

18

AKTIVITAS MANANASE DAN XILANASE *Ganoderma spp*

YUYUN YUNAENI



JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
1998



“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, silih bergantinya malam dan siang, bahtera yang berlayar di laut membawa apa yang berguna bagi manusia, dan apa yang Allah turunkan dari langit berupa air, lalu dengan air itu Dia hidupkan bumi setelah mati (kering)-nya dan Dia sebarkan di bumi itu segala jenis hewan, dan pengisaran angin dan awan yang dikendalikan antara langit dan bumi; sungguh (terdapat) tanda-tanda (keesaan dan kebesaran Allah) bagi kaum yang memikirkan ”

(Q.S. Al-Baqarah : 164)

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan

(Q.S. Alam Nasyrah : 6)

Karya ini ku persembahkan untuk :

Teman-teman seperjuangan yang tetap istiqomah di jalan-Nya,
serta *Mamah, A' Dudi,* dan *Adek* yang senantiasa mendo'akan.



RINGKASAN

YUYUN YUNAENI. Aktivitas Mananase dan Xilanase *Ganoderma* spp. (Mannanase and Xylanase Activity of *Ganoderma* spp.). Dibimbing oleh GAYUH RAHAYU dan TRESNAWATI PURWADARIA.

Dinding sel tumbuhan terutama tumbuhan tahunan disusun oleh lignin, selulosa, dan hemiselulosa. Hemiselulosa menyusun 20-35% berat kayu dan terutama terdiri dari galaktomanan (*softwood*), glukomanan (*hardwood*), arabinogalaktan (*larchwood*) dan xilan. Hemiselulosa merupakan sumber karbon yang dapat difermentasi oleh mikrob menjadi senyawa kimia yang bermanfaat. Enzim pengurai hemiselulosa adalah hemiselulase, diantaranya adalah mananase dan xilanase.

Ganoderma tergolong basidiomiset yang merupakan salah satu cendawan busuk putih perombak lignin, selulosa, dan hemiselulosa. Aktivitas hemiselulase lima isolat *Ganoderma* koleksi lab. Mikologi belum pernah diteliti, oleh sebab itu penelitian ini bertujuan untuk menetapkan aktivitas mananase dan xilanase *Ganoderma* spp. pada media yang mengandung 3% bungkil kelapa atau 1% avisel sebagai sumber karbon dengan 5 dan 10 hari inkubasi. *Eupenicillium javanicum* digunakan sebagai pembandingan pengujian aktivitas mananase *Ganoderma* spp.

Aktivitas mananase *Ganoderma* spp. kurang dari *E. javanicum* baik pada substrat bungkil kelapa maupun avisel. Isolat-isolat yang ditumbuhkan pada substrat bungkil kelapa menghasilkan mananase lebih tinggi daripada yang ditumbuhkan pada avisel, kecuali *G. lucidum* dan *Ganoderma* sp. 4. Sedangkan waktu inkubasi 10 hari lebih baik daripada 5 hari. *Ganoderma* sp.5 menghasilkan mananase tertinggi sebesar 362,70 mU/ml. Meskipun demikian aktivitasnya lebih rendah dari *E. javanicum*. Kandungan protein ekstraseluler dari cendawan-cendawan yang ditumbuhkan pada medium bungkil kelapa lebih besar daripada avisel, dan 10 hari inkubasi lebih baik daripada 5 hari. Kadar protein *Ganoderma* spp. lebih rendah dari *E. javanicum*. Aktivitas spesifik mananase *Ganoderma* spp. kurang dari *E. javanicum* pada substrat bungkil kelapa, demikian juga umumnya pada avisel.

Aktivitas xilanase *Ganoderma* spp. tidak berbeda jauh dari *E. javanicum*. Cendawan yang ditumbuhkan pada avisel menghasilkan xilanase lebih tinggi daripada bungkil kelapa kecuali *G. lucidum* dan *E. javanicum*. Waktu inkubasi 10 hari adalah lebih baik daripada 5 hari kecuali *G. aplanatum*. *Ganoderma* sp. 5 yang ditumbuhkan pada bungkil kelapa dan avisel selama 10 hari, menghasilkan xilanase tertinggi namun kadar protein ekstraselulernya kurang dari *E. javanicum*. Aktivitas spesifik xilanase *Ganoderma* spp. pada kedua jenis substrat dan waktu inkubasi 5 hari lebih tinggi dari *E. javanicum* kecuali *G. lucidum* dan *Ganoderma* sp.4. Sebaliknya pada inkubasi 10 hari dengan bungkil kelapa, hanya aktivitas spesifik xilanase *Ganoderma* sp.5 lebih tinggi dari *E. javanicum*. Sedangkan pada avisel, hanya aktivitas spesifik xilanase *G. lucidum* kurang dari *E. javanicum*.



SUMMARY

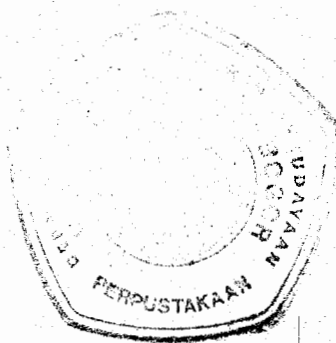
YUYUN YUNAENI. Mannanase and Xylanase Activity of *Ganoderma* spp. Supervised by GAYUH RAHAYU and TRESNAWATI PURWADARIA.

Plant cell walls are composed of lignins, celluloses, and hemicelluloses. Hemicelluloses constitute of 20-35% of the wood weight with its mayor components are galactomannans (softwood), the glucomannans (hardwood), arabinogalactans (larchwood) and xylans. Hemicelluloses is a carbon source that can be fermented by microbes to produce potential chemicals. The enzyme that degrades hemicelluloses is hemicellulases, including mannanase and xylanase.

