

ISOLASI DAN SELEKSI JAMUR SELULOLITIK DARI HUTAN ARBORETUM UNIVERSITAS RIAU

Denty Irma Hardianty¹, R.M. Roza², A. Martina²

¹Mahasiswa Program Studi S1 Biologi, FMIPA UR

²Dosen Jurusan Biologi FMIPA-UR

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Kampus Binawidya Pekanbaru, 28293, Indonesia

e-mail: dentyirmahardianty@rocketmail.com

ABSTRACT

The Arboretum University of Riau constitutes of a secondary forest in Pekanbaru. Many plant genera exist in this Arboretum, therefore the litter produced has high content of cellulosa that may provide suitable environment for many cellulolytic fungus. The purpose of this study was to obtain the cellulolytic fungus isolates by screening the soil that collected from Arboretum University Riau, using *Potato Dextrose Agar* medium. The selection of cellulolytic fungus used *Carboxyl Methyl Cellulose* medium and was indicated by the appearance of clear zona. Cellulase activities were determined using the ratio of clear zone and colony diameter. The result identified 53 cellulolytic fungus isolates. The L4H4 isolate had the highest ratio (3,51). There were three ratio criterions of clear zone to colony diameter in this study, i.e. high (24,53%), medium (35,85%) and low (39,62%). The characterization result showed that 15 fungus isolates belonged to the genera *Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Mucor* and 2 isolates were unidentified.

Keywords : Arboretum University of Riau, Cellulose fungi, cellulose, soil

ABSTRAK

Arboretum Universitas Riau merupakan hutan sekunder di Pekanbaru. Di Arboretum terdapat berbagai jenis tanaman, dari perbedaan jenis tanaman tersebut kemungkinan serasah yang berada di atas tanah memiliki kandungan selulosa yang tinggi yang memungkinkan keberadaan jamur selulolitik yang beragam. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat jamur selulolitik dengan cara mengisolasi dan menyeleksi jamur selulolitik dari tanah hutan Arboretum Universitas Riau. Isolasi jamur selulolitik dari tanah menggunakan medium *Potato Dextrose Agar*. Seleksi jamur selulolitik menggunakan medium *Carboxyl Methyl Cellulose* dengan indikasi terbentuknya zona bening. Aktivitas selulase diketahui melalui rasio antara diameter zona bening dan diameter koloni. Pada penelitian ini diperoleh 53 isolat jamur selulolitik. Rasio tertinggi dengan isolat L4H4 (3,51). Pengelompokan kriteria rasio diperoleh: 24,53% termasuk kriteria tinggi, 35,85% kriteria sedang dan 39,62% kriteria rendah. Hasil karakterisasi

15 isolat jamur termasuk ke dalam genus *Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Mucor* dan 2 isolat belum teridentifikasi.

Kata kunci : Arboretum Universitas Riau, jamur selulolitik, selulosa, tanah

PENDAHULUAN

Arboretum Universitas Riau merupakan sebagian kecil hutan sekunder yang masih tersisa di Pekanbaru dan dipergunakan sebagai tempat untuk memfasilitasi proses belajar, praktikum maupun penelitian. Luas lahan Arboretum Universitas Riau sekitar 6 hektar. Di dalam Arboretum tersebut terdapat berbagai jenis tanaman seperti marapuyan (*Rhodamnia cenerea* Jack), petangas (*Aporosa aurita*), layau (*Adinandra dumosa* Jack), jambu (*Spyzigium cuprea*), kasai (*Pometia ainifolia* Randik), cempedak (*Artocarpus champeden* Sprang), arang-arang (*Diospyros campanulata* bakh) dan sebagainya. Dari perbedaan berbagai jenis tanaman tersebut kemungkinan serasah yang berada di atas tanah memiliki kandungan selulosa yang tinggi, maka besar kemungkinan bahwa kandungan jamur selulolitik di tanah tersebut beranekaragam.

Selulosa dirombak oleh mikroba selulolitik dengan bantuan enzim selulase, salah satu mikroba perombak selulosa adalah jamur selulolitik. Selulosa dari sisa tumbuhan dan organisme lain diurai oleh mikroba menjadi senyawa sederhana berupa glukosa, CO₂ dan hidrogen yang sangat berguna sebagai zat hara bagi tumbuhan dan organisme tanah lainnya (Oramahi *et al*, 2003).

