa sawit. Jamur yang diuji meliputi: *Aspergillus niger* PA2, *Penicillium* sp.R7.5, *Pleurotus ostreatus*, dan *Lentinus edodes*. Limbah cair kelapa sawit diberi perlakuan miselium jamur kemudian diinkubasi selama 13-30 hari, hasil degradasi dibacapada spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Hasilnya *P. ostreatus* dan *L. edodes* menghasilkan enzim lakase, *L. edodes* mempunyai aktivitas Lakase lebih tinggi (9,54 unit/mL). *Penicillium* sp.R7.5 menghasilkan enzim Mangan Peroksidase (40,72 unit/mL). *P. ostreatus* menghasilkan ketiga enzim (LiP, MnP, Lac). *Penicillium* sp.R7.5 mampu mendegradasi Poly R-478 sebesar 16,46% setelah diinkubasi selama 30 menit. *P. ostreatus* mampu menurunkan warna limbah cair kelapa sawit paling tinggi (99,26%) setelah diinkubasi selama 30 hari. Dengan penambahan  $\text{CuSO}_4$  dan sukrosa pada media, *P. ostreatus* mampu menurunkan warna limbah cair kelapa sawit lebih cepat, yaitu sebesar 95,89% setelah inkubasi selama 13 hari.

**Kata kunci:** Enzim ligninase, degradasi, jamur, limbah, POME

**Abstract.** Subowo YB. 2015. *The selection of ligninase enzyme producing fungi and their ability on palm oil liquid waste degradation. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 1: 1766-1770*. Research on the selection of Basidiomycetes and Ascomycetes fungi that produce ligninase enzymes (Lignin peroxidase, Manganese peroxidase and Laccase) for use in the palm oil liquid waste (POME) degradation has been done. Some types of fungus produce ligninase enzymes, either one or all three of them. These enzymes can break down lignin compounds especially laccase enzyme. The aim was to obtain fungus with a high laccase activity that able to degrade the palm oil liquid waste. The fungi were tested: *Aspergillus niger* PA2, *Penicillium* sp.R7.5, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinus edodes*. Palm oil effluent treated with fungal mycelium then incubated for 13-30 days. The results were *P. ostreatus* and *L. edodes* produce laccase enzyme, *L. edodes* had a higher laccase activity (9.54 units/mL). *Penicillium* sp.R7.5 produce manganese peroxidase enzyme (40.72 units/mL). *P. ostreatus* produce three enzymes, LiP; MnP; and Lac. *Penicillium* sp.R7.5 is able to degrade Poly R-478 as much as 16.46% after incubation for 30 min. *Pleurotus ostreatus* had the highest palm oil waste decolorization result (99.26%) after 30 days incubation. With the addition of  $\text{CuSO}_4$  and sucrose in the media, *P. ostreatus* able to reduce color of palm oil liquid waste more quickly, as much as 95.89% after 13 days incubation.

**Keywords:** Ligninase enzymes, degradation, fungi, waste, POME

### PENDAHULUAN

Pada decade terakhir ini pengembangan perkebunan kelapa sawit di Indonesia semakin meningkat dan semakin besar. Pulau Sumatra terutama Sumatra Utara, Lampung dan Aceh merupakan pusat penanaman kelapa sawit yang pertama kali di Indonesia, kemudian berkembang ke Jawa Barat, Banten Selatan, Kalimantan Barat dan Timur, Riau, Jambi dan Irian Jaya (Prayitno et al. 2008). Industri yang berbasis kelapa sawit merupakan investasi yang relatif menguntungkan. Menurut Bahroeny (Ketua Umum Gapki Sumatra Utara) (2015) Industri kelapa sawit di Sumatra

Utara tahun 2013 menyumbang 7,75 juta dolar AS atau 81% dari total keseluruhan ekspor daerah sebesar 9,59 juta dolar AS. Namun sejumlah permasalahan juga ditimbulkan oleh industri ini. Setiap ton tandan buah segar yang diolah menghasilkan limbah cair sekitar 50% dibandingkan dengan total limbah lainnya dan tandan kosong sebanyak 23%. Produksi limbah cair pabrik kelapa sawit (palm oil mill effluent, POME) di Indonesia diperkirakan sebesar 28,7 juta ton/tahun (Irvan et al. 2012).

