

Inkorporasi Kromium oleh Fungi *Ganoderma lucidum* dengan Limbah Industri Kelapa Sawit Sebagai Substrat

Chromium Incorporation by *Ganoderma lucidum* with Oil Palm by-Product as Substrate

F. Agustin^{a,*}, T. Toharmat^b, D. Evvyernie^b, D. Taniwiryono^c, S. Tarigan^d, & I. Prihantoro^b

^aProgram Studi Ilmu Ternak, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor

^bDepartemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor

^cJln. Agatis Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

^dBalai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia

Jln. Taman Kencana No. 1, Bogor 16151

^eBalai Besar Penelitian Veteriner

Jln. RE Martadinata 30, Bogor 16114

(Diterima 27-07-2009; disetujui 16-12-2009)

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effective Cr (chromium) level for *Ganoderma lucidum* growth in solid state fermentation of oil palm by-product. Treatments were combination of Cr level (0, 500, 1000, 1500, 2000, 25000, and 3000 ppm) and fermentation time (0, 2, 4, 6, and 8 weeks). The treatments were allocated in a factorial 7x5 of complete randomized design with four replications. Inoculant of *G. lucidum* was grown in potato dextrosa agar (PDA) medium for 10 days and then inoculated to substrate which have been autoclaved and mixed with $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. The moisture of substrate was maintained at 65%. Growth media of *G. lucidum* was diluted with aquades and the supernatant was analysed for its Cr content. The result showed that the addition of Cr up to 3000 ppm into the medium stimulated the *G. lucidum* growth in all experimental condition. The Cr ions were incorporated into the media and *G. lucidum* cells during fermentation. Incorporation of chromium by *G. lucidum* was higher in oil palm by-product substrate with 3000 ppm Cr than the others. It is concluded that Cr can be incorporated into the *G. lucidum* cells during fermentation. The effective level of Cr for *G. lucidum* growth was 3000 ppm with efficiency of Cr incorporation 68.23% in 8 weeks fermentation and chromium in protein of fermentation product was 12.01%.

Key words: chromium, *Ganoderma lucidum*, oil palm by-product

PENDAHULUAN

Kromium (Cr) merupakan unsur mikro esensial yang dibutuhkan dalam metabolisme karbohidrat, lemak dan protein (NRC, 1997). Kromium juga berperan menstabilkan struktur tersier dari protein (Demirci & Porchetto, 2000). Suplementasi Cr meningkatkan GTF (glucose tolerance factor) pada darah tikus (Pechova & Pavlata, 2007). Molekul GTF mengandung Cr, asam nikotinat, asam amino glisin, glutamat dan sistein, yang berfungsi meningkatkan peran insulin dalam oksidasi glukosa (Zetic *et al.*, 2001).

Unsur Cr terdapat dalam beberapa bentuk kimia dan tingkat oksidasi. Bentuk oksidasi yang paling stabil

dan penting dalam sistim biologis adalah Cr bervalensi III (Bagchi *et al.*, 2008). Unsur Cr yang terikat secara organik mempunyai aktivitas biologis yang lebih besar dibandingkan Cr anorganik (Demirci & Porchetto, 2000) dan absorpsi Cr anorganik hanya 2%-3% (NRC, 1997). Bentuk Cr anorganik dapat diubah menjadi organik menggunakan yeast (Skongerson, 1982; Zetic *et al.*, 2001; Saad *et al.*, 2007) atau *Ganoderma lucidum* (Yang *et al.*, 2006).

Skongerson (1982) menggunakan $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ sebagai sumber Cr dengan dosis 1000 ppm untuk memproduksi Cr organik dengan memanfaatkan yeast. Suplementasi CrCl_3 sebanyak 200 mg/l ke dalam media pertumbuhan *Saccharomyces cereviceae* merangsang pertumbuhan dan inkorporasi Cr ke dalam sel yeast tersebut (Zetic *et al.*, 2001). Inkorporasi Cr ke dalam protein fungi yang terbaik didapatkan pada penggunaan Cr 1000 mg/kg substrat, yaitu sebesar 484 mg/kg (Astuti *et al.*, 2006). Suplementasi mineral Cr, baik anorganik maupun organik dapat meningkatkan produksi total

* Korespondensi:
Fakultas Peternakan, Universitas Andalas
Kampus Limau Manis Padang 25163
e-mail: fauziaptk2006@yahoo.com

VFA dan menurunkan konsentrasi NH_3 di dalam cairan rumen. Hal ini mengindikasikan bahwa mineral Cr esensial bagi mikroba rumen (Jayanegara *et al.*, 2006).