Ganoderma is a basidiomycete belonging to white-rot fungi that is able to degrade lignins, celluloses, and hemicelluloses. The hemicellulase activity of *Ganoderma* collections of Mycology Laboratory had not yet been investigated. The purpose of this research is to determine mannanase and xylanase activity of five species of *Ganoderma*. The *Ganoderma* were grown on liquid culture containing either 3% coconut meal or 1% avicel as carbon sources for 5 and 10 days incubation.

On both carbon sources, mannanase activity of *Ganoderma* spp. were found less than that of *E. javanicum*. Most of *Ganoderma* strains that were grown on coconut meal produced mannanase more than those grown on avicel, except *G. lucidum* and *Ganoderma* sp. 4. Further, mannanase production in 10 days incubation was higher than in 5 days incubation. Amongst *Ganoderma* spp., *Ganoderma* sp. 5 gave the highest mannanase activity (362,70 mU/ ml) and this activity was less than that of *E. javanicum*. The concentration of extracellular protein of fungi grown on coconut meal were higher than those of grown on avicel, and 10 days incubation was better than 5 days. The extracellular protein of *Ganoderma* spp. were less than that of *E. javanicum*. Specific activity of *Ganoderma* spp. were less than that of *E. javanicum* and so were some *Ganoderma* grown on avicel.

Xylanase activity of *Ganoderma* spp. were not so different from *E. javanicum*, and all were considered low. The fungi that were grown on avicel produced xylanase higher than those grown on coconut meal, except those of *G. lucidum* and *E. javanicum*. Xylanase activity at 10 days incubation was higher than 5 days for all but *G. aplanatum*. On coconut meal and avicel, *Ganoderma* sp. 5 that was grown for 10 days produced xylanase with activity higher than others. Its extracellular protein, however, was lower than that of *E. javanicum*. Specific activity of xylanase from *Ganoderma* spp. that were grown on both substrates were lower than *E. javanicum*. However, this activity varied depending on incubation periods. At 5 days incubation, specific activity of xylanase of xylanase from most *Ganoderma*, except *G. lucidum* and *Ganoderma* sp. 4 were higher than that of *E. javanicum*. Whilst at 10 days incubation, only *Ganoderma* sp. 4 showed higher specific activity than *E. javanicum* where their were grown on coconut meal. When *Ganoderma* grown on avicel, only *G. lucidum* showed specific activity lower than *E. javanicum*.





AKTIVITAS MANANASE DAN XILANASE *Ganoderma spp*

YUYUN YUNAENI

Skripsi

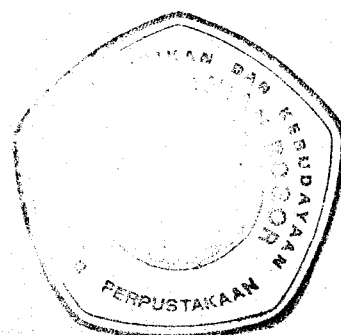
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Sains

pada

Program Studi Biologi

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
1998**



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Tidak diperbolehkan untuk menyalin, mengutip, atau sebagian atau seluruhnya tanpa izin dari institusi ini, tanpa mencantumkan sumber ;
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

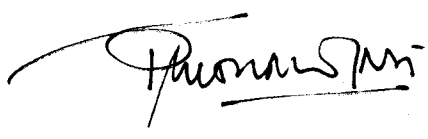


Judul : Aktivitas Mananase dan Xilanase *Ganoderma* spp.
Nama Mahasiswa : Yuyun Yunaeni
NIM : G30.0409

@Hak cipta milik IPB University

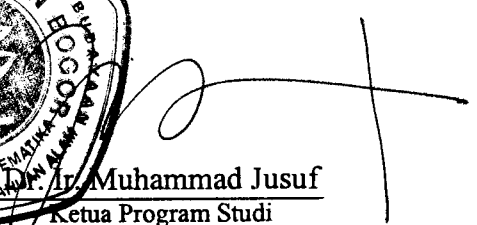
Menyetujui,


Dr. Ir. Gayuh Rahayu
Pembimbing I


Dr. M. B. Tresnawati Purwadaria
Pembimbing II



Mengetahui,


Dr. Muhammad Jusuf
Ketua Program Studi

Tanggal Lulus : 4 Mei 1998



RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Jatiwangi - Majalengka pada tanggal 29 Januari 1975 sebagai anak ke-2 dari 6 bersaudara, anak dari pasangan Emo Garmana (alm.) dan Dedah Suaedah.

Tahun 1993 penulis lulus dari SMA Negeri Jatiwangi dan pada tahun yang sama lulus seleksi masuk IPB melalui jalur Undangan Seleksi Masuk IPB. Pada tahun 1994 penulis memilih Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Selama mengikuti perkuliahan penulis pernah menjadi asisten mata kuliah Biologi Cendawan, Mikrobiologi Dasar, Biologi Dasar I dan II, serta Botani Umum.



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Judul penelitian yang dilaksanakan sejak bulan April sampai Nopember 1997 ini adalah Aktivitas Mananase dan Xilanase *Ganoderma* spp.

Terima kasih penulis ucapkan kepada berbagai pihak yang telah membantu penyelesaian karya ilmiah ini, antara lain Ibu Dr. Ir. Gayuh Rahayu dan Ibu Dr. Tresnawati Purwadaria selaku pembimbing. Juga kepada Mbak Retno selaku laboran Lab. Terpadu dan teman-teman Biologi Angk. 30, Eulis, Asih, dan Maryam. Ungkapan terima kasih tak lupa juga untuk Mamah, Kakak, dan Adek atas segala doa dan bantuannya.