POME (*Palm Oil Mill Effluent*) adalah limbah cair kelapa sawit, kental berwarna kecoklatan, seperti bubur, suspensi dengan koloid tinggi dan memiliki bau yang tidak

enak (Achmad et al. 2009). POME merupakan sisa buangan berasal dari air kondensat rebusan tandan buah segar yang tidak bersifat toksik. POME memiliki konsentrasi *Biological Oxygen Demand* (BOD) besar (25.000 mg/L), *Chemical Oxygen Demand* (53.630 mg/L), minyak dan lemak (8370 mg/L) dan padatan terlarut (19.020 mg/L), pembuangan limbah di badan air tanpa perlakuan yang tepat akan berbahaya (Wu et al. 2007).

POME mengandung protein, karbohidrat, senyawa Nitrogen, lemak dan mineral dalam konsentrasi tinggi (Wu et al. 2007) dan merupakan limbah lignoselulosa yang dapat didegradasi oleh beberapa jamur yang menghasilkan enzim ligninase. Enzim ligninase yang terdiri dari: Lignin Peroksidase (LiP), Mangan Peroksidase (MnP) dan Lac (Lakase) mempunyai spesifikasi dalam mendegradasi senyawa lignin. LiP aktivitasnya bergantung pada H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. LiP memiliki kemampuan mengkatalisis beberapa reaksi oksidasi antara lain pemecahan ikatan C $\alpha$ -C $\beta$  rantai samping propil non fenolik komponen aromatic lignin, oksidasi bensil alcohol, oksidasi fenol, hidroksi benzilic nethylene group, dan pemecahan cincin aromatic komponen non fenoliksena lignin (Tien dan Kirk 1984). MnP mengoksidasi senyawa phenol menjadi phenoxy radical dengan oksidasi Mn (II) menjadi Mn (III) dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sebagai oksidan. MnP mengoksidasi banyak senyawa dari lignin sampai PAH. Lakase yang dihasilkan jamur adalah multi-tembaga fenol oksidase yang mengoksidasi berbagai senyawa fenolik dan amina aromatik menggunakan molekul oksigen sebagai terminal elektron akseptor (Janusz et al. 2013). Jamur penghasil enzim lignoselulolitik cukup banyak, meliputi jenis dari Ascomycetes contohnya *Trichoderma reesei*, Basidiomycetes kelompok *white-rot* misalnya *Phanerochaeta chrysosporium* dan kelompok brown-rot seperti *Fomitopsis palustris* (Dashtban et al. 2010). Sampai saat ini penggunaan jamur baik Basidiomycetes maupun Ascomycetes untuk mendegradasi POME belum banyak dilakukan sehingga dilakukan penelitian ini. Tujuan penelitian untuk melakukan seleksi jamur Ascomycetes dan Basidiomycetes dalam menghasilkan enzim ligninolitik (LiP, MnP, Lac) dan mampu mendegradasi POME serta memperoleh dataperengaruh penambahan CuSO<sub>4</sub> dan sukrosa pada kecepatan proses degradasi POME

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Mikroorganisme. Dalam penelitian ini digunakan 4 jenis jamur yaitu: *Penicillium* sp.R7.5 dan *Aspergillus niger* PA2 (Ascomycetes); *Pleurotus ostreatus* dan *Lentinus edodes* (Basidiomycetes). Isolat jamur berasal dari koleksi Bidang Mikrobiologi, Puslit Biologi-LIPI. Bahan untuk media: syringaldezine, guaiacol dan veratril alkohol.

### Pengukuran aktivitas Lignin Peroksidase (LiP)

Sebanyak 0,5 mL suspensi miselium ditambahkan ke dalam 2,5 mL buffer tartrat (pH 2,5), kedalamnya kemudian ditambahkan 1 mL veratril alkohol dan 1 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,4 mM. Campuran diinkubasi diatas shaker dengan kecepatan 115 rpm, pada suhu kamar, selama 15

menit, kemudian dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan miselium jamur dan filtratnya. Jumlah veratril aldehid yang terbentuk dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 310 nm. Sedangkan pada kontrol langsung dididihkan pada suhu 60°C selama 1 menit. Aktivitas enzim setara dengan satu unit enzim yang dihasilkan permenit.

### Pengukuran aktivitas Mangan Peroksidase (MnP)

Sebanyak 0,5 mL suspensi miselium ditambahkan ke dalam 1,5 mL buffer sitrat fosfat (pH 5,5). Ke dalam campuran ini ditambahkan 1 mL guaiacol 4 mM dan 1 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1mM. Campuran diinkubasi di atas shaker dengan kecepatan 115 rpm, pada suhu kamar, selama 15 menit. Kemudian dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan miselium dan filtratnya. Konsentrasi guaiacol dibaca pada panjang gelombang 465 nm.