G. lucidum tumbuh baik pada media sumber serat karena merupakan fungi pelapuk putih yang mampu mendegradasi lignin (Chang & Miles, 2004; Sanches, 2009). Enzim yang berperan di dalam biodegradasi lignin adalah lignin peroksidase, mangan peroksidase dan lakase (Martinez *et al.*, 2005). Potensi fungi pelapuk putih dalam mendegradasi sangat bervariasi, tergantung pada strain, tipe fermentasi dan lama inkubasi (Dinnis, 2009). Fungi tersebut menghasilkan enzim lakase yang merupakan enzim oksidase ekstraseluler (Mayer & Staples, 2002). Miselium dan tubuh buah fungi *G. lucidum* mampu menghasilkan senyawa aktif polisakarida (Bao *et al.*, 2002) yang berfungsi sebagai immunomodulator (Gao *et al.*, 2005; Lin & Zhang, 2005) dan antioksidan (Sun *et al.*, 2004; Zhao *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2005). *G. lucidum* digunakan untuk melihat delignifikasi pada jerami (mustard straw) (Misra *et al.*, 2007).

Informasi sintesis Cr organik oleh *G. lucidum* dengan substrat limbah sawit masih belum tersedia. Kemampuan *G. lucidum* menginkorporasi Cr ke dalam komponen selnya dan peranan Cr organik bagi ternak ruminansia perlu pengkajian lebih dalam. Penelitian ini dirancang untuk menentukan level Cr yang efektif bagi pertumbuhan *G. lucidum* dengan substrat tandan sawit dan serat sawit dalam upaya mensintesis Cr organik.

MATERI DAN METODE

Preparasi Tandan Kosong Sawit dan Serat Sawit

Bahan media fermentasi yang digunakan dalam penelitian adalah tandan kosong sawit dan serat sawit yang diperoleh dari pabrik pengolahan kelapa sawit PT. Perkebunan Nusantara VIII Kertajaya, Banten. Tandan kosong sawit dicacah dengan ukuran 2–3 cm dan dikeringkan, sedangkan serat sawit dikeringkan dengan panas matahari tanpa dicacah hingga berkadar air $\pm 10\%$.

Pembuatan Starter *Ganoderma lucidum* untuk Inokulasi

Inokulum *G. lucidum* dikembangkan dari stok koleksi Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia (BPBPI), Bogor. Peremajaan inokulum stok dilakukan di Laboratorium Mikroba BPBPI dan Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor. Peremajaan menggunakan media PDA (potato dextrosa agar) dengan cara mengkultur isolat *G. lucidum* dari kultur stok ke dalam cawan petri yang berisi medium PDA dan diinkubasi selama 9 hari. Miselium *G. lucidum* memenuhi cawan petri pada akhir inkubasi. Starter yang diperoleh diinokulasikan pada substrat yang mengandung kromium dan sudah diautoklaf.

Pencampuran Kromium dengan Substrat Fermentasi

Substrat dasar yang terdiri atas campuran tandan kosong sawit dan serat sawit dengan perbandingan 2:1

(TKS) dicampur dengan larutan $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ yang berkadar 0, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, dan 3000 mg/kg bahan kering dan dikondisikan pada kadar air 65%. Selanjutnya substrat dimasukkan ke dalam botol berukuran 300 ml, ditutup dengan aluminum foil, kemudian disterilkan menggunakan *autoclave* selama 30 menit dengan tekanan 1,2 atm dan suhu 121 °C. Substrat diinokulasi dengan starter dalam cawan petri dengan diameter *plug* 0,5 cm. Media yang telah diinokulasi diinkubasikan pada suhu ruang (27–28 °C) selama 0, 2, 4, 6, dan 8 minggu.

Rancangan Percobaan dan Perlakuan

Perlakuan fermentasi sumber serat dengan fungi *G. lucidum* dialokasikan dalam rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial 7x5 dengan 4 ulangan (Gomez & Gomez, 1995). Faktor A berupa level Cr dengan taraf 0, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, dan 3000 ppm Cr. Faktor B adalah lama fermentasi dengan taraf 0, 2, 4, 6, 8 minggu.

