

ISOLASI, SKRINING DAN IDENTIFIKASI JAMUR XILANOLITIK LOKAL YANG BERPOTENSI SEBAGAI AGENSIA PEMUTIH PULP YANG RAMAH LINGKUNGAN (Isolation, Screening and Identification Xylanolytic Local Fungi that Potentially as Pulp Bleaching Agents)

Elisa Nurnawati^{1,4,*}, Sebastian Margino², Erni Martani² dan Sarto³

¹Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sriwijaya, Indralaya, Sumatera Selatan 30662.

²Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Bulaksumur, Yogyakarta 55281.

³Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Gadjah Mada, Sekip, Yogyakarta 55281

⁴Program Studi Bioteknologi, Sekolah Pascasarjana Universitas Gadjah Mada, Berek, Yogyakarta 55281.

*Penulis korespondensi. Telp : 08127382564. Email: nurnawati@yahoo.com.

Diterima: 20 Maret 2014

Disetujui: 18 Agustus 2014

Abstrak

Xilanase merupakan enzim yang berfungsi luas dalam bidang industri. Xilanase digunakan sebagai perlakuan awal proses pemutihan kertas di industri pulp dan kertas sehingga dapat mengurangi penggunaan senyawa klorin yang berbahaya bagi lingkungan. Xilanase yang cocok digunakan dalam industri pulp dan kertas seharusnya bebas dari aktivitas selulase. Jamur merupakan salah satu kelompok mikrobia yang mampu menghasilkan xilanase. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat jamur unggul lokal penghasil xilanase dari tanah yang diasumsikan memiliki kandungan xilan tinggi. Tanah di sekitar industri pulp dan kertas; hutan akasia di Kab. Muara Enim dan Ogan Ilir, Sumatera Selatan; hutan Wanagama, Yogyakarta; penggergajian kayu di kota Palembang dan Yogyakarta serta TPA Palembang digunakan sebagai sumber isolat jamur. Berdasarkan skrining awal dalam media basal xilan agar diketahui bahwa dari 111 isolat jamur yang diperoleh, sebagian besar mempunyai potensi menghasilkan xilanase, akan tetapi hanya 12 isolat yang mempunyai kemampuan xilanolitik tinggi. Skrining selanjutnya dilakukan pada media basal xilan cair menunjukkan bahwa jamur yang diidentifikasi sebagai *Chaetomium globosum*, *Penicillium simplicissimum*, *Aspergillus tamarii* dan *Monocillium* sp. berpotensi unggul dalam menghasilkan xilanase dibandingkan isolat lainnya berdasarkan aktivitas enzim spesifiknya. Keempat jamur tersebut diketahui juga memiliki aktivitas lignolitik dan selulolitik. Oleh karena itu, xilanase yang diproduksi ke empat jamur tersebut berpotensi dikembangkan sebagai agen pemutih pulp.

Kata kunci : industri kertas, jamur tanah, pemutihan pulp, xilanase.

Abstract

*Xylanase has great potential for industry application. Application of xylanase can be done in pretreatment of pulp bleaching in the pulp and paper industry. Enzyme application can reduce the use of chlorine compounds that are harmful to the environment. Therefore, xylanase that used in pulp bleaching should be free of cellulase activity. Fungi are one of the groups of microbes that are able to produce xylanase. The aims of this study was to obtain local xylanase-producing fungal isolates from soil that assumed contain of xylan. The source of fungal isolates were the soil around the pulp and paper industry; Acacia forests in the district Ogan Ilir and Muara Enim, South Sumatra; Wanagama, Yogyakarta; sawmills in Palembang and Yogyakarta; and Palembang landfill. Based on the initial screening in the agar basal medium, 111 fungal isolates were obtained. Most of them were the xylanase-producing fungi, but only 12 fungal isolates that have high xylanolytic capabilities. Further screening was performed on xylan liquid basal medium. The results showed that the fungus identified as *Chaetomium globosum*, *Penicillium simplicissimum*, *Aspergillus tamarii* and *Monocillium* have higher xylanase specific activity than the other isolates. They were also have lignolytic and cellulolytic activities. Therefore, fungal xylanase potentially developed as a pulp bleaching agent.*

Keywords : pulp and paper industry, pulp bleaching soil fungi, xylanase.