Jamur memiliki kemampuan untuk menghidrolisis selulosa alami melalui aktivitas selulase yang dimilikinya. Perolehan mikroba selulolitik yang mampu menghasilkan aktivitas selulase yang tinggi menjadi sangat penting untuk tujuan pengomposan limbah organik. Mikroba yang mampu menghasilkan komponen selulase diantaranya adalah jamur *Trichoderma*, sehingga jamur ini sering disebut sebagai selulolitik sejati (Salma *et al* 1999). Suciati (2006) dalam penelitiannya didapatkan fungi dari tanah hutan hujan tropis dengan jumlah terbanyak adalah *Gongronell butleri*, *Cancellidium*, *Gelasinospora retispora*, *Gliocladium virens*, *Helicorhoidion* dan *Talaromyces wortmannii* dengan jumlah terendah.

Penelitian ini bertujuan untuk menghitung total populasi jamur selulolitik, mengisolasi isolat jamur yang mendegradasi selulosa, mengetahui aktivitas selulolitik masing-masing isolat jamur yang ditemukan dan mengkarakterisasi isolat jamur selulolitik.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau dari bulan Maret sampai dengan Desember 2013. Lokasi pengambilan sampel tanah di Hutan Arboretum Universitas Riau, Kota Pekanbaru, Provinsi Riau. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah jarum ose, cawan petri, pipet volume, rak tabung, gelas ukur, *erlenmeyer*, tabung reaksi, *microwave*, bunsen, korek api, kain kasa, botol semprot, timbangan analitik, autoklaf, *vortex*, sarung tangan, *soil thermometer*, *soil tester*, aluminium foil, kantong plastik, oven, jangka sorong, mikroskop, meteran dan kamera digital. Bahan-bahan yang

digunakan dalam penelitian ini meliputi sampel tanah yang diperoleh dari hutan Arboretum, *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Czapek Yeast Extract Agar* (CYA) NaCl, akuades dan alkohol 70%.

Desain Penelitian

Isolasi jamur menggunakan metode *pour plate* dengan cara menginokulasikan sampel tanah sebagai sumber jamur selulolitik ke medium PDA dan diseleksi ke medium CMC. Isolat yang memiliki aktivitas selulase ditandai dengan terbentuknya zona bening. Penghitungan rasio dilakukan pada inkubasi 72 jam. Isolat jamur yang memiliki aktivitas selulase kemudian dilakukan karakterisasi.

Pengisolasian Jamur

Isolasi jamur selulolitik digunakan dengan metode *pour plate* pada medium PDA. Sampel tanah diambil masing-masing sebanyak 10 g, diencerkan dengan larutan 9 mL garam fisiologis (NaCl 0,85%) kemudian dihomogenkan dengan menggunakan vortex. Hingga dihasilkan pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} . Kemudian diambil sebanyak 1 mL suspensi tanah dan dituang di atas cawan petri, dituang medium selektif sebanyak 10 mL dan cawan petri digoyang-goyangkan. Setelah medium memadat kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 3-5 hari dan diinkubasi pada suhu ruangan. Jamur yang tumbuh kemudian dimurnikan ke medium PDA dengan metode *streak kuadran* dari setiap koloni yang tumbuh.

Pemurnian Isolat Jamur

Isolat yang tumbuh dimurnikan dengan cara memisahkan koloni yang berlainan dan ditumbuhkan kembali pada medium PDA. Isolat yang sudah murni diinokulasikan ke PDA miring untuk stok kultur, lalu disimpan pada suhu 4°C.

Pembuatan Stok Inokulum

Sebanyak 1 ose jamur diinokulasikan dalam 10 mL medium PDA kemudian diinkubasi selama 3 hari pada suhu ruang.

Penseleksian Isolat Jamur Selulolitik

Isolat jamur yang sudah dimurnikan pada medium PDA, ditotolkan ke dalam medium CMC dan diinkubasi pada suhu ruangan selama 10 hari pada suhu ruangan.

Karakterisasi

Karakterisasi dilakukan untuk isolat yang memiliki aktivitas selulase, dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Jamur menggunakan buku panduan identifikasi jamur seperti, *Microfungi on Miscellaneous Substrates* (Ellis 1988), *Pengenalan Kapang Tropik Umum* (Gandjar *et al.* 1999), *Introductory Mycology* (Alexopoulos *et al.* 1996) dan *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi 3rd ed* (Watanabe 2010).