Analisis Sampel

Bahan kering dan bahan organik produk fermentasi dianalisa menggunakan metode AOAC (1990). Persentase penyusutan bahan kering (BK) dan bahan organik (BO) substrat dihitung dengan cara:

BK berat awal (g) = BK sebelum inkubasi (%) x berat awal (g)
 BK berat akhir (g) = BK setelah inkubasi (%) x berat akhir (g)
 Penyusutan BK (%) = [(BK berat awal - BK berat akhir) - BK berat awal] x 100%

Kandungan fraksi serat, yaitu *neutral detergent fiber* (NDF) dan *acid detergent fiber* (ADF), ditentukan dengan analisis Van Soest (Van Soest & Wine, 1967). Kadar Cr yang terdapat di dalam NDF dan ADF ditentukan dari sampel setelah penentuan kadar NDF dan ADF. Konsentrasi Cr dalam filtrat biomasa hasil fermentasi diukur menggunakan *atomic absorption spectrophotometer* (AAS) (Carry & Allaway, 1971) Shimadzu model AA680. Sampel sebanyak 5 g dihaluskan dengan mortal prose-lin, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 ml TCA 10% dan dihomogenkan dengan vorteks, kemudian didiamkan selama satu (1) jam. Larutan kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Hasil sentrifugasi yang berupa supernatan ditentukan kadar Cr-nya sebagai Cr terlarut yang terhitung sebagai Cr anorganik. Inkorporasi Cr dihitung sebagai berikut: Cr organik = Cr total – Cr anorganik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perubahan Komponen Media *Ganoderma lucidum*

Nilai pH awal substrat yang berupa tandan kosong adalah 8,05, substrat serat sawit menunjukkan rata-rata pH 4,16 dan larutan $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ mempunyai pH 3,5. Nilai pH optimum substrat untuk pertumbuhan miselium *G. lucidum* adalah 5–5,5 (Chang & Miles, 2004). Penyesuaian nilai pH substrat agar memenuhi kebutuhan untuk pertumbuhan dilakukan melalui pencampuran tandan

sawit dan serat sawit dengan perbandingan 2:1, sehingga setelah pencampuran dengan larutan Cr diperoleh rata-rata nilai pH 5,14. Pertumbuhan inokulan *G. lucidum* pada medium PDA meningkat dengan cepat mulai dari inkubasi 5 hari dan pada inkubasi 9 hari pertumbuhan miselium telah memenuhi cawan petri sehingga siap untuk diinokulasikan pada substrat.

Suhu ruang fermentasi berkisar antara 26-28 °C, dan sesuai untuk pertumbuhan *G. lucidum* (Chang & Miles, 2004). Pertumbuhan fungi *G. lucidum* pada substrat TKS yang mengandung Cr hingga 3000 ppm mulai terlihat setelah umur 1 minggu. Setelah fermentasi 2 minggu miselium yang berwarna putih telah menutupi setengah permukaan media dalam botol. Kadar air substrat TKS pada awal fermentasi adalah 65% sesuai untuk pertumbuhan *G. lucidum* (Chang & Miles, 2004). Kadar air awal dalam proses fermentasi ditentukan oleh jenis substrat (Gervais & Molin, 2003). Air dibutuhkan untuk sintesis protoplasma fungi, pembengkakan substrat dan difusi enzim ke dalam jaringan substrat. Kadar air yang terlalu tinggi menghambat pergerakan udara karena pori-pori substrat digantikan oleh air yang akhirnya menurunkan dekomposisi substrat (Gervais & Molin, 2003).

Kandungan Bahan Kering dan Bahan Organik Media Fermentasi *Ganoderma lucidum*

Pertumbuhan miselium dengan level Cr 3000 ppm pada minggu ke 8 sangat baik namun tidak terbentuk tubuh buah karena untuk pembentukan tubuh buah dibutuhkan waktu lebih dari 8 minggu. Nutrien yang digunakan *G. lucidum* terdapat di dalam bahan kering dan bahan organik substrat. Tidak terdapat interaksi antara level Cr dengan lama fermentasi terhadap kadar bahan kering. Kadar bahan kering media menurun ($P < 0,01$) dengan semakin lamanya fermentasi sampai 8 minggu (Tabel 1). Penurunan kadar bahan kering dari 33,22% menjadi 29,25% pada inkubasi 8 minggu merupakan bukti bahwa nutrien yang terkandung di dalam substrat telah digunakan oleh fungi. Penurunan kadar bahan kering substrat terjadi akibat proses fermentasi yang menghasilkan CO_2 dan H_2O .