Bogor, Mei 1998

Yuyun Yunaeni



DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vi
PENDAHULUAN	1
BAHAN DAN METODE	
Bahan	1
Persiapan Inokulum	2
Produksi Enzim	2
Penetapan Aktivitas Mananase	2
Penetapan Aktivitas Xilanase	2
Analisis Protein	2
HASIL DAN PEMBAHASAN	
Aktivitas Enzim Mananase	3
Aktivitas Enzim Xilanase	5
KESIMPULAN	6
DAFTAR PUSTAKA	6
LAMPIRAN	8





DAFTAR TABEL

Halaman

1. Aktivitas mananase, kadar protein ekstraseluler, dan aktivitas spesifik 4
Ganoderma spp. dan *E. javanicum*
2. Aktivitas xilanase, kadar protein ekstraseluler, dan aktivitas spesifik 4
Ganoderma spp. dan *E. javanicum*

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

1. Komposisi media dan pereaksi dalam 1 liter larutan yang digunakan dalam penelitian 8

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PENDAHULUAN

Lignin, selulosa, dan hemiselulosa merupakan penyusun dinding sel tumbuhan terutama tumbuhan tahunan. Hemiselulosa menyusun 20 – 35% berat kayu (Haltrich & Steiner, 1994), dan terutama terdiri dari galaktomanan (*softwood*), glukomanan (*hardwood*), arabinogalaktan (*larchwood*), serta xilan (Araujo dan Ward, 1990). Xilan merupakan bagian terbesar dari hemiselulosa (Haltrich & Steiner, 1994). Ikatan yang kuat antara hemiselulosa, selulosa, dan lignin menjadi penghambat utama dalam pemanfaatan hemiselulosa (Fletcher, 1986).

Menurut Rahayu *et al.* (1994), biomassa sisa tanaman pertanian sudah seringkali dinyatakan sebagai material yang ketersediaannya berlimpah. Selulosa dan hemiselulosa yang dikandungnya merupakan sumber-sumber karbon yang keduanya dapat difermentasi oleh mikroba dalam skala industri untuk menghasilkan senyawa kimia yang bermanfaat (Brownell dan Nakas, 1991). Proses fermentasi tersebut berlangsung melalui proses enzimatik (Rahayu *et al.*, 1994). Biokonversi polisakarida tumbuhan menjadi gula akibat proses enzimatik mikroba, sehingga produk yang dihasilkan dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi alami (Timell, 1967 dalam Conrad, 1981). Salah satu mikroorganisme yang mempunyai aktivitas enzimatik adalah cendawan lignoselulolitik. Cendawan tersebut dapat menguraikan hemiselulosa, selulosa, dan lignin menjadi unsur-unsur yang lebih kecil dan sederhana seperti glukosa, xilosa, dan manosa yang dapat diserap oleh dinding sel cendawan (Rahayu *et al.*, 1994).

Basidiomiset merupakan golongan cendawan yang mempunyai peranan penting dalam daur ulang karbon pada lignoselulosa (Kirk *et al.*, 1992). *Ganoderma* (Ganodermataceae, Aphylloporales) (Hawksworth *et al.*, 1995) tergolong basidiomiset yang tubuh buahnya keras seperti kayu dan menempel pada batang tanaman (Alexopoulos *et al.*, 1995). *Ganoderma* merupakan salah satu cendawan busuk putih perombak lignin (Fukuzumi, 1980). Selain mendegradasi lignin, cendawan busuk putih juga mampu mendegradasi selulosa dan hemiselulosa (Setliff & Eudy, 1980).

Penelitian tentang aktifitas hemiselulolitik *Ganoderma* belum banyak

dilakukan baik aktifitas mananase maupun xilanase. β -mananase [E.C. 3.2.1.78; manan endo 1,4- β -D mananosidase atau (1-4)- β -manan mananohidrolase] adalah nama umum enzim yang mempunyai aktivitas untuk memotong acak rantai utama manan dan hetero β -D- manan pada manan menjadi gula terlarut (manodekstrin dan manosa) (Johnson, 1990). Mananase dapat dimanfaatkan sebagai komponen tambahan pakan unggas yang mengandung bungkil kelapa dan bungkil sawit. Enzim tersebut berfungsi sebagai perombak manan dan galaktomanan yang terdapat pada kedua substrat tersebut sehingga dapat meningkatkan daya cerna bahan kering dan proteinnya, serta dapat dipergunakan sebagai pengganti jagung (Haryati *et al.*, 1995). Selain itu, mananase dapat dimanfaatkan dalam industri pulp dan kertas (Johnson, 1990).

Seperti halnya mananase, xilanase juga dapat dimanfaatkan dalam industri pulp dan kertas, pangan, dan pakan ternak (Haltrich & Steiner, 1994). Xilanase mampu mendegradasi xilan yang merupakan heteropolisakarida kompleks dengan rantai utama β 1,4 xilanopirosil yang banyak mempunyai bentuk-bentuk substitusi seperti L- arabinosa, asam asetat, dan 4-O-metil -D- asam glukuronat. Komplek enzim xilanase terdiri dari endoxilanase dan β - xilosidase (Haltrich & Steiner, 1994).

Mikroorganisme harus ditumbuhkan pada media yang mengandung karbon, nitrogen, mineral, dan vitamin untuk sintesis substansi sel dan menghasilkan produk-produk metabolik seperti enzim (Brock, 1984). Sumber karbon seperti bungkil kelapa telah diketahui berfungsi sebagai bahan penginduksi pembentukan mananase oleh *Eupenicillium javanicum* (Iriani *et al.*, 1994), sedangkan avisel sebagai bahan penginduksi pembentukan xilanase oleh *Schizophyllum commune* (Haltrich & Steiner, 1994).

Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan aktivitas mananase dan xilanase dari *Ganoderma* spp. pada media yang mengandung bungkil kelapa atau avisel sebagai sumber karbon.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan adalah lima isolat *Ganoderma* yaitu *Ganoderma aplanatum*, *G. boninense* PPM-1, *G. lucidum*, *Ganoderma* sp 4, dan *Ganoderma* sp 5 koleksi Laboratorium



Mikologi, FMIPA IPB. *Eupenicillium javanicum* koleksi BPT (Balai Penelitian Ternak) Ciawi sebagai isolat pembanding produksi mananase.

