

PERBANDINGAN EFEKTIVITAS DELIGNIFIKASI BIOMASSA LIGNOSELULOSA DENGAN METODE FERMENTASI FASA PADAT DAN METODE NON-BIOLOGIS

Hilman Taufiq¹, Wiwit Ridhani² & V. Sri Harjati Suhardi¹

¹Program Studi Mikrobiologi, Institut Teknologi Bandung, Jl. Ganeca 10, Bandung

²Pusat Ilmu Hayati, Institut Teknologi Bandung, Jl. Ganeca 10, Bandung

Email: hilmantq@gmail.com

ABSTRAK

Pengembangan metode delignifikasi berperan penting dalam pembuatan etanol berbahan baku lignoselulosa. Delignifikasi merupakan pemecahan polimer lignin yang melapisi selulosa dan hemiselulosa. Selulosa dan hemiselulosa kemudian difermentasi menjadi etanol. Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan efektivitas delignifikasi metode fermentasi fasa padat menggunakan jamur pelapuk putih, dan metode fisik. Pertama, dipilih 3 spesies jamur pelapuk putih dengan aktivitas lakase tinggi, yaitu *Trametes hirsuta*, *Trametes versicolor* dan *Marasmius sp.*. Kemudian, dipilih 3 jenis limbah lignoselulosa berdasarkan kelimpahannya di Indonesia, yaitu batang jagung, jerami padi & pelepah sawit. Setelah itu, 1 spesies jamur diinokulasi tepat untuk salah satu jenis biomassa. Hasil pengamatan aktivitas lakase selama 17 hari menunjukkan bahwa *Trametes hirsuta* menghasilkan aktivitas lakase tertinggi dengan media batang jagung pada hari ke 17 (20.67U/L). Sedangkan *Marasmius sp.* menghasilkan aktivitas lakase tertinggi dengan media pelepah sawit pada hari ke 12 (8.06U/L). Adapun biomassa jerami padi memberikan konsentrasi lakase yang cenderung tinggi untuk ketiga spesies jamur. Pada akhir penelitian, jumlah glukosa yang terbentuk antara batang jagung dan *Trametes hirsuta* adalah 744.13mg / L, antara daun-daun palem dan *Trametes hirsuta* adalah 957.99mg / L, dan antara jerami padi dan *Marasmius sp.* adalah 804.47mg / L. Disimpulkan bahwa aktivitas lakase tinggi tidak berbanding lurus dengan rendemen glukosa yang dihasilkan.

Kata kunci: delignifikasi, jamur pelapuk putih, lakase

ABSTRACT

*Delignification method development plays an important role for the production of lignocellulose ethanol. The structure of lignin polymer that coats cellulose and hemicellulose is broken down in the delignification process. Cellulose and hemicellulose can then be accessed, then fermented into ethanol. This study was conducted to compare the effectiveness of delignification between solid state fermentation method using white rot fungi, and physical methods. First, choose the 3 species of white rot fungi with high laccase activity, i.e. *Trametes hirsuta*, *Trametes versicolor* and *Marasmius sp.*. Then, choose 3 kinds of lignocellulose waste based on its abundance in Indonesia, ie corn stalks, rice straw and palm frond. Afterwards, 1 species of fungi inoculated precisely to one kinds of biomass. The observation of the activity of laccase for 17 days showed that *Trametes hirsuta* produces the highest laccase activity with corn stalks media at day 17 (20.67U / L). While *Marasmius sp.* produces the highest laccase activity with palm fronds media on day 12 (8.06U / L). As for rice straw biomass provide laccase concentration tends to be high for all three species of fungi. It was concluded that high laccase activity is not directly proportional to the yield of glucose produced.*

Key words: delignification, white rot fungi, laccase.

PENDAHULUAN

Biomassa lignoselulosa merupakan bahan baku yang sangat potensial bagi industri etanol^[1]. Hal ini disebabkan kelimpahan biomassa lignoselulosa di Indonesia sangat besar serta tidak

termasuk bahan pangan. Terdapat 3 jenis biomassa lignoselulosa yang sangat melimpah di Indonesia, yaitu batang jagung, pelepah sawit & jerami padi. Tahun 2011, tercatat Indonesia menghasilkan 26 juta ton limbah batang jagung^[2], 50 juta ton limbah pelepah sawit^[3], serta 91 juta ton limbah jerami padi^[4].

