

PRODUKSI ENZIM LAKASE OLEH JAMUR *Trichoderma asperellum* LBKURCC1 SECARA FERMENTASI PADAT PADA *BIOREACTOR TRAY*

Muhamad Fajri¹, Sri Helianty², Andi Dahliaty³

¹Mahasiswa Teknik Kimia, ²Dosen Teknik Kimia, Dosen Kimia FMIPA

Laboratorium Riset Enzim, Fermentasi, dan Biomolekuler

Program Studi Teknik Kimia S1, Fakultas Teknik Universitas Riau

Kampus Binawidya Jl. HR. Soebrantas Km 12,5 Simpang Baru Panam, Pekanbaru 28293

E-mail: muhamad.fajri3585@student.unri.ac.id

ABSTRACT

*Laccase enzyme is classified as oxidoreductase enzyme; i.e. an enzyme that can oxidize phenolic compounds and reduce oxygen molecules into water molecules. An enzyme production process using fungi through solid fermentation has more advantages compared to the one through submerged fermentation since it has the processing condition as if the fungi grow in nature. This research is aimed at investigating the process of laccase enzyme production by *Trichoderma asperellum* LBKURCC1 in bioreactor tray through solid state fermentation using rice straw substrates. The objective of this research is to figure out the influence of bed depth and fermenting time on laccase enzyme production by *Trichoderma asperellum* LBKURCC1. The variables of the research are the bed depth of 1.5, to 4.5 cm and fermentation time of 5, to 10 days. The research findings show that the peak of laccase enzyme activity was obtained at 3.0 cm bed depth and 7 day fermentation time. Increasing the depth of the bed can increase the activity of laccase enzyme produced. However, increasing too much depth of the bed can cause the decrease of laccase enzyme activity. Besides, the fermentation time over 7 days can also decrease the laccase enzyme activity for the amount of the water contained in the bed is drying up.*

Keywords: *bioreactor tray, laccase enzyme, rice straw, *Trichoderma asperellum* LBKURCC1*

1. PENDAHULUAN

Enzim lakase pertama kali ditemukan pada getah pohon pernis *Rhus vernicifera*, dan kemampuannya dalam mengoksidasi suatu senyawa ditemukan oleh Bertrand pada tahun 1985. Enzim lakase banyak ditemukan pada tanaman tingkat tinggi dan jamur, serta ditemukan pula pada serangga dan bakteri namun dalam jumlah yang kecil. Enzim lakase dalam jumlah besar ditemukan pada agen pembusuk komponen lunak, seperti jamur pelapuk putih, *Trametes versicolor* (Couto dkk, 2003), *T. hirsuta*, (Morozova dkk, 2007), *Penicillium*

sp (Wulandari dkk, 2014), *Marasmius sp* (Risdianto dkk, 2012), jamur *Saprofit geofil* dan *Fytopathogenic ascomycetes*. Selain itu lakase juga ditemukan pada jamur yang dapat dimakan seperti *Champignon agaricus bisporus*, jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*), dan jamur *Lentinula edodes*. Enzim lakase yang berasal dari jamur lebih diperhitungkan sebagai kelompok oksidasi multikopper (MCOs) dibandingkan enzim yang diperoleh dari sumber lainnya (Giardina dkk, 2010).

Enzim lakase menurut nomenklatur *International Union of Biochemistry and*

Molecular Biology (IUBMB), diklasifikasikan sebagai enzim oksidoreduktase yaitu enzim yang mampu mengoksidasi senyawa difenol dengan menggunakan molekul oksigen sebagai akseptor elektron. Selain senyawa fenolik enzim lakase juga dapat mengkatalisis senyawa aromatik, yang secara bersamaan mereduksi oksigen menjadi air. Lingkup substrat enzim lakase secara spesifik sangat luas sehingga enzim ini dapat diaplikasikan dalam berbagai bidang industri seperti delignifikasi pulp, penyisihan warna limbah, detoksifikasi air limbah, dan detoksifikasi senyawa xenobiotik (Octavio dkk, 2006). Dengan potensi penggunaan yang begitu besar sehingga enzim lakase memiliki nilai ekonomis tinggi.