### Pengukuran aktivitas Lakase (Lac)

Ke dalam tabung dimasukkan 2,20 mL buffer citrate posfat pH 6, ditambahkan 0,3 mL Syringaldezine 0,216 mM dalam methanol absolute, kemudian ditambahkan 0,5 mL suspensi miselium. Campuran diinkubasi pada suhu ruang di atas shaker dengan kecepatan 115 rpm selama 15 menit. Campuran disentrifugasi untuk memisahkan miselium jamur dan filtratnya. Jumlah syringaldehid yang terbentuk dibaca pada spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm. Aktivitas enzim dinyatakan dengan unit, 1 unit setara dengan 1  $\mu$ mol syringaldezine yang hilang permenit.

### Kemampuan degradasi jamur terhadap Poly R-478

Untuk menguji kemampuan degradasi jamur terhadap Poly R-478, 9 mL buffer sitrat mengandung Poly R-478 sebanyak 200 ppm direaksikan dengan 1 mL suspensi miselium jamur kemudian diinkubasi diatas shaker dengan kecepatan 115 rpm. Kandungan poly R-478 ditentukan setelah inkubasi 0 dan 30 menit menggunakan spektrofotometer Shimadzu UV mini 1240. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 520 nm.

### Kemampuan degradasi jamur terhadap limbah cair kelapa sawit (POME)

Sebanyak 50 mL POME dicampur dengan 175 mL aquades dimasukkan tabung Erlenmeyer berukuran 500 mL. Ke dalamnya ditambahkan glukosa 5 g, kemudian campuran disterilkan dalam autoclave. Setelah dingin ditambahkan suspensi miselium sebanyak 25 mL. Kultur diinkubasi pada suhu ruang, diatas shaker dengan kecepatan 115 rpm selama 30 hari. Setelah itu dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan miselium dan filtratnya, kemudian dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm.

### Pengaruh penambahan CuSO<sub>4</sub> dan sukrosa pada degradasi POME

Sebanyak 100 mL POME dicampur dengan 100 mL aquades kemudian ditambahkan 200  $\mu$ M CuSO<sub>4</sub> dan 15g/L sukrosa untuk campuran A. Sedangkan B: 100 mL POME ditambah 100 mL aquades; C: 100 mL POME ditambah 100 mL aquades dan 200  $\mu$ M CuSO<sub>4</sub> dan D: 100 mL POME ditambah 100 mL aquades dan 15 g/L sukrosa. Ke

empat campuran media disterilisasi di dalam autoclave pada 121°C selama 15 menit. Ke dalam masing-masing campuran ditambahkan 10% miselium jamur. Kultur diinkubasi pada suhu ruang di atas shaker dengan kecepatan 115 rpm selama 13 hari. Setelah itu dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan miselium dan filtratnya, kemudian dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

Dari hasil pengujian ternyata tidak semua jamur yang diuji menunjukkan adanya aktivitas Lignin Peroksidase pada media mengandung veratril alkohol, berarti tidak semua jamur yang diuji menghasilkan enzim tersebut. *Pleurotus ostreatus* menunjukkan adanya aktivitas enzim pada veratril alkohol. Aktivitas LiP dari jamur ini adalah 37,04 unit/mL (Gambar 1), sedang ke tiga jamur yang lain tidak ada aktivitas.

Selanjutnya keempat jamur diuji pada media mengandung guaiacol untuk mengetahui adanya aktivitas enzim Mangan Peroksidase (MnP) yang dihasilkan. Dari 4 jamur yang diuji, ketiga jamur menunjukkan adanya aktivitas pada media mengandung guaiacol yaitu paling tinggi *L. edodes* (63,09 unit/mL) kemudian *Penicillium* sp.R7.5 dan terkecil *P. ostreatus*, sedangkan *A. niger* PA2 tidak menunjukkan adanya aktivitas enzim MnP (Gambar 2).

Keempat jamur kemudian diuji pada media mengandung g syringaldezin untuk mengetahui adanya aktivitas enzim lakase. Dari 4 jamur yang diuji, dua jamur menunjukkan adanya aktivitas enzim lakase yaitu *L.edodes* yang lebih tinggi (9,54 unit/mL) kemudian *P.ostreatus* (8,29 U/mL). Sedangkan *Penicillium* sp.R7.5 dan *A. niger* PA2 tidak menunjukkan adanya aktivitas lakase (Gambar 3).