Biomassa lignoselulosa perlu melalui tahap *pretreatment* agar dapat diolah menjadi etanol. Setelah struktur polimer lignin yang ada rusak, selulosa dan hemiselulosa yang terdapat didalam dapat dipecah menjadi monosakarida & masuk tahap fermentasi menjadi etanol. Penentuan metode *pretreatment* yang tepat dapat membantu pengembangan teknik fermentasi etanol secara lebih efisien^[5]. Pada penelitian ini dilakukan perbandingan aktivitas delignifikasi biomassa batang jagung, pelepah sawit dan jerami padi dengan metode fermentasi fasa padat dan metode non-biologis.

Biomassa Lignoselulosa

Batang jagung dikumpulkan pada tanggal 6 Juli 2013 dari kebun jagung di Jalan Cilengkrang, Desa Palasari, Kecamatan Cibiru, Bandung, Jawa Barat. Jerami padi dikumpulkan pada tanggal 6 Juli 2013 dari Kampung Padi, Kelurahan Dago, Bandung, Jawa Barat. Pelepah sawit dikumpulkan pada tanggal 7 Juli 2013 dari perkebunan sawit Desa Bayah, Kabupaten Lebak, Banten. Kultur *Trametes hirsuta*, *Trametes versicolor* dan *Marasmius sp.* disediakan oleh Laboratorium Mikologi, Pusat Ilmu Hayati PAU, Institut Teknologi Bandung.

Mikroorganisme

Tiga spesies jamur pelapuk putih, *Trametes hirsuta*, *Trametes versicolor* dan *Marasmius sp.*, disediakan oleh laboratorium Mikologi, Pusat Ilmu Hayati PAU ITB

Seleksi pasangan fungi-substrat dan delignifikasi

Langkah ini dilakukan untuk menentukan fungi dengan kemampuan delignifikasi terbaik dalam proses delignifikasi tiap biomassa. Tiga jenis biomassa dipotong dengan panjang antara 2 – 5cm, kemudian dikeringkan pada suhu 105°C selama 24 jam. Fermentasi kultur pada dilakukan dengan cara, tiap substrat dibagi 3 jenis perlakuan *pre treatment* fungi, dan pada tiap perlakuan dilakukan tiga kali pengulangan, sehingga didapat 9 perlakuan dengan 27 *batch* fermentasi yang dilakukan pada wadah *ziplock*. Tiap *batch* terdiri dari 3 wadah *ziplock*, dengan wadah pertama dan kedua digunakan untuk pengujian aktivitas enzim lakase, serta wadah ketiga digunakan untuk proses sakarifikasi. Tiap *batch* diisi dengan 5 gram biomassa dan 10 mL medium Kirk yang telah dimodifikasi. Selanjutnya dilakukan inokulasi jamur ke dalam substrat, dengan memasukkan 2 potong agar berukuran 1.5 x 1.5 cm untuk selanjutnya diinkubasi pada suhu 20°C. Aktivitas enzim lakase dianalisis pada hari ke- 8, 12 dan 17. Perlakuan dengan aktivitas lakase terbaik akan masuk pada tahap sakarifikasi.

Pada delignifikasi kimiawi, biomassa dikeringkan pada suhu 105°C selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan perendaman didalam H₂SO₄ 3%, dengan perbandingan massa biomassa dan volume larutan asam 1:15 (5 gram biomassa dalam 75mL larutan asam encer) selama 24 jam dan dilanjutkan dengan proses autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit, kemudian larutan H₂SO₄ dibuang. Tiap sampel dibilas dengan dH₂O sebanyak tiga kali, dengan tiap pencucian dilakukan selama 1 jam. Sedangkan perlakuan secara fisik, larutan H₂SO₄ 3% diganti dengan dH₂O.

Ekstraksi enzim

Ekstraksi enzim dilakukan pada hari ke- 8, 12 dan 17, untuk menentukan aktivitas enzim lakase. Ekstraksi 1 gram sampel dilakukan dengan menambahkan 20 mL buffer fosfat 20 mM pH 6 dan dilanjutkan dengan agitasi menggunakan shaker pada 150 rpm selama 2 jam. Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan kertas saring hingga didapat ekstrak kasar enzim siap uji.