Persiapan Inokulum

Inokulum berupa miselium dari tepi koloni biakan berumur 7 sampai 10 hari pada Ekstrak Malt Pepton (EMP, Lampiran 1) yang diinkubasikan pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$.

Produksi Enzim

Enzim mananase diproduksi tidak bersamaan dengan xilanase. Inokulum ($3 \times 1 \text{ cm}^2$) dari tepi koloni ditumbuhkan dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi 30 ml media cair Mineral Steiner (MS, Lampiran 1) + 0,5% (b/v) ekstrak khamir yang dikombinasikan dengan bungkil kelapa 3% (b/v) atau avisel 1% (b/v), dengan tiga ulangan setiap perlakuan.

Biakan tersebut diinkubasi pada kedua substrat selama 5 dan 10 hari di atas pengocok resiprok 90 rpm pada suhu kamar ($\pm 30^{\circ}\text{C}$). Pengocokan dilakukan terus menerus dengan 30 menit fase statik setiap jam. Pertumbuhan dihentikan dengan menambahkan 0,3 ml larutan Natrium asida 20% dalam 30 ml filtrat. Filtrat biakan disentrifugasi (*Automatic Ultracentrifuge* Hitachi Scp 85H) dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4°C selama 15 menit sehingga diperoleh filtrat kasar enzim.

Penetapan Aktivitas Mananase

Aktivitas ditetapkan menurut metode Purwadaria *et al.* (1994) dengan modifikasi. Larutan manan (*gum locust bean*) 0,5% dalam buffer Na-asetat 0,1 M pH 5,8 digunakan sebagai substrat. Sebanyak 1 ml substrat dan 1 ml filtrat enzim dicampurkan dalam tabung reaksi kemudian diinkubasi pada suhu 50°C selama 30 menit. Selanjutnya ditambahkan 3 ml pereaksi DNS (Dinitrosalisilat, Lampiran 1) dan dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit. Larutan yang telah dingin dicampurkan dengan akuades dengan perbandingan 1:1. Kemudian nilai absorbansinya dibaca dengan spektrofotometer (*Doublebeam Double Wavelength Spectrophotometric*, Hitachi 557) pada $\lambda = 535 \text{ nm}$. Satu unit aktivitas enzim setara dengan pelepasan 1 μmol manosa dari substrat manan selama 1 menit pada kondisi asai. Perhitungan aktivitas enzim dilakukan setelah mengurangi kadar manosa dari perlakuan

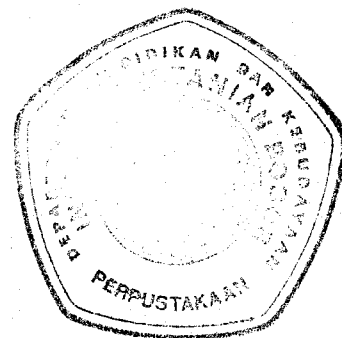
enzim terhadap substrat dengan kadar manosa kontrol yang didapatkan pada reaksi yang sama tetapi tanpa inkubasi. Aktivitas spesifik dinyatakan dalam satuan mili unit aktivitas enzim per μg protein.

Penetapan Aktivitas Xilanase

Aktivitas xilanase ditetapkan menurut metode Richard dan Laughlin (1980) dengan modifikasi. Larutan xilan dalam aquades digunakan sebagai substrat dan buffer yang digunakan adalah buffer Na-sitrat 0,05 M pH 5,0. Sebanyak 1 ml substrat, 1 ml buffer, dan 1 ml filtrat enzim dicampurkan dalam tabung reaksi dan diinkubasi pada 50°C selama 60 menit. Kemudian ditambahkan 3 ml pereaksi DNS dan dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit. Larutan yang telah dingin dicampurkan dengan akuades dengan perbandingan 1:1. Kemudian nilai absorbansinya dibaca dengan spektrofotometer pada $\lambda = 535 \text{ nm}$. Satu unit aktivitas enzim setara dengan pelepasan 1 μmol xilosa dari substrat xilan selama 1 menit pada kondisi asai. Kontrol enzim juga diperhitungkan seperti pada uji aktivitas mananase. Aktivitas spesifik dinyatakan dalam satuan mili unit aktivitas enzim per μg protein.

Analisis Protein

Kadar protein ditentukan dengan metode Bradford (1976), dengan pewarnaan Coomassie Blue (Lampiran 1) dan serum albumin bovin sebagai standar. Analisis protein dilakukan menurut jumlah dan kandungan protein yang akan diukur, yaitu : analisis makro untuk mengukur konsentrasi protein pada kisaran 200-800 μg protein/ml, analisis semimakro untuk mengukur konsentrasi protein pada kisaran 50-200 μg protein/ml, dan analisis mikro untuk mengukur konsentrasi protein pada kisaran 10-80 μg protein/ml. Sebanyak 0,5 ml filtrat (asai mikro) atau 0,2 ml filtrat (asai semimakro) atau 0,1 ml filtrat (asai makro) ditambahkan dengan 5 ml larutan pewarna dan dicampurkan dengan vorteks. Larutan dibiarkan selama 10 menit kemudian dibaca dengan spektrofotometer pada $\lambda = 595 \text{ nm}$.





HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Enzim Mananase

Aktivitas enzim mananase *Ganoderma* spp. dan *E. javanicum* dipengaruhi jenis substrat (Tabel 1). Aktivitas enzim mananase *Ganoderma* spp pada substrat bungkil kelapa berkisar dari tidak terdeteksi sampai 362,70 mU/ml dan *E. javanicum* sebesar 16.795,00 sampai 135.095,00 mU/ml. Sedangkan aktivitas mananase isolat-isolat tersebut pada substrat avisel berturut-turut berkisar dari 2,65 mU/ml sampai 226,85 mU/ml untuk *Ganoderma* spp. dan 42,30 mU/ml sampai 248,10 mU/ml untuk *E. javanicum*. Secara umum aktivitas mananase cendawan-cendawan yang ditumbuhkan pada substrat bungkil kelapa lebih besar daripada avisel kecuali *G. lucidum* dan *Ganoderma* sp.4. Bungkil kelapa terdiri dari senyawa kompleks manan dengan komposisi 61% galaktomanan dan 26% manan, juga terdapat 13% selulosa (Zamora et al., 1989), sedangkan avisel disusun oleh selulosa mikrokristal. Menurut Iriani et al. (1994), aktivitas enzim mananase terinduksi dengan adanya manan dan galaktomanan pada bungkil kelapa sebagai sumber karbon. Araujo & Ward (1990) menyatakan bahwa larutan manan (*gum locust bean*) merupakan bahan penginduksi atau induser terbaik untuk menghasilkan mananase pada isolat mananolitik yang diujinya seperti *Aspergillus niger* NRRL 337, *Talaromyces byssochlamydoideus* NRRL 3658, dan *T. emersonii* NRRL 3221. Dengan demikian bungkil kelapa dapat digolongkan sebagai substrat penginduksi mananase. Namun substrat avisel 1% juga dapat menginduksi pembentukan mananase *S. commune* (Haltrich & Steiner, 1994). Sebelumnya Johnson (1990) juga menyatakan aktivitas mananase *S. commune* dan *Polyporus versicolor* lebih tinggi pada substrat avisel 1% daripada larutan manan (*gum locust bean*) 0,1%. Pada penelitian ini aktivitas mananase *G. lucidum* dan *Ganoderma* sp. 4 pada substrat avisel lebih tinggi daripada bungkil kelapa.

Jenis substrat berinteraksi dengan waktu inkubasi dalam pembentukan enzim mananase *Ganoderma* spp. dan *E. javanicum* (Tabel 1). Umumnya waktu inkubasi 10 hari lebih baik daripada 5 hari untuk kedua jenis substrat yang diuji, kecuali *G. boninense* PPM-1 pada substrat bungkil kelapa. Johnson (1990) menyatakan aktivitas mananase *S. commune* terdeteksi pada 7 hari dan tidak terdeteksi pada 10 hari inkubasi dengan substrat dedak gandum 1%, sedangkan 8

hari adalah masa inkubasi optimumnya pada substrat avisel 1%. Menurut Purwadaria (komunikasi pribadi), *E. javanicum* yang ditumbuhkan pada substrat manan 1% menghasilkan aktivitas mananase tertinggi sebesar 49.040,00 mU/ml dibanding isolat lain diantaranya *A. niger* NRRL 337, *A. niger* BPT, dan *Verticillium* spp. Isolat-isolat tersebut diinkubasi selama 4 hari pada pengocok resiprokal 150 rpm secara terus menerus. Diduga waktu pengocokan mempengaruhi produksi enzim mananase berkaitan pada penelitian ini digunakan pengocok resiprokal 90 rpm dengan fase statik selama 30 menit per jam pengocokan.

Aktivitas enzim mananase *Ganoderma* spp. lebih rendah daripada *E. javanicum* baik pada substrat bungkil kelapa maupun avisel (Tabel 1). *E. javanicum* merupakan cendawan yang bersifat mananolitik (Purwadaria et al., 1994). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *Ganoderma* spp kurang bersifat mananolitik. Diantara semua isolat *Ganoderma*, *Ganoderma* sp. 5 merupakan isolat yang baik untuk mendegradasi senyawa kompleks manan karena menghasilkan aktivitas mananase tertinggi yaitu 362,70 mU/ml. Meskipun demikian aktivitasnya masih kurang dari *E. javanicum*.

Kadar protein yang diproduksi *Ganoderma* spp. dan *E. javanicum* dipengaruhi jenis substrat dan waktu inkubasi (Tabel 1). Pada substrat bungkil kelapa, *Ganoderma* spp. menghasilkan protein berkisar dari 335,96 µg/ml sampai 827,12 µg/ml dan *E. javanicum* sebesar 901,62 µg/ml sampai 934,60 µg/ml. Sedangkan pada substrat avisel, kadar protein yang dihasilkan *Ganoderma* spp. sebesar 45,26 µg/ml sampai 257,35 µg/ml dan *E. javanicum* sebesar 336,70 µg/ml sampai 370,57 µg/ml. Supernatan dari biakan cendawan-cendawan yang ditumbuhkan pada media dengan bungkil kelapa mengandung protein ekstraseluler lebih tinggi daripada media avisel. Zamora et al. (1989) menyatakan bungkil kelapa mengandung 20% protein. Diduga pada filtrat enzim, selain protein ekstraseluler isolat yang diuji, juga terdapat protein terlarut asal bungkil kelapa. Namun menurut Purwadaria et al. (1998), protein terlarut dari bungkil kelapa akan menurun selama periode inkubasi karena digunakan untuk pertumbuhan jamur. Walaupun demikian, kadar protein ekstraseluler meningkat ketika waktu inkubasi diperpanjang. Kadar protein ekstraseluler isolat-isolat yang ditumbuhkan

Tabel 1 Aktivitas mananase, kadar protein ekstraseluler, dan aktivitas spesifik *Ganoderma* spp. dan *E. javanicum* pada media dengan bungkil kelapa dan atisel