PENDAHULUAN

Hemiselulosa merupakan polisakarida terbanyak setelah selulosa dan lignin pada kayu. Hemiselulosa

berikatan dengan lignin dan selulosa. Komponen terbesar hemiselulosa adalah xilan, yang merupakan polimer dari $\beta(1-4)$ D-xylopiranosa (xilosa) dengan ikatan β -1,4-glikosida

(Puspaningsih dkk, 2007). Xilan dalam hemiselulosa dapat dihidrolisis secara enzimatik oleh xilanase. Xilanase dapat dihasilkan oleh mikroorganisme termasuk bakteri dan jamur. Xilanase dari jamur bersifat ekstraseluler sehingga proses ekstraksinya lebih mudah daripada bakteri. Produksi xilanase pada jamur lebih tinggi dibandingkan bakteri yaitu 4 – 400 IU/mL dengan menggunakan berbagai substrat (Pang dan Che-Omar, 2005; Kar dkk, 2006; Knob dan Carmona, 2008).

Xilanase merupakan enzim yang dapat digunakan dalam proses pemutihan (*biobleaching*) *pulp*. Xilanase dapat mendegradasi kandungan xilan dalam *pulp* yang terikat secara kovalen dengan lignin dan selulosa sehingga senyawa kimia lebih mudah masuk dan mereduksi kandungan lignin dalam *pulp* (Guimaraes dkk, 2013). Proses pemutihan (*bleaching*) kertas bubur kertas (*pulp*) selama ini selama ini masih didominasi bahan kimia (senyawa hipoklorit) yang memiliki dampak negatif terhadap lingkungan perairan (sungai, danau, lahan pertanian). Penggunaan senyawa hipoklorit dalam tahap proses pemutihan *pulp* dapat mengakibatkan terbentuknya senyawa fenol terklorinasi yang sulit didegradasi secara alami dan berbahaya bagi lingkungan. Oleh karena itu, perlu dicari alternatif teknologi yang mampu mengurangi bahkan mengganti penggunaan senyawa kimia terutama senyawa hipoklorit dalam proses pemutihan bubur kertas. Teknologi yang menggunakan agen biologis yaitu enzim untuk proses pemutihan *pulp* dapat dimanfaatkan dalam rangka mewujudkan proses industri bersih (Subramaniyan dan Prema, 2002; Angayarkanni dkk, 2006).

Keuntungan menggunakan xilanase adalah mengurangi penggunaan senyawa kimia terutama senyawa hipoklorit yang berpotensi mencemari lingkungan sehingga lebih ramah terhadap lingkungan. Hasil penelitian Savitha dkk (2007) menunjukkan terjadinya penurunan penggunaan senyawa kimia dalam proses pemutihan pulp akibat perlakuan awal menggunakan xilanase. Xilanase yang digunakan dalam industri pulp dan kertas harus memenuhi syarat sesuai kondisi pulp yaitu tahan pada suhu tinggi, bebas dari aktivitas selulase dan aktif pada pH alkali (Raghukumar dkk, 2004).

Variasi struktur xilan pada tumbuhan mengakibatkan adanya perbedaan karakteristik enzim yang bertanggungjawab terhadap hidrolisis xilan. Xilanase dengan karakteristik tertentu diproduksi oleh species jamur yang berlainan pada substrat berbeda. Oleh karena itu usaha untuk terus mencari enzim xilanolitik dari strain jamur indigenous unggul yang sesuai dengan struktur

xilan tumbuhan yang digunakan dalam industri *pulp* dan kertas di Indonesia menjadi sangat penting.