Peningkatan jumlah sel *G. lucidum* memerlukan nutrien yang makin banyak, sehingga nutrien substrat semakin berkurang sampai 6 minggu fermentasi tetapi setelah 6 minggu tidak terjadi lagi penurunan kadar bahan kering dan bahan organik (Tabel 1 dan Gambar 1). Terdapat hubungan yang linear antara kadar bahan kering substrat dengan lama fermentasi dengan mengikuti persamaan $Y = -1,60X + 36,44$ ($R^2 = 0,87$; $P < 0,01$). Persamaan ini berarti bahwa peningkatan lama fermentasi sebesar satu satuan, akan menurunkan kadar bahan kering sebesar 1,60%. Berkurangnya jumlah nutrien yang ada pada substrat sejalan dengan meningkatnya jumlah H_2O dan menurunnya kadar bahan kering substrat. Hal ini terbukti dengan semakin berkurangnya jumlah bahan kering yang tersisa dengan makin lamanya waktu fermentasi dengan mengikuti persamaan linear $Y = -6,64X + 105,10$ ($R^2 = 0,97$; $P < 0,01$). Namun suplementasi Cr 0-3000 ppm tidak mempengaruhi kadar bahan kering substrat.

Penyusutan Bahan Kering dan Bahan Organik Media Fermentasi *Ganoderma lucidum*

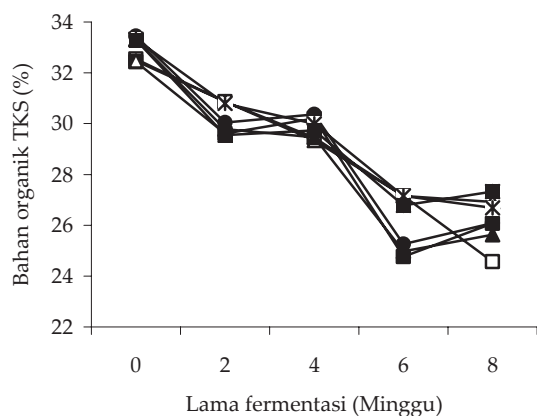
Berbeda halnya dengan persentase bahan kering substrat, penyusutan bahan kering TKS meningkat ($P < 0,01$) dengan lamanya waktu fermentasi (Tabel 2). Tidak terdapat interaksi antara level Cr dengan lama fermentasi terhadap penyusutan bahan kering. Penyusutan bahan kering TKS mulai terjadi pada fermentasi 2 minggu dengan nilai 10,25% dan laju penyusutan bahan kering TKS meningkat dengan tajam pada fermentasi 6 minggu dengan nilai 23,22% dan paling tinggi dicapai pada fermentasi 8 minggu. Hal ini menggambarkan bahwa semakin tinggi penyusutan bahan kering dengan lamanya waktu fermentasi semakin tinggi pula nutrien yang dimanfaatkan *G. lucidum* untuk metabolisme sel dan pertumbuhannya. Penyusutan bahan kering substrat dipengaruhi oleh jenis fungi, sumber substrat dan lama fermentasi (Arora & Sharma, 2009).

Laju penyusutan bahan kering TKS dipengaruhi oleh lamanya fermentasi dengan mengikuti persamaan $Y = 6,64X - 5,08$ ($R^2 = 0,97$; $P < 0,01$). Namun penyusutan bahan kering TKS tidak dipengaruhi oleh level Cr dan

Tabel 1. Kandungan bahan kering produk fermentasi fungi *Ganoderma lucidum* pada level Cr dan lama fermentasi berbeda

Level Cr (ppm)	Lama fermentasi (Minggu)					Rataan
	0	2	4	6	8	
0	35,03±2,12	33,27±2,08	31,77±0,80	29,72±3,21	26,79±2,86	31,32±11,68
500	34,80±1,73	31,89±1,29	32,84±1,49	27,09±2,61	31,61±3,40	31,65± 3,28
1000	34,81±1,97	34,82±0,78	31,78±3,41	29,49±0,32	29,17±2,14	31,72± 2,86
1500	35,61±1,74	35,61±2,58	32,30±2,84	27,54±1,60	28,29±2,19	31,24± 3,64
2000	35,59±1,53	35,59±1,26	33,08±1,87	27,56±0,97	29,04±0,74	31,56± 3,25
2500	35,88±0,93	35,88±1,25	32,70±1,74	29,77±0,34	30,02±1,76	32,33± 2,60
3000	34,82±1,98	34,82±1,60	32,73±2,19	29,45±2,80	29,84±1,64	31,76± 2,74
Rataan	35,22±1,59 ^C	32,67±1,57 ^B	32,46±2,00 ^B	28,66±2,11 ^A	29,25±2,50 ^A	

Keterangan: superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).