Cendawan	Aktivitas mananase (mU/ml)				Kadar protein (µg/ml)				Aktivitas spesifik (mU/µg)			
	BK		AV		BK		AV		BK		AV	
	5*	10	5	10	5	10	5	10	5	10	5	10
<i>G. applanatum</i>	-	19,20±7,68**	12,00±0,42	16,05±0,64	335,96±1,15	516,39±38,00	142,16±26,49	170,66±13,82	-	0,04	0,08	0,09
<i>G. boninense</i> PPM-1	135,90±32,95	46,10±39,88	7,60±0,70	16,25±9,97	827,12±39,73	811,23±98,46	257,35±15,58	242,32±3,46	0,19	0,06	0,03	0,07
<i>G. lucidum</i>	16,55±3,60	157,00±45,00	3,85±2,19	161,00±29,70	537,26±78,26	732,40±67,35	45,26±3,45	65,62±12,66	0,03	0,20	0,09	2,45
<i>Ganoderma</i> sp. 4	-	41,10±1,98	2,65±0,50	226,85±35,70	505,81±87,52	544,08±35,70	82,31±16,70	103,89±25,33	-	0,08	0,03	2,18
<i>Ganoderma</i> sp. 5	59,55±10,00	362,70±231,22	25,55±14,78	93,20±35,92	300,61±193,48	365,28±3,46	88,42±28,79	153,16±109,98	0,20	0,99	0,29	0,61
Rata-rata	42,40	125,22	18,79	102,67	501,35	593,88	123,10	147,13				
<i>E. javanicum</i>	16,795±813,17	135,095±35,913	42,30±17,39	248,10±28,85	934,60±310,93	901,62±229,74	336,70±14,97	370,57±1,72	17,97	149,84	0,13	0,67

Keterangan :
BK = 3% Bungkil Kelapa
AV = 1% Avisel
* = waktu inkubasi (hari)
** = simpangan baku
- = tidak terdeteksi

Tabel 2 Aktivitas xilanase, kadar protein ekstraseluler, dan aktivitas spesifik *Ganoderma* spp. dan *E. javanicum* pada media dengan bungkil kelapa dan avisel

Cendawan	Aktivitas xilanase (mU/ml)				Kadar protein (µg/ml)				Aktivitas spesifik (mU/µg)			
	BK		AV		BK		AV		BK		AV	
	5*	10	5	10	5	10	5	10	5	10	5	10
<i>G. applanatum</i>	21,25±2,05**	-	24,15±0,20	104,25±0,07	336,78±8,06	554,77±16,26	142,16±26,49	170,66±13,82	0,06	-	0,17	0,61
<i>G. boninense</i> PPM-1	19,90±12,02	36,45±7,42	33,90±14,00	112,65±5,02	827,12±3,46	803,91±108,82	257,35±15,58	242,32±3,46	0,02	0,05	0,13	0,46
<i>G. lucidum</i>	-	23,35±15,34	-	5,05±3,60	488,40±9,16	685,09±134,26	45,26±3,45	65,62±12,66	-	0,03	-	0,08
<i>Ganoderma</i> sp. 4	-	-	-	18,55±0,50	444,74±1,15	553,85±21,88	82,31±16,70	97,78±34,00	-	-	-	0,20
<i>Ganoderma</i> sp. 5	29,00±0,00	84,80±17,68	39,80±8,20	104,35±6,25	300,61±193,48	362,78±3,46	76,61±12,09	133,61±82,23	0,10	0,23	0,52	0,78
Rata-rata	14,03	28,92	19,57	68,97	479,53	592,08	120,74	142,00				
<i>E. javanicum</i>	16,40±1,98	63,30±10,00	3,40±0,42	54,00±14,85	1093,39±86,37	769,71±43,18	338,78±12,14	372,61±1,15	0,01	0,08	0,01	0,14

Keterangan :
BK = 3% Bungkil Kelapa
AV = 1% Avisel
* = waktu inkubasi (hari)
** = simpangan baku
- = tidak terdeteksi



selama 10 hari lebih tinggi daripada 5 hari inkubasi, tetapi sebaliknya untuk *G. boninense* PPM-1 yang ditumbuhkan pada kedua jenis substrat dan *E. javanicum* pada bungkil kelapa. Diduga kedua isolat tersebut mampu menggunakan sumber nitrogen dalam medium pada awal inkubasi. Nurdiani (1997) menyatakan penambahan baktipepton atau ekstrak khamir sebagai sumber nitrogen dapat meningkatkan kadar protein ekstraseluler.

Kadar protein isolat *Ganoderma* spp. lebih rendah daripada *E. javanicum* dan terkait dengan aktivitas spesifik enzimnya (Tabel 1). Pada substrat bungkil kelapa, aktivitas spesifik enzim mananase *Ganoderma* spp. kurang dari *E. javanicum*. Hal ini menunjukkan kandungan enzim mananase dalam senyawa protein ekstraseluler *Ganoderma* spp. adalah rendah.

Aktivitas spesifik dari *Ganoderma* spp. yang ditumbuhkan pada substrat avisel umumnya kurang dari *E. javanicum*, kecuali *Ganoderma* sp. 5 pada waktu inkubasi 5 hari dan *G. lucidum* serta *Ganoderma* sp. 4 pada waktu inkubasi 10 hari. Kadar protein ekstraseluler ketiga isolat *Ganoderma* tersebut mengandung komposisi enzim mananase lebih tinggi dari *E. javanicum*. Walaupun demikian, aktivitas mananase dan aktivitas spesifik *E. javanicum* pada substrat bungkil kelapa jauh lebih tinggi daripada *Ganoderma* spp.

Aktivitas Enzim Xilanase

Seperti halnya mananase, aktivitas enzim xilanase *Ganoderma* spp. dan *E. javanicum* dipengaruhi jenis substrat (Tabel 2). Aktivitasnya pada substrat bungkil kelapa berkisar dari tidak terdeteksi sampai 84,80 mU/ml untuk *Ganoderma* spp. dan 16,40 mU/ml sampai 63,30 mU/ml untuk *E. javanicum*. Sedangkan pada substrat avisel, aktivitas enzim xilanase *Ganoderma* spp. berkisar dari tidak terdeteksi sampai 112,65 mU/ml dan *E. javanicum* sebesar 3,40 mU/ml sampai 54,00 mU/ml. Secara umum, avisel merupakan substrat yang lebih baik daripada bungkil kelapa dalam menginduksi pembentukan xilanase, kecuali untuk *G. lucidum* dan *E. javanicum*. Menurut Haltrich & Steiner (1994), avisel 1% yang tersusun dari selulosa mikrokristal merupakan bahan penginduksi xilanase *S. commune* dan aktivitas yang dicapai sebesar 499.000,00 mU/ml. Nilai aktivitas tersebut adalah lebih tinggi daripada substrat *xylan birch* (11.200,00 mU/ml) dan *xylan beech* (285.000,00 mU/ml). Sebelumnya Peiris *et al.* (1982) mengemukakan bahwa selulosa kristal merupakan substrat yang