METODE PENELITIAN

Koleksi sampel

Sampel yang digunakan sebagai sumber isolat jamur xilanolitik adalah tanah bagian atas. Tanah di sekitar industri pulp dan kertas PT TEL, PT IKPP, hutan akasia di Kab. Muara Enim dan Ogan Ilir, Sumatera Selatan dan Wanagama, Yogyakarta, penggergajian kayu di kota Palembang dan TPA Palembang digunakan sebagai sumber isolat jamur. Masing-masing sampel tanah dimasukkan ke dalam kantong plastik steril dan agar kondisi sampel tidak berubah maka semua sampel segera disimpan dalam suhu 4 °C (lemari pendingin) sebelum diperlakukan.

Isolasi jamur tanah

Isolasi dilakukan menggunakan medium *Corn Meal Agar (CMA)*. Isolat jamur yang tumbuh kemudian dimurnikan pada medium agar miring. Isolat yang menunjukkan pertumbuhan jamur yang hanya satu macam merupakan isolat yang murni, isolat yang belum murni akan dimurnikan lagi sampai didapatkan isolat murni.

Skrining

Skrining kemampuan xilanolitik masing-masing isolat jamur dilakukan secara bertahap yaitu skrining kualitatif berdasarkan pembentukan zona hidrolisis (zona jernih) pada media agar dan skrining kuantitatif berdasarkan nilai aktivitas enzim masing-masing isolat jamur yang positif (membentuk zona hidrolisis) yang dilakukan pada media cair (Nair dkk, 2008). Media skrining kualitatif dan kuantitatif seperti yang digunakan oleh Kar dkk (2006). Isolat jamur yang membentuk zona hidrolisis ditumbuhkan dalam media cair yang mengandung 1% xilan *birchwood* selama 7 hari di atas *shaker* dengan kecepatan 150 rpm pada suhu kamar. Kemampuan jamur dalam memproduksi xilanase dengan mengukur aktivitas xilanase dalam merombak xilan. Setelah 7 hari, diukur aktivitas xilanasenya (Lemos dkk, 2000).

Aktivitas xilanase

Kultur jamur disaring menggunakan kertas saring. Filtrat disentrifugasi pada 3000 rpm selama 20 menit pada suhu 4 °C. Supernatan yang diperoleh digunakan untuk pengukuran aktivitas enzim dan kadar protein. Aktivitas xilanase dilihat menggunakan metode Bailey dengan xilosa sebagai standar (Bailey dkk, 1992). Satu unit aktivitas

enzim dinyatakan sebagai jumlah enzim yang mampu melepaskan gula reduksi yang setara dengan 1 μ mol xilosa per menit. Konsentrasi protein diukur menggunakan metode Bradford dengan BSA sebagai standar.

Kemampuan isolat unggul terhadap selulosa dan lignin

Isolat jamur unggul diamati kemampuan selulolitik dan lignolitik masing-masing menggunakan media basal yang mengandung CMC dan asam tanat. Konsentrasi CMC dan asam tanat yang digunakan masing-masing adalah 1% dan 0,5%.

Identifikasi jamur terpilih

Isolat jamur unggul diidentifikasi berdasarkan karakter morfologi mikroskopis dan makroskopisnya. Hasil yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan jamur yang telah diidentifikasi berdasarkan pustaka (Samson dkk, 2004; Pitt dan Hocking, 1997).