Gambar 1. Kandungan bahan organik media fermentasi *G. lucidum* pada level Cr dan lama fermentasi berbeda. TKS= campuran tandan kosong sawit dan serat sawit dengan perbandingan 2:1. $\square$ = 0 ppm; $\blacksquare$ = 500 ppm; $\triangle$ = 1000 ppm; $\blacktriangle$ = 1500 ppm; $\bullet$ = 2000 ppm; $\times$ = 2500 ppm; $\blacksquare$ = 3000 ppm.

tidak terdapat interaksi antara level Cr dengan lama fermentasi (Tabel 2). Hal ini menggambarkan bahwa *G. lucidum* tetap tumbuh hingga minggu ke 8 fermentasi tanpa dipengaruhi oleh tingkat Cr hingga 3000 ppm dan ini terlihat dari pertumbuhan miselium pada substrat yang disuplementasi dengan berbagai level Cr berkembang dengan baik sampai memenuhi permukaan botol fermentasi. Hal tersebut menggambarkan bahwa *G. lucidum* toleran terhadap kadar Cr tinggi.

Pola perubahan kadar bahan organik substrat sawit yang disuplementasi dengan Cr sampai 3000 ppm dan difermentasi sampai 8 minggu dengan *G. lucidum*, dipengaruhi ($P < 0,01$) oleh lama fermentasi dan tidak terdapat interaksi antara level Cr dengan lama fermentasi terhadap kadar bahan organik. Kadar bahan organik substrat media tumbuh *G. lucidum* berubah sesuai lama fermentasi dengan mengikuti persamaan $Y = -1,73X + 32,24$ ($R^2 = 0,92$; $P < 0,01$). Penurunan kadar bahan organik mulai terjadi pada fermentasi minggu ke-2 dan terus menurun sampai fermentasi minggu ke-6, namun

bahan organik substrat tanpa suplementasi Cr menurun sampai fermentasi minggu ke-8 (Gambar 1).

Penyusutan bahan organik ($P < 0,01$) berkorelasi dengan lama fermentasi mengikuti pola penyusutan bahan kering. Fermentasi substrat menyebabkan konversi bahan organik dari substrat menjadi sel miselium fungi *G. lucidum*, air dan CO_2 sehingga terjadi penurunan biomasa substrat. Penyusutan bahan organik pada minggu ke-8 dan ke-6 tidak berbeda (Gambar 2), hal ini terkait dengan proses fermentasi pada substrat limbah sawit dan aktivitas yang terjadi selama proses fermentasi dan aktivitas di dalam sel *G. lucidum*. Kemungkinan pada minggu ke-8 nutrisi yang mudah dicerna yang terdapat dalam substrat sudah habis dimanfaatkan oleh *G. lucidum*, sehingga *G. lucidum* mulai memanfaatkan senyawa kompleks terutama karbohidrat struktural yang umumnya terikat bersama lignin. Penyusutan bahan organik sampai minggu ke-8 tidak mengganggu pertumbuhan fungi.

Hubungan antara kehilangan bahan organik dengan level Cr bersifat kubik dengan persamaan $Y = -0,11X^3 + 1,05X^2 - 2,46X + 17,25$ ($R^2 = 0,69$; $P < 0,01$). Kehilangan bahan organik tertinggi diperoleh pada kadar Cr 1500. Ini berarti bahwa selama fermentasi, *G. lucidum* mensekresikan enzim ekstraselulernya untuk mendegradasi komponen karbohidrat struktural yang merupakan komponen utama substrat TKS. Degradasi lignin oleh *white rot fungi* merupakan proses oksidasi yang terdiri atas reaksi enzimatis dan non enzimatis (Sanches, 2009).

Lama fermentasi sangat nyata ($P < 0,01$) menurunkan persentase bahan organik tersisa dan setiap peningkatan satu satuan waktu fermentasi, akan menurunkan persentase bahan organik tersisa sebesar 7,23% dengan mengikuti persamaan linear $Y = -7,23X + 105,77$ ($R^2 = 0,95$). Total penyusutan bahan organik TKS media fermentasi fungi *G. lucidum* makin meningkat dengan lamanya fermentasi (Gambar 2). Penyusutan bahan organik paling rendah terjadi pada level Cr 3000 ppm.