Selanjutnya keempat jamur ditumbuhkan pada media mengandung poly R-478 untuk mengetahui kemampuan menguraikan senyawa lignin. Hasilnya menunjukkan bahwa keempat jamur dapat mendegradasi poly R-478, paling tinggi *Penicillium* sp.R7.5 (16,46%) kemudian *P. ostreatus* (14,25%), *A.niger* (13,29%) dan terakhir *L. edodes* (10,72%) (Tabel 1).

Keempat jamur terbukti mampu mendegradasi lignin (poly R-478), kemudian jamur-jamur tersebut diuji pada limbah cair kelapa sawit (POME). Setelah POME diberi perlakuan miselium jamur kemudiandiinkubasi selama 30 hari, ternyata terjadi penurunan warna pada limbah cair semakin lama semakin jernih. Dari ke 4 jamur yang diuji, kemampuan paling besar ditunjukkan *P. ostreatus* dapat menurunkan warna sebesar 99,26% kemudian *L. edodes*, *A. niger* dan terakhir *Penicillium* sp.R7.5 (95,25%)(Tabel 2).

Aktivitas enzim jamur dalam mendegradasi POME dapat ditingkatkan kecepatannya dengan penambahan 200 µM CuSO<sub>4</sub> dan 15g/L sukrosa pada kultur. Penambahan CuSO<sub>4</sub> dan sukrosa pada limbah ternyata dapat mempercepat penurunan warna pada limbah cair kelapa sawit. *Pleurotus ostreatus* dapat menurunkan warna sebanyak 95,89% setelah inkubasi selama 13 hari. Hal ini lebih cepat bila dibandingkan dengan perlakuan di atas, *P.*

*ostreatus* menurunkan warna 99,26% setelah inkubasi 30 hari. Penambahan CuSO<sub>4</sub> sebanyak 200 µM pada kultur ternyata dapat meningkatkan proses penurunan warna POME oleh *L. edodes* setelah inkubasi selama 13 hari sebesar 95,53% (Tabel 3).

**Tabel 1.** Penurunan konsentrasi Poly R-478 oleh enzim jamur

Jamur	Konsentrasi awal (ppm)	Konsentrasi akhir (ppm)	Penurunan (ppm)	Persentase penurunan (%)
<i>Penicillium</i> sp.R7.5	94,82	79,21	15,61	16,46
<i>Aspergillus niger</i> PA2	94,82	82,21	12,61	13,29
<i>Pleurotus ostreatus</i>	94,82	81,30	13,52	14,25
<i>Lentinus edodes</i>	94,82	84,65	10,17	10,72

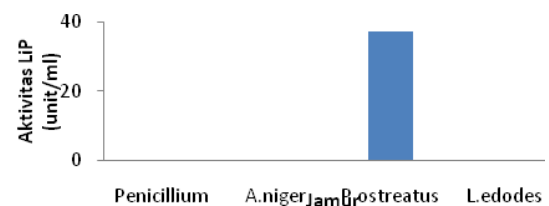
**Tabel 2.** Kemampuan jamur mendegradasi POME

Jamur	Absorbansi awal	Absorbansi akhir	Penurunan absorbansi	Persentase penurunan warna (%)
Kontrol	4,2420			
<i>Penicillium</i> sp.R7.5		0,2009	4,0411	95,26
<i>Aspergillus niger</i> PA2		0,1174	4,1146	97,23
<i>Pleurotus ostreatus</i>		0,0314	4,2106	99,26
<i>Lentinus edodes</i>		0,0377	4,2043	99,11

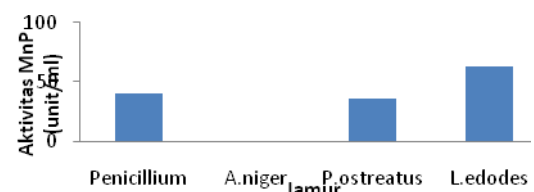
**Tabel 3.** Pengaruh penambahan CuSO<sub>4</sub> dan sukrosa terhadap degradasi POME

Media	Jamur	Absorbansi awal	Absorbansi akhir	Penurunan absorbansi	Persentase penurunan warna (%)
Kontrol	-	1,3740			
A	<i>P.ostreatus</i>		0,0564	1,3176	<b>95,89</b>
	<i>L. edodes</i>		0,0938	1,2802	93,17
B	<i>P.ostreatus</i>		0,0619	1,3121	95,49
	<i>L. edodes</i>		0,0624	1,3116	95,45
C	<i>P.ostreatus</i>		0,0579	1,3161	95,78
	<i>L. edodes</i>		0,0614	1,3126	<b>95,53</b>
D	<i>P.ostreatus</i>		0,1265	1,2475	90,79
	<i>L. edodes</i>		0,0764	1,2976	94,43