HASIL DAN PEMBAHASAN

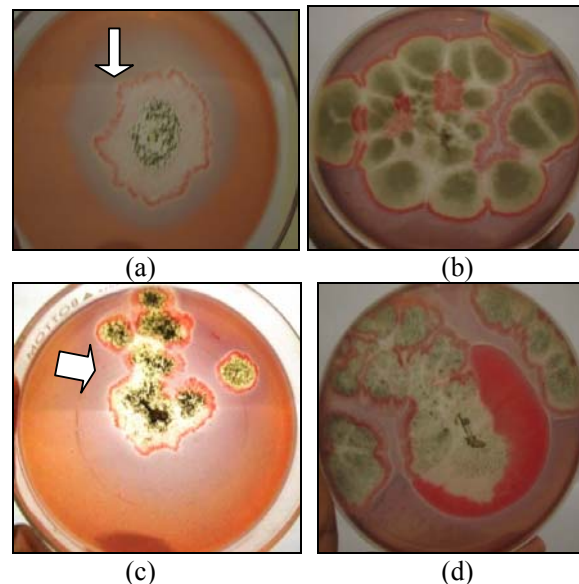
Isolasi jamur dari tanah di sekitar industri pulp dan kertas PT TEL, PT IKPP, hutan akasia di Kabupaten Muara Enim dan Ogan Ilir, Sumatera Selatan dan Wanagama, Yogyakarta, penggergajian kayu di kota Palembang dan TPA Palembang menghasilkan 111 isolat jamur. Penggunaan tanah sebagai sumber isolat jamur diasumsikan bahwa tanah tersebut banyak mengandung sisa tumbuhan yang merupakan sumber utama xilan. Sebagai organisme heterotrof, jamur sangat menyukai lingkungan dengan bahan organik tinggi sebagai habitatnya.

Hampir semua isolat jamur yang diperoleh diketahui mampu merombak xilan. Hal ini menunjukkan bahwa sebenarnya jamur xilanolitik mudah ditemui di habitat yang memiliki kandungan substrat xilan, seperti tanah hutan dan penggergajian kayu. Kemampuan ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni. Pembentukan zona bening pada media agar yang mengandung 1% *birchwood xylan* sebagai satu-satunya sumber karbon menunjukkan terjadinya hidrolisis xilan oleh isolat jamur (Gambar 1). Hidrolisis xilan ini disebabkan karena jamur

mampu menghasilkan enzim xilanase (Nair dkk, 2008).

Jamur yang menunjukkan kemampuan xilanolitik tinggi pada media agar basal diuji kembali pada media cair. Skrining pada media cair yang juga mengandung 1% *birchwood xylan* menunjukkan adanya kemampuan isolat jamur yang bervariasi dalam menghasilkan xilanase. Berdasarkan pengujian aktivitas xilanolitik pada media cair diketahui bahwa *C. globosum* mempunyai aktivitas spesifik tertinggi (470,7844 U/mg protein) di antara isolat jamur yang lain. Selain itu *P. simplicissimum* (286,6156 U/mg protein), *A. tamarii* (163,0258 U/mg protein) dan *Monocillium* sp. (127,4046) juga memiliki aktivitas cukup tinggi dibandingkan isolat jamur lain (Tabel 1).