Uji aktivitas enzim lakase

Aktivitas enzim lakase ditentukan dengan 2,2'-azinobis (3-ethylbenzthiazoline 6 sulphonic acid) (ABTS) yang dilarutkan dalam 0.4 mM buffer Na-Asetat pH 4.5. Oksidasi ABTS ditentukan dari peningkatan absorbansi pada A_{420} ($\epsilon_{420} = 36 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) yang diukur menggunakan spektrofotometer. Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk mengoksidasi 1 μmol ABTS^[6].

Sakarifikasi enzimatis

Biomassa yang telah melewati tahap delignifikasi, baik secara mikrobiologi, fisik ataupun kimiawi, kemudian memasuki tahap sakarifikasi. Sakarifikasi dilakukan dengan menggunakan enzim selulase (disediakan oleh PT. Sadya Balawan). Pada tahap awal, dilakukan penentuan aktivitas enzim selulase dengan menggunakan substrat *carboxymethyl cellulose* (CMC), kemudian dilakukan penentuan kadar glukosa yang terbentuk dengan menggunakan reagen *dinitrosalicylic acid* (DNS). Setelah itu, 100mL selulase diencerkan dalam 4000mL buffer fosfat 20mM pH 5.8. Selanjutnya, dilakukan perendaman 5gram substrat dalam 100mL larutan enzim selulase encer selama 18 jam. Jumlah gula monosakarida yang terbentuk ditentukan dengan reagen DNS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Lignoselulosa merupakan materi kering yang terdapat pada tumbuhan. Sering disebut sebagai biomassa lignoselulosa^[7]. Biomassa lignoselulosa terdiri dari polimer selulosa dan hemiselulosa yang diikat oleh polimer lignin. Pada produksi etanol dengan bahan baku biomassa lignoselulosa, struktur polimer lignin perlu dirusak agar selulosa dan hemiselulosa yang terdapat didalamnya dapat diakses^[5]. Polimer lignin memiliki 3 jenis monomer penyusun utama, yaitu *p-coumaryl alcohol*, *coniferyl alcohol* dan *sinaphyl alcohol*^[10]. Beberapa kelompok mikroba seperti jamur pelapuk putih mempunyai kemampuan untuk merusak polimer lignin tersebut dengan mensekresikan enzim lakase^[8].

Lakase (EC 1.10.3.2, p-diphenol oxidase) merupakan satu dari beberapa enzim yang telah mulai dipelajari sejak abad ke 19. Lakase merupakan enzim yang mengandung atom tembaga, dan mampu mengkatalis proses oksidasi berbagai macam substrat organik dan anorganik. Diantara substrat yang dapat dioksidasi oleh lakase yaitu mono-, di-, dan polifenol, amino fenol, metoksi fenol dan senyawa amina aromatik^[9]. Sehingga diasumsikan struktur lignin pada biomassa batang jagung, pelepah sawit, serta jerami padi dapat rusak oleh enzim lakase tersebut.

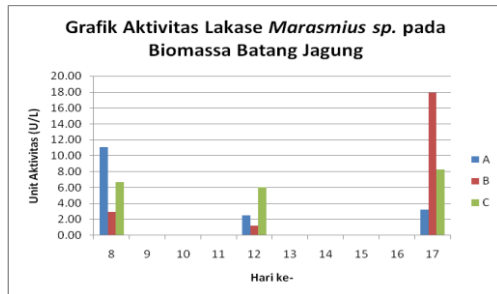
Seleksi pasangan fungi substrat

Pada bagian awal penelitian ini, dilakukan seleksi pasangan fungi-substrat dengan aktivitas enzim lakase tertinggi. Tujuan bagian penelitian ini yaitu untuk memilih jamur pelapuk putih yang menghasilkan aktivitas lakase tertinggi dengan biomassa batang jagung, pelepah sawit

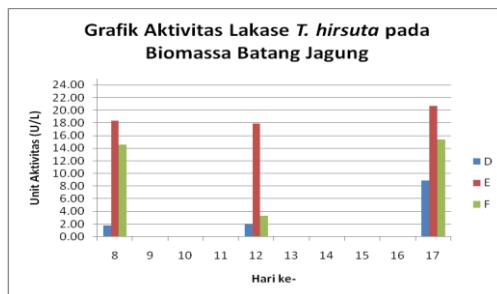
& jerami padi. Sehingga dari 9 perlakuan didapat 3 perlakuan untuk masuk ke tahap sakarifikasi.