Kesuksesan aplikasi enzim lakase pada berbagai bidang industri memerlukan produksi yang besar dengan biaya yang rendah. Pengurangan biaya produksi enzim lakase dapat dilakukan dengan pemilihan mikroorganisme yang tepat, optimisasi medium fermentasi, penambahan inducer, optimisasi kondisi proses seperti pH dan suhu. Inducer yang dapat digunakan terutama senyawa-senyawa turunan lignin.

Fermentasi merupakan proses perubahan kimia dalam suatu substrat organik atau anorganik yang berlangsung karena adanya biokatalisator yaitu enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme tertentu. Fermentasi padat atau *solid state fermentation* (SSF) didefinisikan sebagai suatu proses fermentasi yang berlangsung dengan tidak ada atau hampir tidak adanya cairan bebas pada substrat inert (sintetis) atau substrat alami (organik) sebagai media pertumbuhan (*support media*) (Thomas dkk, 2013). Aplikasi fermentasi padat saat ini semakin meningkat walaupun pada umumnya masih menggunakan fermentasi terendam. Fermentasi padat memiliki hasil

fermentasi yang lebih tinggi dengan proses hilir yang lebih mudah dibanding fermentasi terendam. Disamping itu fermentasi padat memiliki peralatan yang sederhana untuk memproduksi enzim, protein sel tunggal, dan spora (Durand, 1998).

Fermentasi padat sangat sesuai untuk memproduksi enzim dengan menggunakan jamur berfilamen karena memiliki *water activity* yang rendah (0,5 – 0,6 aw) (Thomas dkk, 2013) dan memiliki kondisi proses sebagaimana jamur tumbuh di alam. Dari segi ekonomisnya proses ini memberikan banyak keuntungan, seperti produktivitas volumetrik yang besar, kebutuhan energi rendah, penanganan yang lebih sederhana, dan pemurnian produk yang lebih baik. Fermentasi padat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti: pemilihan mikroorganisme, substrat, media fermentasi, dan parameter proses (fisika, kimia, dan biologi). Pemilihan mikroorganisme dan faktor fisika kimia untuk mendukung pertumbuhan mikroorganisme dalam menghasilkan enzim perlu mempertimbangkan parameter proses seperti pH, suhu, aerasi, *water activity*, kelembapan, jenis dan ukuran substrat yang digunakan (Thomas dkk, 2013).

Trichoderma sp yang tumbuh di alam berperan sebagai salah satu agen pengendali hayati yang efektif, dan dapat menghasilkan enzim ekstraseluler sehingga memungkinkan baginya untuk bersaing dengan jamur lain dalam memanfaatkan residu tanaman sebagai bahan nutrisi serta menghambat pertumbuhan jamur fitopatogenik seperti spesies *Fusarium*, *Phyium*, dan *Rhizoctonia* (Waluyo, 2004). Jamur *Trichoderma sp* merupakan salah satu jamur yang dapat memproduksi lakase. Lakase tersebut disekresikan oleh miselium

atau filamen jamur ke dalam media pertumbuhan.

Jamur *T. asperellum* mempunyai tingkat pertumbuhan yang cepat, spora yang dihasilkan berlimpah, mampu bertahan cukup lama pada kondisi yang kurang menguntungkan. *T. asperellum* memiliki daya antagonistik tinggi karena kemampuannya dalam menghasilkan berbagai macam metabolik toksik seperti antibiotik atau enzim yang bersifat litik serta mampu berkompetisi dengan patogen dalam memperebutkan nutrisi, oksigen, dan ruang tumbuh (Wahyudi dkk, 2005). Salah satu spesies jamur *Trichoderma asperellum*.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Bahan dan Alat

2.1.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kultur jamur lokal *Trichoderma asperellum* LBKURCC1 yang merupakan koleksi Laboratorium Biokimia FMIPA Universitas Riau. Kultur ini dipelihara pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Bahan lignoselulosa sebagai substrat yaitu jerami padi yang diperoleh dari pertanian padi di Kabupaten Siak Sri Indrapura Provinsi Riau, aluminium foil, kertas saring, kapas, kain kasa, benang nilon, kentang, agar batang, asam sitrat, glukosa, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, CuSO_4 , MgSO_4 , KH_2PO_4 , aquades, larutan penyangga asetat pH 5,5 (0,05 M), dan guaiacol.