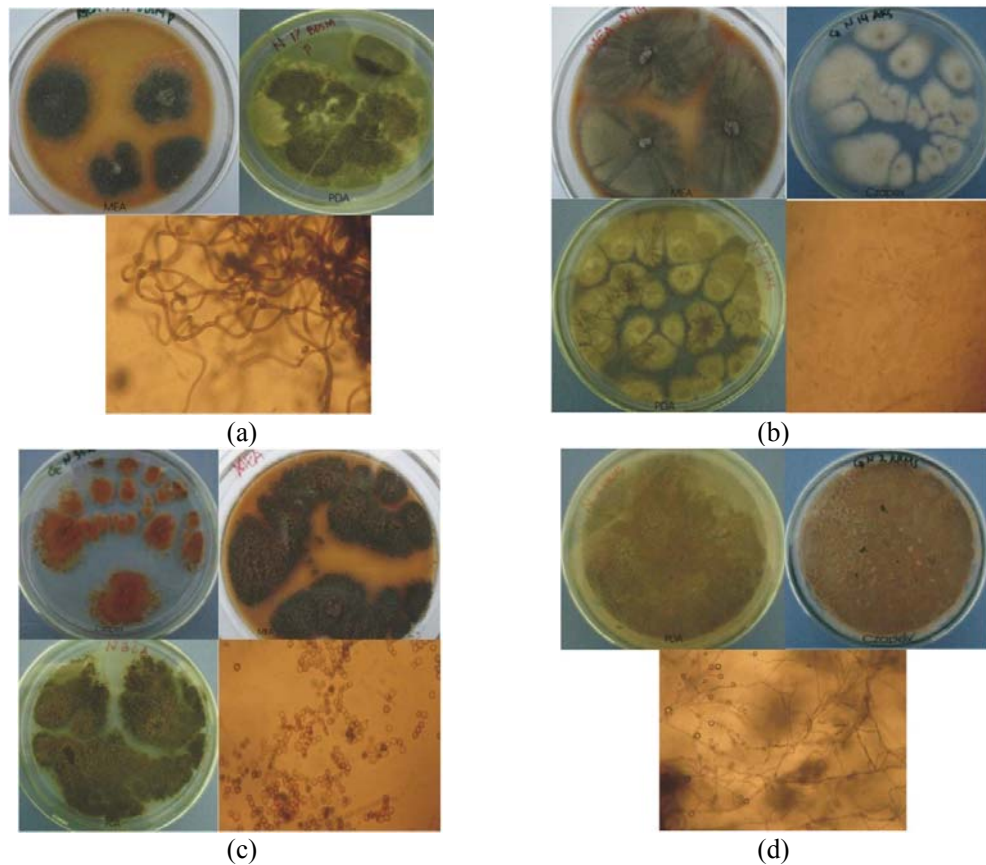
P. simplicissimum dan *Monocillium* sp. merupakan isolat yang berasal dari tanah penggergajian kayu yang ada di Palembang sedangkan *Aspergillus tamarii* diperoleh dari tanah penggergajian kayu di Yogyakarta. Sisa kayu yang telah lapuk dan serbuk gergaji mengandung sumber nutrisi yang baik bagi jamur, terutama kandungan xilan.



Gambar 1. Zona bening pada media basal xilan (tanda panah) (a) *C. globosum*, (b) *P. simplicissimum*, (c) *A. tamarii* dan (d) *Monocillium* sp.

Tabel 1. Indeks xilanolitik dan aktivitas enzim isolat jamur unggul.

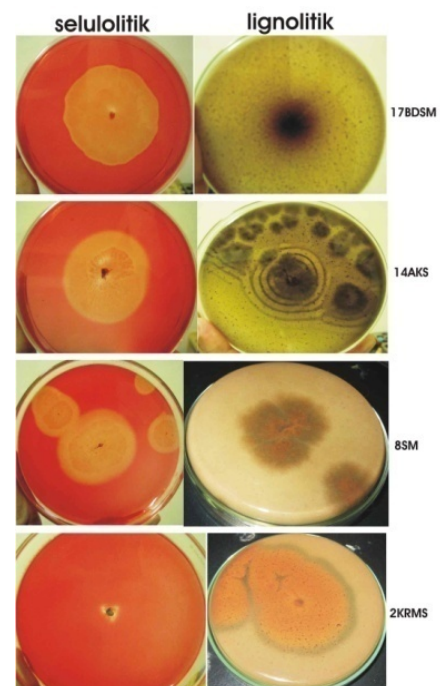
Kode isolat	Nama	Indeks xilanolitik	Aktivitas spesifik xilanase (U/mg)	Indeks selulolitik	Indeks lignolitik
17BDSM	<i>Chaetomium globosum</i>	1,191	470,784	1,121	1,753
14AKS	<i>Penicillium simplicissimum</i>	1,188	286,616	1,288	1,073
8SM	<i>Aspergillus tamarii</i>	1,350	163,026	1,426	1,000
2KRMS	<i>Monocillium</i> sp.	1,171	127,405	1,000	1,139



Gambar 2. Karakter morfologi jamur xilanolitik unggul (a) *C. globosum*, (b) *P. simplicissimum*, (c) *A. tamarii* dan (d) *Monocillium* sp.