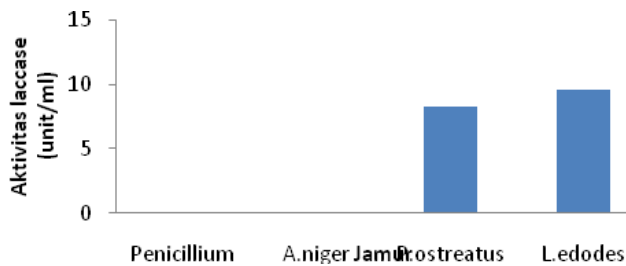
Keterangan: A: Limbah cair+CuSO<sub>4</sub>+ sukrosa, B: Limbah cair, C: Limbah cair+CuSO<sub>4</sub>, D: Limbah cair + sukrosa



**Gambar 1.** Aktivitas LiP dari keempat jamur yang diuji



**Gambar 2.** Aktivitas MnP dari keempat jamur yang diuji



Gambar 3. Aktivitas lakase dari keempat jamur yang diuji

### Pembahasan

Enzim lignin peroksidase merupakan enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh jamur untuk menguraikan senyawa lignin. Enzim ini mengoksidasi unit non fenolik lignin dengan melepaskan satu electron membentuk radikal kation yang kemudian akan terurai secara kimiawi. Tidak semua jamur yang diuji menghasilkan enzim ini, hanya jamur *P. ostreatus* yang menunjukkan adanya aktivitas enzim Lignin Peroksidase (LiP) pada veratril alcohol. Aktivitas LiP *P. ostreatus* cukup besar yaitu 37,04 unit/mL. Dengan dihasilkannya LiP, *P. ostreatus* akan dapat mendegradasi senyawa lignin yang ada pada limbah lignoselulosa. Patel et al. (2007) melaporkan bahwa *P. ostreatus* MTCC-142 merupakan penghasil LiP paling baik, jamur ini mempunyai aktivitas sebesar 3,50 IU/mL. Aktivitas LiP dari isolate yang dicoba masih lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian Sivakami et al. (2012) jamur *P. ostreatus* menghasilkan Lignin Peroksidase paling tinggi pada inkubasi 144 jam sebesar 1,5 U/mL. Sedangkan *L. edodes*, *A. niger* dan *Penicillium* sp.R7.5 tidak menghasilkan LiP. Hasil penelitian Buswell et al. (1995) *Lentinula edodes* strain LS4 menghasilkan MnP dan Lakase tetapi tidak menghasilkan LiP saat ditumbuhkan pada media dengan glukosa sebagai sumber carbon.

Mangan peroksidase juga enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh jamur, enzim ini digunakan untuk menguraikan lignin. MnP adalah salah satu enzim yang mampu mendepolimerisasi dan demetilisasi lignin (Hattaka 1994). Dari 4 jamur yang diuji 3 jamur menunjukkan adanya aktivitas Mangan Peroksidase pada media mengandung guaiacol yaitu *L. edodes* (63,09 U/mL), *Penicillium* sp. R7.5 (40,72 U/mL) dan *P. ostreatus* (36,02 U/mL). Yehia (2014) melaporkan bahwa *P. ostreatus* menghasilkan enzim Mangan Peroksidase, setelah dimurnikan enzim ini mempunyai aktivitas 81 U/mL dan mempunyai aktivitas spesifik 78 U/mg. Hasil ini lebih tinggi dibandingkan *P. ostreatus* yang diuji, dan enzim yang dihasilkan disini juga belum dimurnikan. *Lentinula edodes* juga menghasilkan MnP. Hermann et al. (2012) melaporkan bahwa *Lentinula edodes* dan *Lentinula boryana* menghasilkan enzim MnP pada submerged fermentasi system setelah 25 hari inkubasi, sebesar 20 UI/L dan 70 UI/L. *Penicillium* sp. R7.5 menghasilkan Mangan Peroksidase, hal ini juga dilaporkan oleh Yang et al. (2003) *Debaryomyces polymorphus*, *Candida tropicalis*, *Umbelopsis isabellina*, *Penicillium geastrivorus* dapat menurunkan warna secara sempurna 100 mg Reaktiv Black 5 (RB 5) dalam 16-48 jam. Aktivitas MnP antara 60-424

U/L terdeteksi pada supernatant. Jamur *Aspergillus niger* tidak menghasilkan enzim Mangan Peroksidase.