mampu menginduksi xilanase *Cellulomonas* isolat CSI-1 dan CSI-17. Johnson (1990) juga menyatakan, *S. commune* dan *P. versicolor* menghasilkan xilanase pada substrat avisel 1% lebih tinggi daripada *gum locust bean* 0,1%. Sedangkan untuk *P. versicolor*, *gum locust bean* merupakan substrat yang lebih baik dalam menginduksi xilanase daripada xilan kulit gandum (*oat spelt xylan*) dan avisel dengan perlakuan asam (*acid swollen avicel*). Pada penelitian ini, *G. lucidum* dan *E. javanicum* menghasilkan xilanase lebih tinggi pada bungkil kelapa daripada avisel. Diduga bungkil kelapa selain dapat menginduksi pembentukan mananase (Iriani *et al.*, 1994) juga xilanase.

Waktu inkubasi juga mempengaruhi aktivitas enzim xilanase (Tabel 2). Aktivitas xilanase pada 10 hari lebih baik daripada 5 hari inkubasi pada kedua jenis substrat, tetapi sebaliknya untuk *G. aplanatum* pada bungkil kelapa. Berbeda dengan aktivitas mananasenya yang hanya terdeteksi pada 10 hari sebesar 19,20 mU/ml, aktivitas xilanase *G. aplanatum* hanya terdeteksi pada 5 hari inkubasi sebesar 21,25 mU/ml. Johnson (1990) menyatakan, aktivitas xilanase *S. commune* pada substrat dedak gandum 1% mencapai nilai maksimum pada 7 hari sedangkan pada avisel 1%, 8 hari adalah waktu optimum inkubasi. Diduga waktu optimum inkubasi suatu enzim tergantung strain isolat yang diuji dan lingkungan yang menyekongnya seperti substrat.

Nilai aktivitas xilanase *Ganoderma* spp. tidak berbeda jauh dengan *E. javanicum* (Tabel 2). Dari hasil penelitian ini, *Ganoderma* spp. dan *E. javanicum* mempunyai aktivitas xilanolitik yang rendah. Namun, beberapa isolat *Ganoderma* menghasilkan xilanase lebih tinggi dari *E. javanicum* pada substrat avisel dan hanya *Ganoderma* sp. 5 pada substrat bungkil kelapa. *Ganoderma boninense* PPM-1 menghasilkan aktivitas xilanase tertinggi sebesar 112,65 mU/ml. Nilai aktivitas isolat tersebut tidak berbeda nyata dengan *G. aplanatum* dan *Ganoderma* sp. 5 berturut-turut sebesar 104,25 mU/ml dan 104,35 mU/ml. Dari data aktivitas mananase dan xilanase, *Ganoderma* sp. 5 merupakan cendawan hemiselulolitik yang terbaik diantara isolat-isolat *Ganoderma* yang diuji karena menghasilkan mananase tertinggi pada substrat bungkil kelapa dan xilanase yang tinggi pada avisel.

Secara umum, aktivitas spesifik xilanase *Ganoderma* spp. pada kedua jenis substrat dan waktu inkubasi 5 hari lebih besar daripada *E. javanicum* kecuali *G. lucidum* dan



Ganoderma sp. 4. Sebaliknya pada inkubasi 10 hari dengan substrat bungkil kelapa, hanya aktivitas spesifik xilanase *Ganoderma* sp. 5 lebih besar daripada *E. javanicum*. Sedangkan pada substrat avisel, hanya aktivitas spesifik xilanase *G. lucidum* lebih kecil daripada *E. javanicum*. Hal ini menunjukkan pada substrat avisel komposisi enzim xilanase dalam senyawa protein ekstraseluler *Ganoderma* spp. lebih besar daripada komposisi tersebut dari *E. javanicum*.

KESIMPULAN

Aktivitas mananase dan produksi protein ekstraseluler *Ganoderma* spp. yang ditumbuhkan baik pada bungkil kelapa maupun avisel selama 5 dan 10 hari inkubasi kurang dari *E. javanicum*. Waktu inkubasi yang baik bagi produksi mananase *Ganoderma* spp. dan *E. javanicum* adalah 10 hari. Secara umum bungkil kelapa lebih baik daripada avisel sebagai substrat produksi mananase dari *Ganoderma* spp. dan *E. javanicum*. Aktivitas mananase *Ganoderma* sp.5 yang ditumbuhkan pada bungkil kelapa selama 10 hari lebih tinggi dari isolat *Ganoderma* lainnya pada kondisi pertumbuhan yang sama.

Aktivitas xilanase *Ganoderma* spp. yang ditumbuhkan pada bungkil kelapa maupun avisel selama 5 dan 10 hari inkubasi tidak berbeda jauh dari *E. javanicum*. Waktu inkubasi 10 hari lebih baik daripada 5 hari bagi produksi xilanase *Ganoderma* spp. dan *E. javanicum*. Umumnya avisel lebih baik daripada bungkil kelapa sebagai substrat produksi xilanase *Ganoderma* spp. dan sebaliknya untuk *E. javanicum*. Aktivitas xilanase *Ganoderma* sp.5 yang ditumbuhkan pada bungkil kelapa dan avisel selama 10 hari lebih tinggi dari cendawan lainnya pada kondisi pertumbuhan yang sama, namun kadar protein ekstraselulernya kurang dari *E. javanicum*.