Xilanase dari genus *Aspergillus* telah banyak diketahui, antara lain *A. niger* (Pang dan Che-Omar, 2005), *A. caespitosus* dan *A. phoenicis* (Guimaraes dkk, 2006), *A. niveus* (Sudan dan Bajaj, 2007), dan *A. oryzae* (Oda dkk, 2006). Demikian juga halnya dengan xilanase dari genus *Penicillium* antara lain yaitu *P. oxalicum* (Muthezilan dkk, 2007), *P. sclerotiorum* (Knob dan Carmona, 2008) dan *P. canescens* (Assamoi dkk, 2008). Isolat jamur tersebut merupakan isolat lokal sehingga aktivitas xilanolitiknya diharapkan lebih baik karena sesuai dengan kondisi lingkungan di Indonesia.

Jamur xilanolitik juga mampu menghasilkan ligninase dan selulase. Ligninase sangat menguntungkan dalam proses pemutihan pulp, karena akan menghilangkan kandungan lignin yang menyebabkan warna coklat pada pulp. Oleh karena itu pemanfaatan campuran xilanase dan ligninase akan memberikan hasil yang lebih baik, terutama dalam pengurangan bahan kimia dalam proses pemutihan pulp. Akan tetapi keberadaan selulase sangat merugikan proses pemutihan pulp karena akan mendegradasi selulosa yang merupakan bahan utama kertas. *C. globosum*, *P. simplicissimum*, *A.*



Gambar 3. Kemampuan selulolitik dan lignolitik masing-masing isolat jamur (zona jernih menunjukkan kemampuan enzimatik).

tamaris dan *Monocillium* sp. mempunyai kemampuan lignolitik maupun selulolitik (Gambar 3 dan Tabel 1) dan *C. globosum* menunjukkan kemampuan tertinggi dilihat dari indeks lignolitiknya. Semua isolat jamur kecuali *Monocillium* sp. juga menunjukkan kemampuan selulolitik tinggi. Potensi *C. globosum* ini dapat dikembangkan untuk pemanfaatannya di masa datang dan kemampuan selulolitik jamur dapat diminimalisasi dengan berbagai perlakuan, misalnya mutasi. Isolat jamur yang mempunyai aktivitas xilanolitik tinggi dalam menggunakan *birchwood xylan* ini berpotensi dikaji lebih jauh produksi xilanasenya. *Birchwood xylan* merupakan komponen xilan utama dalam kayu keras (*hardwood*) yang banyak digunakan sebagai bahan baku pulp (Sunna dan Antranikian, 1997).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh 111 isolat fungi dan empat di antaranya merupakan penghasil xilanase tertinggi. Keempat fungi tersebut diidentifikasi sebagai *Chaetomium globosum*, *Penicillium simplicissimum*, *Aspergillus tamari* dan *Monocillium* sp. Berdasarkan kemampuan xilanolitik dan lignolitiknya, keempat jamur tersebut berpotensi dikembangkan dan dimanfaatkan dalam industri pulp dan kertas berdasarkan sifat xilanolitik dan lignolitiknya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan pada DP2M DIKTI melalui Hibah Penelitian Disertasi yang telah membiayai sebagian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Angayarkanni, J., Palaniswamy, M., Pradeep, B.V. dan Swaminathan, K. 2006. Biochemical Substitution on Fungal Xylanases for Prebleaching of Hardwood Kraft Pulp. *Afr. J. Biotechnol.* 5(10):921-929.

Assamoi, A.A., Delvigne, F., Aldric, J., Destain, J. dan Thonart, P. 2008. Improvement of Xylanase Production by *Penicillium canescens* 10-10c in Solid-State Fermentation. *BASE.* 12(2):111-118.

Bailey, M.J., Biely, P. dan Poutanen, K. 1992. Interlaboratory Testing of Methods for Assay of Xylanase Activity. *J. Biotech.* 23:257-270.

Guimarães. L.E.S., Peixoto-Nogueira, S.C., Michelin, M., Rizzatti, A.C.S., Sandrim, V.C., Zanoelo, F.F., Aquino, A.C.M.M., Junior, A.B. dan Polizeli, M.L.T.M. 2006. Screening of Filamentous Fungi for Production of Enzymes

of Biotechnological Interest. *Brazilian J. Microbiol.* 37:474-480.