Aktivitas enzim lakase jamur pelapuk putih pada batang jagung

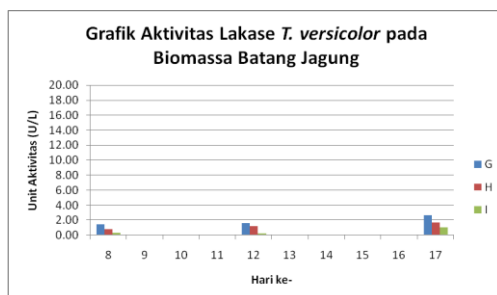
Hasil pengujian aktivitas enzim lakase *Marasmius sp.*, *Trametes hirsuta*, dan *Trametes versicolor* yang ditumbuhkan pada biomassa batang jagung (gambar 1, gambar 2 dan gambar 3).



Gambar 1 Grafik aktivitas enzim lakase *Marasmius sp.* pada biomassa batang jagung.



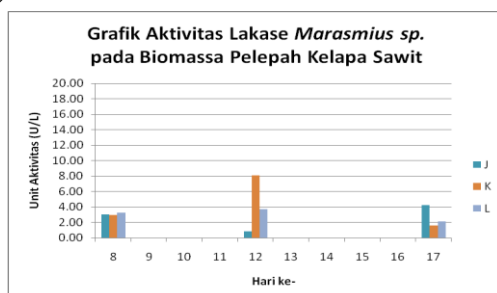
Gambar 2 Grafik aktivitas enzim lakase *T. hirsuta* pada biomassa batang jagung.

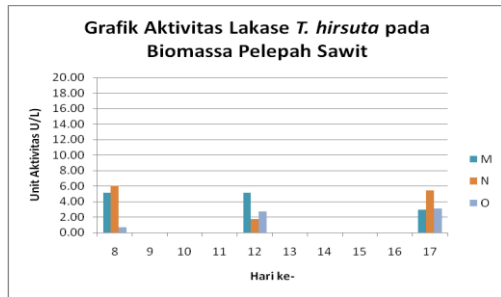
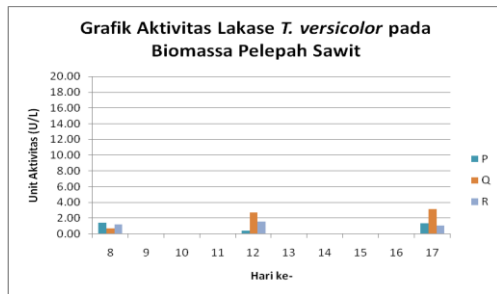


Gambar 3 Grafik aktivitas enzim lakase *T. versicolor* pada biomassa batang jagung. Fungi *T. hirsuta* menghasilkan aktivitas lakase tertinggi (20.67 U/L) dibandingkan dengan fungi *Marasmius sp.* (8.92 U/L) dan *T. versicolor* (2.68 U/L).

Aktivitas enzim lakase jamur pelapuk putih pada biomassa pelepah sawit

Hasil pengujian aktivitas enzim lakase *Marasmius sp.*, *Trametes hirsuta*, dan *Trametes versicolor* yang ditumbuhkan pada biomassa pelepah sawit (gambar 4, gambar 5 dan gambar 6).