Lakase merupakan enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh jamur. Lakase termasuk kelompok enzim oksido-reduktase yang dapat berperan sebagai katalis suatu reaksi reduksi-oksidasi. Lakase dapat mengoksidasi substrat yang sesuai dan spesifik seperti orto difenol, para difenol, aminofenol, polifenol, poliamina, lignin, dan aril diamina (Puspita 2008). Dari 4 jamur yang diuji, 2 jamur menghasilkan enzim lakase yaitu *L. edodes* (9,54 U/mL) dan *P. ostreatus* (8,29 U/mL). sedangkan *Penicillium* sp.R7.5 dan *Aspergillus niger* PA2 tidak menghasilkan. Saeki et al. (2011) juga melaporkan bahwa *Lentinula edodes* menghasilkan enzim Lakase setelah perlakuan induksi, yaitu dengan menambahkan 2 mM  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  pada media dan diinkubasi selama 7 hari. *P. ostreatus* juga menghasilkan enzim lakase, Drita dan Rigas (2013) melaporkan perlakuan temperatur berpengaruh terhadap aktivitas lakase strain *P. ostreatus*. Pada *P. ostreatus* sp-3, aktivitas lakase paling tinggi 27,81 U/L pada suhu 30°C, *P. ostreatus* sp-4 aktivitas lakase paling tinggi 10,19 U/L pada suhu 20°C dan *P. ostreatus* sp-5 aktivitas lakase paling tinggi 9,69 U/L pada suhu 20°C. *Aspergillus niger* PA2 tidak menghasilkan enzim lakase. Vismanath et al. (2008) melaporkan hasil skrening jamur penghasil lakase dengan test plate menggunakan indikator guaiacol. Jamur-jamur yang menunjukkan positif menghasilkan lakase adalah *Phanerochaeta chrysosporium*, *Theliophora terristrus*, *Stereumostrea*, *Lenzites betulina*, *Chaetomium globosum*, *Penicillium rubrum*; sedang yang menunjukkan negative *Cunninghamella echinulata*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigates*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus sydowii*, *Paecilomyces variotii*.

Kemampuan degradasi lignin dapat diamati pada kemampuan enzim jamur menurunkan konsentrasi poly R-478 dalam media. Dari keempat jamur yang diuji, penurunan konsentrasi poly R paling besar terjadi pada jamur *Penicillium* sp.R7.5 (16,46 %), kemudian *P. ostreatus*, *A. niger* dan terakhir *L. edodes* setelah inkubasi selama 30 menit. Jamur *Penicillium* sp.R7.5 mempunyai kemampuan paling tinggi dalam mendegradasi Poly R-478 (lignin), walaupun jamur ini hanya menghasilkan MnP. Demikian juga *P. ostreatus* hanya mampu menurunkan poly R-478 sebesar 14,25%, walaupun jamur ini memiliki ke tiga enzim pengurai lignin (LiP, MnP dan Lac). Proses degradasi lignin oleh enzim jamur merupakan proses yang kompleks dan melibatkan sejumlah enzim yang belum semuanya diketahui. Moreira et al. (2001) melaporkan bahwa MnP menjadi factor utama yang bertanggung jawab atas penghilangan warna Poly R-478. Penambahan  $\text{H}_2\text{O}_2$  dengan teknik semikontinyu akan memperbesar proses dekolonisasi (48% setelah 2 jam). Jamur *P. ostreatus* lebih rendah kemampuannya dalam menguraikan poly R-478 dibandingkan *Penicillium* sp.R7.5 karena *P. ostreatus* memiliki aktivitas MnP (36,02 U/mL) lebih rendah dibandingkan *Penicillium* sp.R7.5 (40,72 U/mL).