Guimaraes, N.C.A., Sorgatto, M., Peixoto-Nogueira, S.C., Betini, J.H.A., Zanoelo, F.F., Marques, M.R., Polizeli, M.L.T.M. dan Giannesi, G.C.. 2013. Bioprocess and Biotechnology: Effect of Xylanase from *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus* on Pulp Biobleaching and Enzyme Production Using Agroindustrial Residues as Substrate. *SpringerPlus.* 2:380-386.

Kar, S., Mandal, A., das Mohapatra, P.K., Mondal, K.C. dan Pati, B.K. 2006. Production of Cellulose-Free Xylanase by *Trichoderma reesei* SAF3. *Brazilian J. Microbiol.* 37:462-464.

Knob, A dan Carmona, E.C. 2008. Xylanase Production by *Penicillium sclerotiorum* and Its Characterization. *World Appl. Sci. J.* 4(2):277-283.

Lemos, J.L.S., Bon, E.P.S., Santana, M.F.E. dan Junior, N.P. 2000. Thermal Stability of Xylanases Produced by *Aspergillus awamori*. *Brazilian J. Microbiol.* 31(3):206-211.

Muthezhilan, R., Ashok, R. dan Jayalakshmi, S. 2007. Production and Optimization of Thermostable Alkaline Xylanase by *Penicillium oxalicum* in Solid STATE fermentation. *Afr. J. Biotechnol.* 6:020-028.

Nair, S.G., R. Sindhu dan S. Shashidar. 2008. Fungal Xylanase Production Under Solid State and Sub-Merged Fermentation Conditions. *Afr. J. Microbiol. Res.* 2:82-86.

Oda, K., Kakizono, D., Yamada, O., Iefuji, H., Akita, O. dan Iwashita, K. 2006. Proteomic Analysis of Extracellular Proteins from *Aspergillus oryzae* Grown under Submerged and Solid-State Culture Conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 72(5):3448-3457.

Pang, P.K. dan Che-Omar, I. 2005. Xylanase Production by Local Fungal Isolate *Aspergillus niger* USMA11 via Solid State Fermentation Using Palm Kernel Cake (PKC) as Substrate. *Songklanarin J. Sci. Technol.* 27(1):325-336.

Pitt, J.I. dan Hocking, A.D. 1997. *Fungi and Food Spoilage*. Blackie Academic dan Professional. London. pp 21-416.

Puspaningsih, N.N.T., Suwito, H., Sumarsih, S., Rohman, A. dan Asmarani, O. 2007. Hidrolisis Beberapa Jenis Xilan Dengan Enzim Xilanolitik Termofilik Rekombinan. *Berkala Penelitian Hayati.* 12:191-194.

Raghukumar, C., Muraleedharan, U., Gaud, V.R. dan Mishra, R. 2004. Xylanases of Marine Fungi of Potential Use for Biobleaching of Paper Pulp. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 31(9):433-441.

- Samson, R.A., Hoekstra, E.S. dan Privad, J.C. 2004. *Introduction to Food and Airborne Fungi*. Seventh Edition. Centralbureau voor Schimmelcultures. The Nederlands. pp 389.
- Savitha, S., Sadhasivam, M. dan Swaminathan, K. 2007. Application of *Aspergillus fumigatus* Xylanase for Quality Improvement of Waste Paper Pulp. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 78:217–221.
- Subramanian, S dan Prema, P. 2002. Biotechnology of Microbial Xylanases : Enzymology, Molecular Biology and Application. *Crit. Rev. Biotech.* 22(1):33–46.
- Sudan R. dan Bajaj, B.K. 2007. Production and Biochemical Characterization of Xylanase from An Alkalitolerant Novel Species *Aspergillus niveus* RS2. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 23:491–500.
- Sunna, A. dan G. Antranikian. 1997. Xylanolytic Enzymes from Fungi and Bacteria. *Crit. Rev. Biotech.* 17(1):39-67.