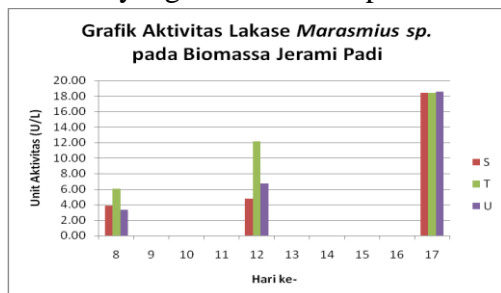
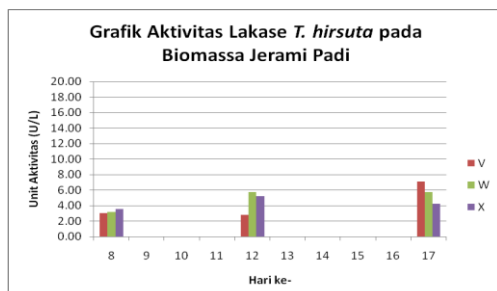


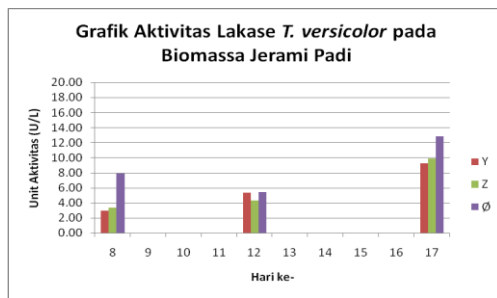
Gambar 4 Grafik aktivitas enzim lakase *Marasmius sp.* pada biomassa pelepah sawit**Gambar 5** Grafik aktivitas enzim lakase *T. hirsuta* pada biomassa pelepah sawit**Gambar 6** Grafik aktifitas enzim lakase *T. versicolor.* pada biomassa pelepah kelapa sawit.

Fungi *T. hirsuta* menghasilkan aktivitas lakase cenderung tinggi (6.07 U/L) dibandingkan dengan fungi *T. versicolor* (3.14 U/L) dan fungi *Marasmius sp.*, meskipun pada pengujian hari ke 12 *batch K* didapat aktivitas lakase sebesar 8.06 U/L, namun aktivitas lakase *Marasmius sp.* secara umum dibawah 4 U/L.

Aktivitas enzim lakase jamur pelapuk putih pada biomassa jerami padi

Hasil pengujian aktivitas enzim lakase *Marasmius sp.*, *Trametes hirsuta*, dan *Trametes versicolor* yang ditumbuhkan pada biomassa jerami padi (gambar 7, gambar 8 dan gambar 9).

**Gambar 7** Grafik aktivitas enzim lakase *Marasmius sp.* pada biomassa jerami padi**Gambar 8** Grafik aktivitas enzim lakase *T. hirsuta* pada biomassa jerami padi



Gambar 9 Grafik aktivitas enzim lakase *T. versicolor* pada biomassa jerami padi

Aktivitas enzim lakase ketiga jenis fungi cenderung sama tinggi pada biomassa jerami padi, baik pada *Marasmius sp.* (18.38 U/L), *T. hirsuta* (7.11 U/L) dan *T. versicolor* (12.88 U/L). Fungi *Marasmius sp.* dipilih karena memperlihatkan kenaikan tajam aktivitas lakase pada hari ke 17 (Gambar 7) dibandingkan *T. hirsuta* (Gambar 8) dan *T. versicolor* (Gambar 9).

Delignifikasi

Pada penelitian ini, proses delignifikasi secara mikrobiologis dilakukan bersamaan dengan proses seleksi pasangan fungi-substrat. Pada hari ke 21, *ziplock* ketiga dari tiap perlakuan yang terpilih dipisahkan, untuk selanjutnya masuk pada tahap sakarifikasi.

Sakarifikasi

Proses sakarifikasi dilakukan untuk memproses selulosa menjadi glukosa. Proses ini dimungkinkan terjadi, karena struktur lignin yang membungkus selulosa & hemiselulosa telah rusak / rusak sebagian pada proses delignifikasi.

Penentuan kadar gula pereduksi

Setelah proses sakarifikasi, maka akan terdapat gula-gula monosakarida yang siap difermentasi. Berikut hasil pengukuran kadar gula pereduksi dengan reagen DNS.