2.1.2 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah neraca analitik, *autoclave*, *shaker*, lampu UV, cawan petri, erlenmeyer, oven, jarum ose, pipet ukur 3 ml, pH meter, tabung *ependorf*, sentrifuse, kuvet, batang L, spatula dan peralatan kaca lainnya. Disamping itu menggunakan alat

instrument penelitian berupa spektrofotometer Genesys 10S UV/Vis.

Variabel tetap pada penelitian ini adalah temperatur inkubasi 30 ± 2 °C, penambahan inducer CuSO_4 0,25 g/l (Hanung dkk, 2013) dan ukuran jerami 0,5 cm (Cheng dkk, 2015). Sementara variable Berubah tinggi unggun pada *tray* 1,5, 3,0, dan 3,5 cm ini berdasarkan penelitian Couto dkk, (2003) dengan tinggi unggun 1,5 cm dan waktu fermentasi 5, 6, 7, 8, 9, dan 10 hari.

2.2 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahapan dalam pengerjaannya, yakni dimulai dengan persiapan bahan dan alat, preparasi bahan, Peremajaan isolat jamur, pembuatan starter, proses fermentasi, ekstraksi enzim lakase, uji aktifitas enzim lakase dan terakhir analisis data.

2.2.1 Tahap Persiapan

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini berupa jerami padi lokal, yang dipotong dengan ukuran 0,5 cm dikeringkan. Media fermentasi yang terdiri dari substrat, glukosa, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, CuSO_4 , MgSO_4 , KH_2PO_4 dan buffer asetat pH 5,5 (0,05 M)

Tabel 2.1 Komposisi Media Fermentasi

Nutrisi	Berat
Glukosa	4 gr/l
CuSO_4 (Induser)	0.25 gr/l
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1 gr/l
MgSO_4	1 gr/l
KH_2PO_4	0.6 gr/l
Buffer dengan pH 5.5	1000 mL

Jamur yang digunakan terlebih dahulu diremajakan, proses peremajaan jamur pada penelitian ini dibantu oleh staff teknisi lab Biokimia FMIPA Universitas Riau. Jamur-jamur ditanam pada medium padat (PDA)

agar miring, selama 4-5 hari yang ada kitin 1 % sebagai sumber karbon. Jamur diambil secara aseptik menggunakan jarum ose dari permukaan plat agar dan disuspensikan dalam media cair yang steril, ini sebagai starter

2.2.2 Tahap Sterilisasi

Tray bioreactor yang terbuat dari bahan kaca, dan media fermentasi disterilkan pada temperatur 121°C selama 20 menit. Sementara bagian dalam *bioreactor* disterilisasi dengan menggunakan larutan etanol 70% dan disinari lampu UV selama 30 menit. Media yang telah disterilisasi selanjutnya didiamkan sampai dingin. Media fermentasi dan *tray* yang telah dingin dimasukkan ke dalam bioreaktor dengan ketebalan yang telah ditentukan. Jamur *T. asperellum* LBKURCC1 yang pada cawan petri diinokulasi secara aseptis ke dalam media fermentasi menggunakan pinset dengan ukuran 1 x 1 cm dan dilakukan pengadukan untuk memastikan jamur tersebar merata dalam *tray*. Media dan jamur diinkubasi pada temperatur 30±2 °C selama 5, 6, 7, 8, 9, dan 10 hari.

2.2.3 Ekstraksi Enzim Lakase

Sampel sebanyak 5 gram dikumpulkan dari setiap sisi *bioreactor tray* dimulai dari waktu inkubasi 5, 6, 7, 8, 9, dan 10 hari untuk mengetahui aktivitas enzim (Cheng dkk, 2016). Sampel diekstrak dari kultur jamur dengan menggunakan larutan penyangga asetat pH 5,5 (0,05 M) sebanyak 50 ml pada *recipro shaker* dengan kecepatan 150 rpm selama satu jam pada temperatur ruang. Larutan dan substrat didekantasi selama 1 jam didalam lemari es. Selanjutnya dilakukan pemisahan ampas jerami dengan cairan menggunakan kerats saring *Whatmann GF/C*. Cairan yang

diperoleh selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 9500 rpm selama 10 menit. Supernatant dipisahkan dari filtrate sehingga diperoleh ekstrak kasar enzim yang digunakan untuk analisa aktivitas enzim lakase (Hanung dkk, 2013 ; Risdianto dkk, 2012).