Setelah mampu menguraikan poly R-478, keempat jamur dicoba untuk menguraikan limbah cair kelapa sawit (POME). Keempat jamur mampu menurunkan warna pada limbah cair kelapa sawit sehingga air menjadi lebih jernih

dibandingkan dengan kontrol (tanpa perlakuan jamur). *P. ostreatus* mempunyai kemampuan paling besar, menurunkan warna 99,26%. Jamur ini mempunyai ke tiga enzim ligninolitik (LiP, MnP, Lac) sehingga dapat menguraikan POME lebih cepat. Walaupun aktivitas lakase *P.ostreatus* lebih rendah dibandingkan *L. edodes*, namun enzim ligninolitik yang dihasilkan lebih lengkap, *L. edodes* hanya menghasilkan MnP dan Lakase. Hal ini kemungkinan berpengaruh pada kecepatan degradasi warna pada POME. Sedangkan *Penicillium* sp.R7.5 dan *Aspergillus niger* PA2 tidak menghasilkan lakase sehingga lebih lambat dalam mendegradasi dan dekolorisasi POME. Neoh et al. (2013) menggunakan jamur *Curvularia clavata* untuk mendegradasi dan dekolorisasi POME, setelah 5 hari terjadi penurunan warna sebesar 80%. Hasil ini masih lebih cepat dibandingkan hasil penelitian di atas.

Kemudian kedua jamur yang menghasilkan Lakase yaitu *P. ostreatus* dan *L. edodes* dicoba untuk mendegradasi dan dekolorisasi POME dengan menambahkan CuSO<sub>4</sub> dan sukrosa pada limbah. Penurunan warna POME tertinggi terjadi pada perlakuanjamur *P. ostreatus* yang ditambah dengan CuSO<sub>4</sub> dan sukrosa sebesar 95,89% setelah inkubasi 13 hari. Proses penurunan warna POME dengan perlakuan inilebih cepat dibandingkan tanpa penambahan CuSO<sub>4</sub> dan sukrosa. Penambahan CuSO<sub>4</sub> dan sukrosa meningkatkan aktivitas lakase sehingga proses dekolorisasi dan degradasi berlangsung lebih cepat. Cu (tembaga) merupakan mikronutrisi penting bagi sebagian besar organisme hidup, tembaga dibutuhkan oleh mikroorganisme dalam konsentrasi kecil (sangat rendah) pada kisaran 1-10 µM. Namun, tembaga pada konsentrasi yang lebih tinggi sangat beracun untuk sel mikroba. Baldrian et al. (2005) melaporkan bahwa penambahan Cu, Mn, Pb dan Zn pada kultur akan meningkatkan aktivitas Lakase pada *P. ostreatus* sedangkan penambahan Mn akan menurunkan aktivitas Mangan Peroksidase. Pada *L. edodes*, penambahan CuSO<sub>4</sub> tanpa sukrosa dapat meningkatkan aktivitas lakase. Menurut Kumar et al. (2011) Penambahan 1 mM CuSO<sub>4</sub> memacu produksi lakase dari 60 % menjadi 80%, veratril alcohol dan benzyl alcohol memacu produksi lakase kecuali pada *Agaricus bisporus*. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa *P. ostreatus* menghasilkan enzim ligninolitik yang terdiri dari Lignin Peroksidase, Mangan Peroksidase dan Lakase. Jamur ini mampu mendegradasi limbah cair kelapa sawit (POME) dan dekolorisasi warna POME sebesar 99,26% setelah diinkubasi selama 30 hari. Penambahan CuSO<sub>4</sub> dan sukrosa pada *P. Ostreatus* mempercepat proses dekolorisasi POME sebesar 95,89% setelah diinkubasi selama 13 hari. Ke empat jamur uji mampu mendegradasi Poly R-478 setelah inkubasi selama 30 menit.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Kepala Pusat Penelitian Biologi-LIPI atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk melakukan penelitian ini dan sejumlah pihak yang telah membantu sehingga penelitian ini berjalan dengan baik.