Tabel 1 Jumlah gula pereduksi hasil sakarifikasi

Biomassa	Chemical treatment (mg/L)	Fungal treatment (mg/L)	Physical treatment (mg/L)
Batang jagung	803.46	744.13	745.14
Pelepah sawit	676.76	957.99	858.77
Jerami padi	708.94	804.97	725.03

Dalam penelitian ini, jumlah gula yang dihitung tidak hanya glukosa, tapi juga seluruh gula pereduksi. Karena diasumsikan, mikroba yang akan digunakan pada proses fermentasi dapat menggunakan berbagai macam monosakarida untuk dikonversi menjadi etanol. Dari tabel 1 dapat dilihat bahwa jumlah gula pereduksi yang terukur cenderung tidak begitu berbeda. Diasumsikan hal ini terjadi akibat daya dukung enzim selulase komersil yang digunakan telah mencapai titik maksimum. Selain itu, kadar gula pereduksi yang ada pada *chemical treatment* dan *physical treatment* juga dapat diakibatkan ketiga substrat yang sempat ditumbuhi fungi saat masa penyimpanan, sebelum dilakukan pengolahan.

Kadar gula pereduksi pada *funggal treatment* yang cenderung tinggi diasumsikan terbentuk akibat pemecahan selulosa dan hemiselulosa oleh jamur. Jamur pelapuk putih mendegradasi lignin karena membutuhkan selulosa dan hemiselulosa sebagai sumber karbon. Oleh karena itu, jamur pelapuk putih dapat mensekresi enzim selulase, saat selulosa telah dapat diakses. Hal ini memungkinkan terjadinya sakarifikasi dini. Gula pereduksi hasil *chemical treatment* pada biomassa batang jagung lebih banyak dibandingkan dengan *funggal treatment* dan *physical treatment*. Hal ini kemungkinan disebabkan kandungan gula pereduksi bawaan pada batang jagung, dan penggunaan H₂SO₄ pada proses delignifikasi memberikan efek signifikan. Pada biomassa pelepah sawit, terlihat bahwa *physical treatment* lebih efektif dibandingkan *chemical treatment*. Hal ini mungkin disebabkan oleh struktur lignin pada pelepah sawit yang kompleks. Sedangkan pada *funggal treatment* justru memberikan nilai yang cukup tinggi sebesar 957.99mg/L, meskipun aktivitas lakase yang didapat lebih rendah dibandingkan dengan aktivitas lakase. Fungsi pada batang jagung dan jerami padi. Diasumsikan hal ini terjadi karena aktivitas spesifik enzim lakase pada pelepah sawit sangat tinggi.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa secara umum, fungsi *T. hirsuta* mampu menghasilkan enzim lakase dengan jumlah paling tinggi dibanding kedua fungsi lain, sehingga cocok digunakan dalam proses delignifikasi. Kemudian, *pretreatment* dengan proses autoklaf mampu memberikan rendemen glukosa yang cukup signifikan terhadap biomassa batang jagung, pelepah sawit, dan jerami padi.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Anonim, *Krisis Hutang AS dan Subsidi Etanol*, Kementrian Energi dan Sumber Daya Mineral, <http://www.esdm.go.id/berita/artikel/56-artikel/4924-krisis-hutang-as-dan-subsidi-etanol-.html>, (14 September 2011).
- [2] Bamualim, A., & Wirdayati, R.B., *Nutrition and management strategies to improve Bali cattle productivity in Nusa Tenggara*, ACIAR Proceedings, 17-22, 2003.
- [3] Sahmadi, *Pengaruh Intensitas Pencahayaan Terhadap Arah Pertumbuhan Kelapa Sawit*, Departemen Pertanian Fakultas Pertanian USU, Medan. 2006.
- [4] Kim, S., & Dale, B.E., *Global Potential Bioethanol Production from Wasted Crops and Residues*, Biomass and Bioenergy 26 361-375, Elsevier, 2004.
- [5] Suhardi, V.S.H., Prasai, B, Samaha, D, & Boopathy, R., *Combined Biological and Chemical Pretreatment Method for Lignocellulosic Ethanol Production from Energy Cane*, Herbert Open Access Journal, 2013.
- [6] Risdianto, H., Sofianti, E., Suhardi, S.H., Setiadi, T., *Optimization of Laccase Production using White Rot Fungi and Agricultural Wastes in Solid-State Fermentation*, ITB J. Eng. Sci., Vol. 44, No. 2, 2012, 93-105.
- [7] Carroll, A., & Somerville, C., *Cellulosic Biofuels*, Annual Review of Plant Biology 2009, Vol. 60, pp. 165-182. doi:10.1146/annurev.arplant.043008.092125
- [8] Kirk, T.K., & Farrell, R.L., *Enzymatic "Combustion": The Microbial Degradation of Lignin*, Ann. Rev. Microbiol 41:465-505, 1987.
- [9] Galhaup, C., Goller, S., Peterbauer, C.K., Strauss, J., & Haltrich, D., *Characterization of The Major Laccase Isoenzyme from Trametes pubescens and Regulation of Its synthesis by metal ions*, Microbiology 148, 2159-2169, 2002.
- [10] Rubin, E., *Genomics of Cellulosic Biofuel*, Nature 454, 841-845, 2008.