2.2.4 Analisa Aktivitas Enzim Lakase

Aktivitas *laccase* diukur menggunakan spektrofotometer dengan guaiacol sebagai substrat. Penentuan aktivitas *laccase T. asperellum* LBKURCC1 dilakukan pada pH 5,5 (10 mM). Untuk menentukan aktivitas enzim dilakukan dengan menyiapkan blanko dan campuran enzim. Sebanyak 1 mL kultur filtrat enzim ditambahkan 3 mL buffer dan 1 mL guaiacol (2 mM) dan blanko ditambahkan 1 mL akuades sebagai pengganti filtrat enzim. Campuran diinkubasi pada suhu 30°C selama 30 menit. Aktivitas enzim diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV/Vis pada panjang gelombang 450 nm (Sharma dkk, 2017). Aktivitas enzim dinyatakan dalam satuan International unit. Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk mengkatalisis reaksi oksidasi 1 µmol substrat per menit.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Pengaruh Tinggi Unggun terhadap Aktivitas Enzim Lakase

Ketebalan ungun merupakan faktor penting dalam perancangan *bioreactor tray* karena akan mempengaruhi pertumbuhan jamur dalam memproduksi enzim (Cheng dkk, 2016). Pada penelitian ini tinggi ungun divariasikan dengan kenaikan 1,5 cm berdasarkan pada penelitian Couto dkk (2003). Aktivitas enzim lakase dimulai pada hari ke 5 dan terus mengalami peningkatan

hingga hari ke 7. Peningkatan ini dipengaruhi oleh ketersediaan sumber nutrisi yang semakin menipis dari hari ke 5 hingga 7. Seperti yang telah dijelaskan oleh Couto dkk, (2003) bahwa aktivitas enzim lakase dimulai ketika sumber nutrisi yang tersedia pada media fermentasi mulai menipis, sehingga jamur akan mensekresi sejumlah enzim sebagai respons terhadap keterbatasan sumber nutrisi tersebut. tinggi unggun 1,5 cm memiliki aktivitas enzim lakase tertinggi pada penelitian ini yaitu dihari ke tujuh, sementara dihari berikutnya mengalami penurunan.

Hasil penelitian dengan tinggi unggun 3,0 cm menunjukkan aktivitas enzim yang lebih tinggi dibanding pada ketinggian unggun 1,5 cm. Hal ini disebabkan oleh ketinggian unggun yang rendah sehingga meningkatkan laju penguapan air dari unggun ke lingkungan. Kadar air merupakan parameter kunci dalam fermentasi padat. Kurangnya air pada media fermentasi akan menghambat pertumbuhan jamur, produktivitas enzim dan reaksi biokimia berlangsung di dalamnya (Zhang dkk, 2014).

Sementara pada ketebalan unggun 4,5 menunjukkan aktivitas enzim lakase pada hari ke 5 sampai 7 lebih rendah dibanding tinggi unggun 3,0 cm dengan waktu fermentasi yang sama. Ketinggian unggun lebih dari 3,0 cm dapat menurunkan aktivitas enzim lakase. Penurunan ini disebabkan oleh meningkatnya suhu pada unggun secara signifikan selama proses fermentasi dan tidak diimbangi dengan pelepasan panas ke lingkungan karena terakumulasi di dalam unggun. Disamping itu tinggi unggun yang lebih besar juga akan menyebabkan miselium jamur yang tumbuh menutupi permukaan unggun dan menghalangi sirkulasi udara ke dalam tray (Cheng dkk, 2015). Terganggunya proses

distribusi udara ke dalam media fermentasi akan mempengaruhi proses respirasi jamur. Jamur adalah mikroorganisme yang bersifat aerobik sehingga tidak dapat tumbuh pada media yang tidak memiliki sumber oksigen (Hanung dkk, 2013). Hal yang sama juga dijelaskan oleh Raghavarao dkk, (1993) dimana keterbatasan sumber oksigen pada media fermentasi dengan ketinggian unggun yang besar akan menyebabkan jamur sulit untuk tumbuh pada dasar unggun.

Sehingga dapat disimpulkan bahwa ketebalan unggun berpengaruh terhadap produksi enzim lakase pada *bioreactor tray*. Pemilihan ketebalan unggun yang tepat akan menghasilkan produksi enzim lakase yang lebih tinggi dengan memberikan ruang antar partikel yang dapat dijangkau oleh miselium jamur untuk tumbuh. Penentuan ketinggian unggun yang tepat dengan produksi enzim lakase yang tinggi dapat memberikan keekonomisan dalam perancangan *bioreactor* karena dapat mengurangi jumlah tray yang digunakan.