Analisis Data

Data-data yang diperoleh dari uji aktivitas selulase disajikan dalam bentuk tabel dan gambar. Penghitungan rasio aktivitas zona bening yaitu perbandingan zona bening dengan diameter koloni isolat (Z/K). Selanjutnya hasil pengukuran zona bening pada uji

aktivitas selulase dilakukan uji nilai tengah atau median dan diurutkan berdasarkan kemampuan isolat dalam menghidrolisis selulosa dengan kriteria tinggi, sedang atau rendah (Sudjana, 2005).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Populasi Jamur

Total populasi jamur dari Hutan Arboretum Riau di 4 Lokasi sampling tanah berkisar antara $3,2 \times 10^4$ CFU/g tanah hingga $4,9 \times 10^4$ CFU/g tanah. Total populasi jamur terendah pada Lokasi 4 yaitu $3,2 \times 10^4$ CFU/g tanah, sedangkan total populasi jamur tertinggi pada Lokasi 3 yaitu $4,9 \times 10^4$ CFU/g tanah. Perbedaan total populasi disebabkan oleh faktor yang mempengaruhi pertumbuhan jamur pada medium biakan seperti pH, aktivitas air dan tekanan osmosis, serta beberapa faktor yang mempengaruhi dari luar seperti suhu, udara dan tekanan (Handrech dan Black 1994). Hasil penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan Ernawati (2012) yaitu total populasi jamur dari tanah gambut di Desa Rimbo Panjang didapatkan hasil $1,55 \pm 0,37 \cdot 10^4$ CFU/g tanah hingga $6,0 \pm 0,81 \cdot 10^4$ CFU/g tanah.

Isolasi dan Seleksi Jamur Selulolitik

Isolat yang diperoleh sebanyak 79 isolat berdasarkan perbedaan morfologi koloni secara makroskopis. Dari 79 isolat diperoleh 53 isolat yang mampu membentuk zona bening disekitar koloni menunjukkan bahwa isolat jamur tersebut mampu menghasilkan enzim selulase. Pada penelitian rasio Z/K tertinggi merupakan kelompok dari jamur *Aspergillus* (isolat L4H4) dengan rasio Z/K 3,51. Rasio aktivitas Z/K terendah merupakan kelompok dari jamur *Paecilomyces* (isolat L1E4) yaitu 1,02. Astutik (2011) dalam penelitiannya didapatkan 15 isolat kapang berdasarkan rasio zona bening dan aktivitas enzim selulase terbesar adalah *Penicillium* sp.1 sebesar 1,86 cm:12,58 IU/ml, *Penicillium* sp.2 sebesar 1,67 cm:16,47 IU/ml, *Penicillium* sp.3 sebesar 1,82 cm:17,66 IU/ml, *Aspergillus niger* sebesar 1,78 cm:2,361 IU/ml dan *Paecylomyces* sp.1 sebesar 1,48 cm:7,5 IU/ml.



Gambar 1. Koloni jamur selulolitik (a) medium CMC, (b) zona bening, (c) koloni jamur

Reanprayoon *et al* (2012) dalam penelitiannya berhasil mendapatkan isolat dari Tanah Sawah Surin Thailand dengan kriteria tertinggi (rasio Z/K >3,00) dalam menghidrolisis selulosa yaitu *Aspergillus niger*, *Aspergillus* sp., *Chaetomium murorum*

dan *Trichoderma* sp. menunjukkan potensi tertinggi untuk menghasilkan selulase. Penelitian Wang (2013) didapatkan 20 strain jamur yang diisolasi dari Tanah Antartika. Sepuluh galur koloni jamur terdeteksi memiliki aktivitas selulase yaitu dengan kode isolat AnsX 1-10 yang diidentifikasi sebagai *Verticillium* sp.

Isolat jamur memiliki rasio aktivitas yang berbeda, hal tersebut menandakan bahwa terdapat perbedaan dari masing-masing isolat jamur dalam menghasilkan enzim selulase dalam menghidrolisis selulosa pada medium CMC. Kemampuan jamur dalam menggunakan CMC dapat mendukung pertumbuhan miselia jamur dikarenakan bentuk selulosa yang lebih sederhana sehingga mudah untuk dihidrolisis oleh jamur (Ezekiel, 2010).

Pengelompokan Jamur Selulolitik Berdasarkan Uji Nilai Tengah (Median)

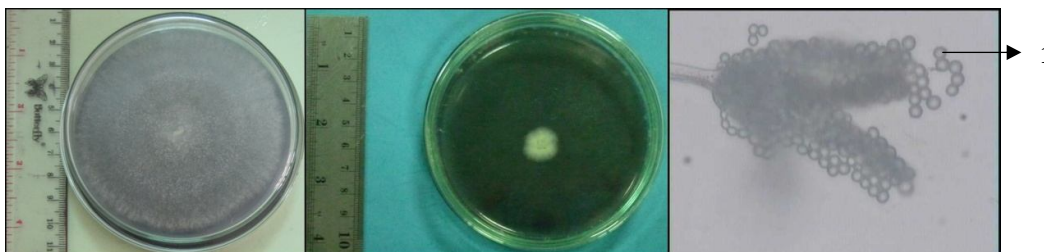
Hasil pengujian didapatkan 53 isolat jamur selulolitik. Aktivitas selulase dilakukan uji nilai tengah dan dibagi menjadi 3 kriteria yaitu kriteria tinggi, sedang dan rendah. Isolat yang termasuk kriteria tinggi dalam menghasilkan enzim selulase apabila rasio Z/K bernilai $>1,76$ berjumlah 13 isolat (24,53%). Kriteria sedang apabila rasio Z/K bernilai antara 1,16 - 1,76 berjumlah 19 isolat (35,85%) dan kriteria rendah apabila rasio Z/K bernilai $<1,16$ berjumlah 21 isolat (39,62%).