ANALISIS USAHA PERIKANAN TANGKAP BERWAWASAN LINGKUNGAN DALAM Mendukung KABUPATEN KARIMUN SEBAGAI KAWASAN *FREE TRADE ZONE*

Hazmi Yuliansyah¹, Filiatra², Sukendi³ dan Zulkarnaini⁴

¹Staff Dinas Kelautan dan Perikanan Kab.Karimun

¹Mahasiswa Program Doktor Ilmu Lingkungan Universitas Riau

²Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

^{3,4}Dosen Program Studi Ilmu Lingkungan Universitas Riau

Email :iansyahhouse@gmail.com

ABSTRAK

Sistem pengelolaan usaha dan penguasaan teknologi tepat guna yang masih lemah merupakan permasalahan perikanan tangkap yang paling banyak dijumpai di Kabupaten Karimun. Pengembangan usaha perikanan tangkap harus dapat memecahkan masalah tersebut dan meningkatkan posisi tawar Kabupaten Karimun di kawasan free trade zone. Penelitian ini bertujuan menganalisis perkembangan usaha perikanan tangkap dan jenis usaha perikanan tangkap unggulan yang berwawasan lingkungan di Kabupaten Karimun. Metode yang digunakan terdiri dari metode deskriptif dan metode skoring. Jumlah usaha perikanan tangkap yang beroperasi di Kabupaten Karimun berfluktuasi setiap tahunnya. Jumlah tertinggi terjadi pada tahun 2010 yang mencapai 7021 unit, sedangkan jumlah terendah terjadi pada tahun 2012 yang mencapai 5301 unit. Usaha perikanan tangkap terpilih sebagai unggulan dan berwawasan lingkungan berturut-turut adalah gillnet (VA-Gab = 5,714), bubu ketam (VA-Gab = 5,593), rawai (VA-Gab = 5,576), jaring karau (VA-Gab = 5,506), togok (VA-Gab = 5,189), dan kelong (VA-Gab = 4,461).

Kata kunci : *free trade zone*, Kabupaten Karimun, unggulan, dan usaha perikanan tangkap

ABSTRACT

The management system of effort and the technological skill what lower are fishing effort problems which be at most met in Regency Karimun. Development of fishing effort have to can solve it's problem and improve the bargaining position of Karimun Regency in free trade zone. Aim of this research are to analyse the condition of fishing effort and the pre-eminent with environment vision of fishing effort in Karimun Regency. The methods of reseach are description method and scoring method. The amount of fishing effort which operating in Regency Karimun have fluctuation to every year. The highest amount was became of 2010 reaching 7021 units, while the lowest was became of 2012 reaching 5301 unit. capture fisheries with chosen as pre-eminent with vision of environment are gillnet (VA-GAB = 5,714), reap fish trap (VA-GAB = 5,593), rawai (VA-GAB = 5,576), net karau (VA-GAB = 5,506), togok (VA-GAB = 5,189), and kelong (VA-GAB = 4,461).

Keywords : *free trade zone, Karimun Regency, pre-eminent, and fishing effort*

PENDAHULUAN

Kabupaten Karimun merupakan salah satu kabupaten di Provinsi Kepulauan Riau yang dibentuk berdasarkan Undang-undang nomor 53 Tahun 1999 bersamaan dengan beberapa daerah pemekaran kabupaten/kota lainnya yaitu Kabupaten Pelalawan, Kabupaten Rokan Hulu, Kabupaten Rokan Hilir, Kabupaten Siak, Kabupaten Natuna, Kabupaten