4. KESIMPULAN

Tinggi unggun berpengaruh terhadap aktivitas enzim lakase yang dihasilkan oleh *T. asperellum* LBKURCC1 pada *bioreactor tray*. Aktivitas enzim lakase tertinggi yang diperoleh pada penelitian ini yaitu dengan tinggi unggun 3,0 cm dan waktu fermentasi 7 hari. Kedalaman unggun di bawah 3,0 cm akan meningkatkan penguapan air ke udara, sementara kedalaman unggun di atas 3,0 cm menyebabkan penumpukan panas pada unggun. Kedua hal tersebut menurunkan produksi enzim lakase oleh jamur *Trichoderma asperellum* LBKURCC1.

DAFTAR PUSTAKA

Cheng, Y., Hu, S., Li, T., Qiu, Z., dan Zhu, Y. (2016). Production of diosgenin

- from *Dioscorea zingiberensis* with mixed culture in a new tray bioreactor. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 30(1), 158–164.
- Couto, S. R., Moldes, D., Liébanas, A., dan Sanromán, A. (2003). Investigation of several bioreactor configurations for laccase production by *Trametes versicolor* operating in solid-state conditions. *Biochemical Engineering Journal*, 15(1), 21–26.
- Durand, A., de la Broise, D., dan Blachere, H. (1998). Laboratory scale bioreactor for solid state processes. *Journal of Biotechnology* 8, 59-66.
- Giardina, P., Faraco, V., Pazzella, C., Piscitelli, A., Vanhulle, S., dan Sannia, G. (2010). Laccases a never ending story. *Cellular and Molecular Life Sciences* 67, 369–385.
- Hanung, C. D., Osmand, R., Risdianto, H., Suhardi, S. H., dan Setiadi, T. (2013). Optimisasi produksi enzim lakase pada fermentasi kultur padat menggunakan jamur pelapuk putih *Marasmius sp.* : pengaruh ukuran partikel, kelembapan, dan konsentrasi Cu. *Jurnal Selulosa* 3(2), 65-72.
- Morozova, O.V., Shumakovich, G. P., Gorbacheva, M. A., Shleev, S. V., dan Yaropolov, A. I. (2007). Blue laccase. *Biochemistry Journal* 72(10), 1136-1150.
- Octavio, L. C., Ma, P. P., Ricardo, C. I. B. R. J., dan Francisco, V. O. (2006). Laccase. *Agricultural and Food Biotechnology* ISBN: 81-7736-269-0.
- Raghavarao, K. S. M. S., Gowthaman, M. K., Ghildyal, N. P., dan Katanth, N. G., (1993). A mathematical model for solid state fermentation in tray bioreactor. *Bioprocess Engineering* 8, 255-262.
- Risdianto, H., Sofianti, E., Suhardi, S. H., dan Setiadi, T. (2012). Optimization of laccase production using white rot fungi and agricultural wastes in solid-state fermentation. *Journal of Engineering Science ITB* 44(2), 93-106.
- Sharma, A., Aggarwal, N. K., dan Yadav, A. (2017). Isolation and screening of lignolytic fungi from various ecological niches. *Universal Journal of Microbiology Research*, 5(2), 25-34.
- Thomas, L., Larroche, L., dan Pandey, A. (2013). Current developments in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal* 81, 146–161.
- Wahyudi, P., Suwahyono, U., Harsoyo, Mumpimi, A., dan Wahyuningsih, D. (2005). Pengaruh pemaparan sinar gamma isotop Cobalt-60 dosis 0,25-1 Kgy terhadap daya antagonistik *Trichoderma asperellum* pada *Fusarium Oxysporum*. *Berk Penel Hayati* 10, 143-151.
- Wulandari, A. P., Wulandari, E. dan Indrawati, I. (2014). Biodegradasi jerami padi oleh *Penicillium sp.* dengan variasi ukuran partikel jerami. *Jurnal Selulosa* 4(2), 107-113.
- Zhang, Y., Liu, J., Zhou, Y., dan Ge, Y. (2014). Spore production of *Clonostachys rosea* in a new solid-state fermentation reactor. *Applied Biochemical and Biotechnology* 174, 2951–2959.