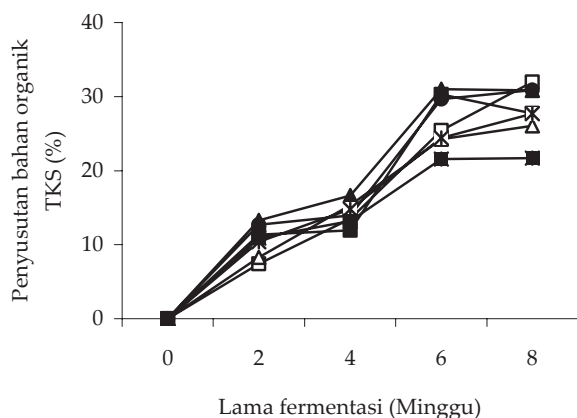
Inkorporasi Kromium oleh *Ganoderma lucidum*

Inkorporasi Cr ke dalam sel *G. lucidum* dipengaruhi ($P < 0,01$) oleh level Cr dan lama fermentasi (Tabel

Tabel 2. Penyusutan bahan kering (%) substrat *Ganoderma lucidum* dengan substrat tandan kosong dan serat sawit pada level Cr dan lama fermentasi berbeda

Level Cr (ppm)	Lama fermentasi (Minggu)					Rataan
	0	2	4	6	8	
0	0 $\pm$ 0	8,20 $\pm$ 5,19	13,34 $\pm$ 3,72	25,42 $\pm$ 6,88	31,08 $\pm$ 10,42	15,61 $\pm$ 12,87
500	0 $\pm$ 0	11,02 $\pm$ 2,66	17,15 $\pm$ 13,5	18,24 $\pm$ 9,70	28,83 $\pm$ 5,61	15,05 $\pm$ 11,99
1000	0 $\pm$ 0	8,97 $\pm$ 2,98	15,67 $\pm$ 8,39	23,25 $\pm$ 5,36	25,32 $\pm$ 7,07	14,64 $\pm$ 10,80
1500	0 $\pm$ 0	11,48 $\pm$ 6,73	14,50 $\pm$ 9,64	26,44 $\pm$ 3,01	28,58 $\pm$ 5,73	16,20 $\pm$ 11,97
2000	0 $\pm$ 0	11,30 $\pm$ 5,88	11,98 $\pm$ 6,77	27,94 $\pm$ 5,69	27,94 $\pm$ 6,95	15,83 $\pm$ 12,14
2500	0 $\pm$ 0	10,08 $\pm$ 4,07	13,75 $\pm$ 5,30	24,90 $\pm$ 1,30	24,43 $\pm$ 4,13	14,63 $\pm$ 10,10
3000	0 $\pm$ 0	10,72 $\pm$ 9,54	11,28 $\pm$ 8,25	16,38 $\pm$ 9,15	20,66 $\pm$ 7,33	11,81 $\pm$ 9,87
Rataan	0 $\pm$ 0 ^a	10,25 $\pm$ 5,19 ^B	13,95 $\pm$ 7,70 ^C	23,22 $\pm$ 7,04 ^D	26,69 $\pm$ 6,98 ^E	

Keterangan: superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).



Gambar 2. Penyusutan bahan organik campuran tandan kosong sawit dan serat sawit (TKS) pada level Cr dan lama fermentasi berbeda. $\square$ = 0 ppm; $\blacksquare$ = 500 ppm; $\triangle$ = 1000 ppm; $\blacktriangle$ = 1500 ppm; $\bullet$ = 2000 ppm; $\times$ = 2500 ppm; $\blacksquare$ = 3000 ppm.

3), dan tidak terdapat interaksi antara level Cr dengan lama fermentasi terhadap inkorporasi Cr. Data tersebut menunjukkan bahwa Cr digunakan oleh *G. lucidum* bersamaan dengan penggunaan bahan organik komponen serat tersebut. Hal ini terlihat dari nilai inkorporasi Cr yang meningkat dengan meningkatnya level Cr yang disuplementasikan. Pengaruh mineral dapat secara langsung terdapat dalam media atau mempengaruhi produksi enzim ekstraseluler dalam tingkat pengaturan transkripsi translasi (Baldrian, 2003). Inkorporasi Cr sebesar 280 mg/kg bahan kering diperoleh pada level Cr 500 ppm dan untuk level Cr 3000 ppm didapatkan inkorporasi Cr sebesar 2207 mg/kg bahan kering. Hubungan antara inkorporasi Cr dengan level Cr yang disuplementasikan mengikuti persamaan linear yaitu $Y = 362,46X - 147,93$ ($R^2 = 0,97$). Inkorporasi Cr oleh *G. lucidum* mempunyai batas toleransi sehingga tidak mengganggu pertumbuhannya, tetapi pada penelitian ini level Cr tertinggi sampai 3000 ppm, inkorporasi Cr oleh *G. lucidum* masih tetap meningkat.