#### DAFTAR PUSTAKA

- AhmadAL, Chan CY. 2009. Sustainability of palmoilindustries: An innovative treatment via membrane technology. *J Appl Sci* 9(17): 3074-3079.
- Bahroeny JJ. 2015. Industri kelapa sawit hadapi lima permasalahan utama. *Harian Jurnal Asia*. Kamis 27 Agustus 2015. <http://www.jurnalasia.com/2014/09/13/industri-kelapa-sawit-hadapi-lima-permasalahan-utama/#sthash.VOFuww8v.dpuf>
- Baldrian P, Valaskova V, Merhautova V, Gabriel J. 2005. Degradation of lignocelluloses by *Pleurotus ostreatus* in the presence of copper, manganese, lead and zinc. *Res Microbiol*156: 670-676.
- Buswell JA, Cai Y, Chang ST.1995. Effect of nutrient nitrogen and manganese on manganese peroxidase and laccase production by *Lentinula (Lentinus) edodes*. *FEMS Microbiol Lett* 128 (1):81 - 87.
- Dashban M, Schraft H, Syed TA, Qin W. 2010. Fungal biodegradation and enzymatic modification of lignin. *Int J Biochem Mol Biol* 1 (1): 36-50.
- Dritsa V,Rigas F. 2013. The ligninolytic and biodegradation potential on Lindane of *Pleurotus ostreatus* spp. *J Mining World Expr* 2 (1): 23-30.
- Hattaka A. 1994. Lignin-modifying enzymes production and role in lignin degradation.*FEMS MicrobiolRev* 13: 125-135.
- Hermann KL, Costa A, Helm CV, Delima EA,Tavares LBB. 2012. Expression of manganese peroxidase by *Lentinula edodes* and *Lentinula boryana* in solid state and submerged system fermentation. *Annals of the Brazilian Acad Sci* 85 (3): 965-973.
- Irvan, Trisakti B, Vincent M, Tandean Y. 2012. Pengolahan lanjut limbah cair kelapa sawit secara aerobic menggunakan Effective microorganism guna mengurangi nilai TSS. *Jurnal Teknik Kimia USU* 1 (2): 27-30.
- Janusz G, Kucharzyk kH, Pawlik A, Staszczak M, Paszczynski AJ.2013. Fungal laccase, mangan peroxidase and lignin peroxidase: Gene expression and regulation.*Enz Microbiol Technol* 52: 1-12.
- Kumar VV, Karupha SD, Periyaraman P,Sivanesan S. 2011. Screening and induction of laccase activity in fungal species and its application in dye decolorization. *African J Microbiol Res*5 (11): 1261-1267.
- Moreira MT, Palma C, Mielgo I, Feijoo G, Lema JM. 2001. In vitro degradation of a polymeric dye (Poly R-478) by manganese peroxidase. *Biotechnol Bioeng* 75 (3): 362-368.
- Neoh CH, Lam CY, Lim CK, YahyaA, Ibrahim Z.2013. Decolorization of palm oil mill effluent using growing cultures of *Curvularia clavata*. *EnvironSciPollut Res* DOI 10.1007/s11356-013-2350-1.
- Patel VK, Yadav RSS,Yadav KDS. 2007. Enzymatic characteristics of lignin peroxidases of indigenous lignolytic fungal strains. *Indian J Biotechnol* 6: 553-556.
- Prayitno S, Indradewa D, Sunarminto BH.2008. Produktivitas kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) yang dipupuk dengan tandan kosong dan limbah cair pabrik kelapa sawit. *Ilmu Pertanian* 15 (1): 37-48.
- Puspita RL. 2008. Identifikasi senyawa produk oksidatif kopling isoeugenol dengan katalis enzim lakase dari jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) dan uji aktivitasnya sebagai antioksidan.[Skripsi]. Departemen Kimia, FMIPA, Universitas Indonesia. Depok.
- Saeki N, Takeda H, Tanesaka E, Yoshida M. 2011. Induction of manganese peroxidase and laccase by *Lentinula edodes* under liquid culture conditions and their isoenzyme detection by enzymatic staining on native -PAGE. *Mycoscience* 52: 132-136.
- Sivakami V, Ramachandran B, Srivathsan J,Kesavaperumal G, Smily B, Kamar DJM.2012. Production and optimization of laccase and lignin peroxidase by newly isolated *Pleurotus ostreatus* LIG 19. *J Microbiol Biotechnol Res* 2 (6): 875-881.
- Tien M, Kirk TK. 1984. Lignin degrading enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*: Purification, characterization, catalytical properties of a unique H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-requiring oxigenase. *Proc Nat Acad Sci USA* 81: 2280-2284.
- Viswanath B, Chandra MS, Pallavi H, Reddy BR. 2008. Screening and assessment of laccase producing fungi isolated from different environmental samples. *African J Biotechnol* 7 (8): 1129-1133.
- Wu TY, Mohammad AW, Jahim JMd, Anuar N.2007. Palm oil mill effluent (POME) treatment and bioresources recovery using ultrafiltration membrane: Effect of pressure on membrane fouling. *Biochem Eng J* 35: 309-317.
- Yang Q, Yang M, Pritsch K, Yediler A, Hagn A, Schloter M, Ketrup A. 2003. Decolorization of synthetic dyes and production of manganese-dependent peroxidase by new fungal isolates. *Biotechnol Lett* 25 (9): 709-713.
- Yehia RS. 2014. Aflatoxin detoxification by manganese peroxidase purified from *Pleurotus ostreatus*. *Brazilian J Microbiol* 45 (1): 127-133.