Diantara semua isolat *Ganoderma*, *Ganoderma* sp. 5 merupakan cendawan hemiselulolitik terbaik karena menunjukkan aktivitas mananase tertinggi pada substrat bungkil kelapa sebesar 362,70 mU/ml dan xilanase yang tinggi pada substrat avisel sebesar 104,35 mU/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulos, G. J. , C. W. Mims, & M. Blackwell. 1995. *Introductory Micrology*. John Wiley and Sons, New York.
- Araujo, P. & O. P. Ward. 1990. Extracellular Mannanase and Galactanases from Selected Fungi. *J. Ind. Microbiol.* 6:171-178.
- Bradford, M. M. 1976. A Rapid and Sensitive Method for The Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing The Principle of Protein Dye Binding. *Anal. Biochem.* 72:248-254.
- Brock, T. D. 1984. *Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology*. Science Text. Inc., USA.
- Brownell, J. E. & J. P. Nakas. 1991. Bioconversion of Acid Hydrolyzed Poplar Hemicellulose To Acetic Acid by *Clostridium thermoasaticum*. *J. Ind. Microbiol.* 7:1-6.
- Conrad, D. 1981. Enzymatic Hydrolysis of Xylan. *Biotech. Letter* 3(7):345-350.
- Fukuzumi, T. 1980. Microbial Discolorization and Defoaming of Pulping Waste Liquors, hlm. 161-178. Didalam T. K. Kirk , T. Higuchi, & H. M. Chang (Penyunting). *Lignin Biodegradation* Vol.2. CRC Press, Florida
- Haltrich, D. & W. Steiner. 1994. Formation of Xylanase by *Schizophyllum commune*: Effect of Medium Component. *Enzyme Microb. Technol.* 16:229-235.
- Haryati, T., T. Purwadaria, J. , & B. Tangendjaja. 1995. Pengaruh Penambahan Gula Reduksi pada Produksi β - Mananase oleh Berbagai Isolat Kapang Mananolitik. *Haryati* 2: 68-73.
- Hawksworth, D. L., P. M. Kirk, B. C. Sutton & D. N. Pegler. 1995. *Ainsworth and Bisby's Dictionary of The Fungi*. CAB International, Oxon.

Iriani, N., T. Purwadaria, T. Haryati, & J. Darma. 1994. Produksi Mananase Beberapa Isolat Kapang Mananolitik pada Subtrat Bungkil Kelapa, hlm. 474-480. Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi II. Cibinong.

Johnson, K. G. 1990. Extracellular β -Mannanases from Hemicellulolytic Fungi. *W. J. Microb. Biotechnol.* 6:209-217.

Kirk, T. K., Richard T. L., & J. A. Glaser. 1992. The Potential of White- Rot Fungi in Bioremediation, hlm.131-138. Didalam S. Mongkolsuk, P.S. Lovett, & J. E. Trempy (Penyunting). *Proceeding of an International Conference on Biotechnology and Environmental Science: Molecular Approaches.* Plenum Press, New York.

Nurdiani, N. 1997. Penetapan Aktifitas Lignoselulolitik *Pycnoporus sanguinis* dan *Schizophyllum commune*. Skripsi. Jurusan Biologi, FMIPA. IPB. Bogor.

Peiris, S. P., P. A. D. Rickard, & N. W. Dunn. 1982. Comparison of The Xylanolytic and Cellulolytic Activities of *Cellulomonas*. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 14:169-173.

Purwadaria, T., T. Haryati, & J. Darma. 1994. Isolasi dan Seleksi Kapang Mesofilik Penghasil Mananase. *Ilmu dan Peternakan.* 7:26-29.

Purwadaria, T., T. Haryati, & B. Tangendjaja. 1998. Optimation of Mannanase Production on Submerged Culture of *Eupenicillium javanicum* and Enzyme Characteristic. *In press.*

Rahayu, G., M. T. Suharsono, & Y. M. Priyani D. P. 1994. *Limbah Industri Sebagai Sumber Cendawan Lignosehulo-Termofil.* Pusat Penelitian Lingkungan Hidup, IPB. Bogor.

Richard, P. A. D. & T. A. Laughlin. 1980. Detection and Assay of Xylanolytic Enzymes in a *Cellulomonas* Isolate. *Biotech. Letter* 29(8): 363-368.

Settlif, E. C. & W. W. Eudy. 1980. Screening White-Rot Fungi for Their Capacity to Delignify Wood, hlm.215-230. Didalam T. K. Kirk, T. Higuchi, & Hou M. C. (Penyunting). *Lignin Biodegradation.* CRC Press, Florida.

Zamora, A. F., M. R. Calapardo, K. P. Rosario, E. S. Luis, & I. F. Dalmacio. 1989. Improvement of Copra Meal Quality for Use in Animal Feeds, hlm. 312-320. *Prod. FAO/ UNDP Workshop on Biotechnology in Animal Production and Health in Asia and America Latin.*



@Hak cipta milik IPB University

IPB University

LAMPIRAN

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan artikel atau buku dan sebagainya.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Lampiran 1. Komposisi media dan pereaksi dalam 1 liter larutan yang digunakan dalam penelitian

Nama media/pereaksi	komposisi	
Ekstrak Malt Pepton	Malt ekstrak Pepton Agar	30 g 5 g 15 g
Mineral Steiner	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O KH ₂ PO ₄ MgSO ₄ ·7H ₂ O TE ₁ (Unsur Perunut) TE ₂ (Unsur Perunut)	0,50% (b/v) 0,13% (b/v) 0,05% (b/v) 0,10% (v/v) 0,10% (v/v)
TE ₁	MnSO ₄ ·H ₂ O ZnSO ₄ ·7H ₂ O CaCl ₂ ·6H ₂ O	0,10% (b/v) 0,35% (b/v) 0,20% (b/v)
TE ₂	FeSO ₄ ·7H ₂ O Tween 80	0,50% (b/v) 0,22% (v/v)
Pereaksi DNS	NaOH K-Na-tartrat DNS Fenol Na-Sulfit	10 g 182 g 10 g 2 g 0,5 g
Pereaksi Protein	Coomasie Brilliant Blue Etanol 95% H ₃ PO ₄ 85%	100 mg 50 ml 100 ml