Tingkat inkorporasi Cr masih tetap terjadi walaupun komponen serat di dalam substrat telah banyak terde-

gradasi dan hanya tersisa bahan yang sulit didegradasi. Fungi *G. lucidum* tetap tumbuh dan membutuhkan nutrisi yang diperolehnya dari degradasi polisakarida yang terdapat di dalam substrat. Proses tersebut, tetap membutuhkan Cr untuk mendukung proses metabolisme nutrisi karbohidrat dan protein di dalam sel *G. lucidum* selama fermentasi. Proses degradasi karbohidrat struktural dapat terjadi karena *G. lucidum* dapat menghasilkan enzim lignolitik terutama lakase (Xing *et al.*, 2006) yang mampu mendegradasi lignin. Jadi Cr dapat dipastikan menjadi komponen sel *G. lucidum* diantaranya miselium (Sanches, 2009). Hidrolisis karbohidrat struktural komponen media menyediakan nutrisi yang dibutuhkan fungi untuk pertumbuhan miselium dan pembentukan tubuh buah (Xing *et al.*, 2006).

Tingginya inkorporasi ke dalam substrat pada awal fermentasi menunjukkan bahwa inkorporasi Cr ke dalam matriks media fermentasi sangat tinggi. Namun sejalan dengan pertumbuhan *G. lucidum* yang membentuk miselium, tingkat inkorporasi Cr menunjukkan nilai yang sama sejak minggu ke-2 hingga minggu ke-4 fermentasi (Tabel 3). Inkorporasi Cr mengalami penurunan pada minggu ke-6 dan ke-8 fermentasi. Mengingat penurunan bahan kering dan organik terjadi akibat adanya fermentasi oleh *G. lucidum* maka pembentukan senyawa Cr organik diprediksi sudah terjadi pada fermentasi minggu ke-2. Penurunan total bahan organik dan tetapnya nilai inkorporasi Cr menunjukkan bahwa telah terjadi penggunaan Cr oleh fungi dan inkorporasinya ke dalam miselium fungi tersebut. Diperkirakan bahwa inkorporasi tersebut berbanding lurus dengan jumlah bahan kering dan organik yang terfermentasi oleh *G. lucidum* dan konsentrasi Cr yang terinkorporasi ke dalam bahan kering atau bahan organik media.

Inkorporasi total Cr ke dalam media dan sel *G. lucidum* menurun ($P < 0,05$) dengan makin lamanya fermentasi. Penurunan jumlah inkorporasi Cr mengikuti persamaan $Y = -18,25 X^2 + 46,95X + 1140,3$ ($R^2 = 0,90$). Penurunan terjadi pada fermentasi 6 minggu, jumlah Cr yang diinkorporasi adalah 1093 mg/kg BK dan terus menurun pada fermentasi 8 minggu dengan nilai 1044 mg/kg BK tetapi tidak ada perbedaan inkorporasi Cr antara fermentasi 6 dan 8 minggu.

Penyusutan bahan kering dan organik akibat fermentasi menyebabkan terbentuknya asam dan

Tabel 3. Total nilai inkorporasi Cr ke dalam media pertumbuhan dan sel *Ganoderma lucidum* (mg/kg BK)

Level Cr (ppm)	Lama fermentasi (Minggu)				Rataan
	2	4	6	8	
500	266± 28	299± 89	267±122	287± 30	280± 71 ^A
1000	559±159	706±156	734±115	564±167	641±158 ^A
1500	859±102	924±111	830± 87	863±130	868±103 ^B
2000	1192±149	1268±140	1136±113	1090±265	1171±172 ^B
2500	1680± 78	1705±104	1431±260	1412±279	1557±228 ^C
3000	2409±156	2213±181	2161±367	2047±443	2207±310 ^D
Rataan	1161±727 ^B	1185±628 ^B	1093±581 ^A	1044±578 ^A	

Keterangan: superskrip berbeda pada baris atau kolom yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).

Tabel 4. Jumlah Cr (mg) dan kadar Cr (mg per kg BK) komponen serat dan protein produk fermentasi dari *Ganoderma lucidum*

Parameter	Jumlah BK (g)	Jumlah Cr (mg)	Kadar Cr (mg/kg BK)
Total produk	238,4	760,23	3.189
NDF	201,0	89,68	446
ADF	131,0	84,30	644
NDF + ADF	332,0	173,98	524
Protein	0,703	91,31	129.886

Keterangan: NDF= neutral detergent fiber, ADF= acid detergent fiber, Bk= bahan kering. *G. lucidum* ditumbuhkan dalam tandan kosong sawit dan serat sawit yang mengandung 3000 ppm Cr dalam bentuk $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

kondisi asam menyebabkan turunnya pH dan akhirnya Cr terlepas sehingga inkorporasi Cr menjadi rendah dengan lamanya fermentasi. Fungi *G. lucidum* yang tergolong ke dalam jamur pelapuk putih (Chang & Miles, 2004, Sanches 2009) menghasilkan sejumlah besar asam organik pada proses degradasi lignoselulosa. Hal ini menyebabkan turunnya pH lingkungan yang cukup drastis yang diduga mengakibatkan hidrolisis komponen serat dan sel *G. lucidum* secara nonenzimatis dan terkait dengan penurunan total inkorporasi Cr pada fermentasi minggu ke-6 dan 8.