Tabel 1. Kriteria rasio Z/K dan persentase dari 53 isolat jamur selulolitik

Kriteria	Rasio Z/K	Jumlah Isolat	Presentase (%)
Tinggi	$> 1,76$	13	24,53%
Sedang	1,16 - 1,76	19	35,85%
Rendah	$<1,16$	21	39,62%

Karakter

Sebanyak 15 isolat jamur selulolitik yang telah dikarakterisasi termasuk kedalam genus *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Paecilomyces* sp., *Mucor* sp dan 2 isolat yang belum teridentifikasi. Genus *Aspergillus* pada penelitian ini umumnya secara mikroskopis hifa bersekat, konidia bulat hingga lonjong, tipe percabangan *monoverticillate* dan *biverticillate*. Secara umum menurut Larone (2002) ciri-ciri mikroskopis konidiofor muncul tidak bercabang dari sel kaki khusus, konidiofor memperbesar di ujung, membentuk vesikel yang membengkak. Tekstur seperti beludru atau kapas. Warna sebalik koloni biasanya putih, keemasan atau coklat.



Gambar 2. Morfologi secara makroskopis genus *Aspergillus* sp. perbesaran 400 $\times$ (a) Koloni medium PDA, (b) Koloni medium CYA, (c) Morfologi secara mikroskopis 1. Konidia

Genus *Penicillium* sp. umumnya memiliki hifa bersepta, tipe percabangan *monoverticillate*, *biverticillate* dan *polyverticillate* (Watanabe, 2010). Ciri-ciri makroskopis *Penicillium* secara umum pada medium agar berwarna hijau atau putih Samson (2010). Pada penelitian ini ciri-ciri *Penicillium* berwarna putih keabuan, hijau hingga krem kecoklatan, konidia bulat hingga lonjong, konidiofor hialin dan percabangan *monoverticillate*.

Ciri-ciri mikroskopis pada genus *Paecilomyces* konidia bulat hingga lonjong. Secara makroskopis berwarna putih abu-abu, kuning hingga krem kecoklatan. Samson *et al* (2010) umumnya secara mikroskopis genus *Paecilomyces* konidiofor bercabang, terdiri dari 2 hingga 7 fialid, terdapat klamidospora, satu atau berantai pendek, berwarna coklat hingga coklat tua.

Pada penelitian ini terdapat 2 isolat yang belum teridentifikasi. Morfologi isolat L4D3 pada medium PDA berwarna krem sedangkan pada medium CYA berwarna putih kekuningan, koloni kompak, tidak terdapat lingkaran konsentris dan garis radial. Ciri-ciri mikroskopis yaitu hifa bersepta, konidia lonjong dan konidiofor hialin. Sedangkan morfologi isolat L4C4 pada media PDA permukaan dan sebalik koloni berwarna abu-abu kehijauan, sedangkan pada medium CYA permukaan koloni berwarna putih dengan bagian tengah kehijauan dan sebalik koloni berwarna putih abu-abu kehijauan. Ciri-ciri mikroskopis yaitu hifa bersepta, konidia bulat, konidiofor hialin.

Genus *Mucor* sp morfologi koloni berwarna putih. Secara mikroskopis hifa tidak bersekat, panjang, spora bulat, gelap. Genus *Mucor* umumnya memiliki Sporangiospora panjang (diameter 50-300 μm). Tidak membentuk rhizoid. Sporangiofor ber dinding agak keras, bercabang (secara simpodial maupun monodial) (Gandjar 1999). Kolumela bulat atau agak bulat, non-apofisis, sporangiofor hialin, *ellipsoidal*, *1-celled* (Watanabe 2010).

Ramadhan (2012) dalam penelitiannya mengisolasi jamur selulolitik dari Tanah Gambut di Perkebunan Karet Desa Rimbo Panjang Kabupaten Kampar Riau mendapatkan 26 isolat jamur selulolitik dengan jumlah 21 isolat genus *Penicillium*, 4 isolat genus *Aspergillus* dan 1 isolat genus *Humicola*.

KESIMPULAN

Total populasi jamur dari Aboretum Universitas Riau berkisar antara $3,2 \times 10^4$ CFU/g – $4,9 \times 10^4$ CFU/g. Sebanyak 53 isolat merupakan jamur selulolitik dari tanah Hutan Arboretum Universitas Riau. Rasio Z/K kriteria tinggi yaitu $>1,76$ (24,53%) , sedang 1,16 - 1,76 (35,85 %) dan rendah $<1,16$ (39,62%). Lima belas isolat yang dikarakterisasi diambil berdasarkan 13 isolat dengan kriteria tinggi dan 2 isolat diambil berdasarkan diameter zona bening tertinggi (L1E3 dan L1B4). Isolat yang mempunyai aktivitas tertinggi yaitu L4H4 dengan rasio Z/K 3,51 dan isolat yang memiliki aktivitas selulolitik terendah yaitu L3D3 dengan rasio Z/K 1,82. Lima belas isolat yang dikarakterisasi termasuk kedalam genus *Aspergillus*, *Penicillium*, *Paelomyces*, *Mucor* dan 2 isolat yang belum teridentifikasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulos, C.J., Mims, C.W., Blackwell, M. 1996. *Introductory Mycology Fourth Edition*. Singapore: John Wiley & Sons. Inc
- Astutik R.P., Kuswytasari N.D., Shovitri M. 2011. Uji Aktivitas Enzim Selulase dan Xilanase Isolat Kapang Tanah Wonorejo Surabaya. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya. Surabaya
- Ellis M.B., Ellis J.P. 1988. *Microfungi on Miscellaneous Substrates : An Identification Handbook*. University Press, Cambridge. London
- Ernawati, M. 2012. Total Populasi dan Aktivitas Mikroba pada Perkebunan Karet di Lahan Gambut Desa Rimbo Panjang Kabupaten Kampar Provinsi Riau [skripsi]. Universitas Riau. Pekanbaru
- Ezekiel C.N, Odebode A.C, Omenka R.O., Adesioye F.A. 2010. Growth Response and Comparative Cellulase Induction in Soil Fungi Grown on Different Cellulose Media. *Acta ATECH*. 3(2):52-59
- Gandjar I., Samson R.A., Tweelvermeulen K., Oetari A., Santoso I. 1999. *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta
- Handreck K.A., Black N.D. 1984. *Growing Media for Ornamental Plants and Turf*. New South Wales University Press. Sydney
- Larone, Honig D. 2002. Medically Important Fungi, a Guaide to Identification, 4th edition. ASM Press. Washington D.C. United States of America
- Oramahi H.A., Darmadji P., Haryadi. 2003. Optimasi Kadar Asam dalam Asap Cair dari Kayu Karet dengan RSM. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta
- Ramadhan N. 2012. Isolasi dan Seleksi Jamur Selulolitik dari Tanah Gambut di Perkebunan Karet Desa Rimbo Panjang Kabupaten Kampar Riau [skripsi]. Universitas Riau. Pekanbaru
- Reanprayoon P., Wattanachai P. 2012. Tropical Soil Fungi Producing Cellulase and Related Enzymes in Biodegradation. *Jurnal of Applied Sciences* 12 (18): 1909-1916
- Salma S., Gunarto L. 1999. Enzim selulase dari *Trichoderma sp.* *Bul. Agro Bio*. 2: 9-16
- Samson R.A., Pitt J.I. 2010. *Integration of Modern Taxonomic Methods for Penicillium and Aspergillus Classification*. Harwood Academic Publishers. Amsterdam
- Samson RA, Houbraken J, Thrane U, Frisvad CJ, Andersen B. 2010. *Food and Indoor Fungi*. CBS Laboratory Manual Series. Netherlands
- Suciatmih. 2006. Soil Fungi in an Over-burned Tropical Rain Forest in Bukit Bangkirai, East Kalimantan. *Biodiversitas*. Volume: 7. Nomor: 1 Halaman: 1-3
- Sudjana. 2005. *Metode Statistika*. Tarsito. Bandung
- Wang N., Jiaye Z., Kaili M., Yu L., Zuohao W., Hui D. 2013. Production of Cold-adapted Cellulase by *Verticillium sp.* Isolated From Antarctic Soils. *Electronic Journal of Biotechnology* ISSN: 0717-3458
- Watanabe T. 2010. *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi Morphologies of Cultured Fungi and Key of Species 3nd*. CRC Press Taylor & Francis Group. Ney York