Inkorporasi Cr ke dalam senyawa organik terjadi karena adanya penggunaan Cr oleh sel *G. lucidum*. Kromium yang disuplementasikan pada substrat tandan kosong sawit tidak semuanya dimanfaatkan oleh fungi, dan Cr yang tersisa diduga tetap terdapat pada substrat dan tidak terikat pada miselium khususnya pada molekul protein. Efisiensi inkorporasi Cr ke dalam sel *G. lucidum* tidak dipengaruhi oleh lama fermentasi tetapi dipengaruhi ($P < 0,01$) oleh level Cr yang disuplementasikan. Peningkatan level Cr yang disuplementasikan, meningkatkan efisiensi inkorporasi Cr ke dalam matrik substrat dan sel *G. lucidum*. Data ini menggambarkan bahwa semakin banyak Cr yang disuplementasikan semakin banyak Cr yang dimanfaatkan sel fungi dan Cr berikatan dengan protein sel fungi, seperti GTF. Zetic *et al.* (2001) menyatakan bahwa akumulasi Cr yang tinggi ke dalam sel yeast terjadi pada fase pertumbuhan eksponensial.

Efisiensi total inkorporasi Cr tertinggi pada penelitian ini terjadi pada suplementasi Cr 3000 ppm yaitu dengan nilai efisiensi 73,58% (dihitung berdasarkan Tabel 3 pada total inkorporasi Cr 2207 mg per kg BK) dan terendah adalah pada suplementasi Cr 500 ppm. Berdasarkan Tabel 3, efisiensi inkorporasi Cr pada lama fermentasi 8 minggu paling tinggi adalah pada kadar Cr 3000 ppm dengan nilai efisiensi 68,28%. Jumlah Cr yang terinkorporasi terdapat di dalam total produk fermentasi terdapat di dalam komponen serat dan protein (Tabel 4).

Tabel 4 menunjukkan bahwa tidak semua Cr yang disuplementasikan dapat terinkorporasi ke dalam protein sel *G. lucidum*, dari 238,4 g BK dari total produk, terdapat Cr sebesar 760 mg dan 91 mg Cr tersebut teri-

kat bersama protein. Jumlah Cr yang terikat bersama protein ini adalah sebesar 12,01%. Hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi konversi Cr anorganik menjadi bentuk organik oleh *G. lucidum* karena Cr terdapat di dalam protein yang merupakan senyawa organik. Sisanya terdapat di dalam komponen serat terutama NDF sebesar 89 mg (11,75%) dan ADF 84 mg (11,05%). *G. lucidum* mempunyai kemampuan yang tinggi untuk beradaptasi dengan kadar Cr substrat sumber serat hingga 3000 ppm dan menginkorporasikan Cr dalam selnya.

KESIMPULAN

G. lucidum toleran terhadap kadar Cr tinggi hingga 3000 ppm pada substrat TKS tanpa mengganggu pertumbuhannya. Inkorporasi Cr oleh *G. lucidum* pada level 3000 ppm dengan lama fermentasi 8 minggu adalah 68,23%. Jumlah Cr yang terikat bersama protein produk fermentasi pada TKS adalah sebesar 12,01%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Publikasi ini merupakan bagian dari hasil penelitian yang dibiayai Program Kerjasama Kemitraan Penelitian Pertanian antara Perguruan Tinggi (KKP3T) dan Badan Litbang Pertanian No. 1564/LB.620/J.1/5/2007. Ucapan terima kasih disampaikan kepada Dian Anggraini, laboran di Laboratorium Nutrisi Ternak Perah dan Rahmat, teknisi pada Laboratorium Mikrobiologi Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, yang telah membantu penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 1990. Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemist. 16th Ed. Association of Official Analytical Chemist, Arlington, VA.
- Arora, D. S. & R. K. Sharma. 2009. Enhancement in in vitro digestibility of wheat straw obtained from different geographical regions during solid state fermentation by white rot fungi. *Bioresources* 4: 909-920.
- Astuti, W. D., T. Sutardi, D. Evvyernie, & T. Toharmat. 2006. Inkorporasi kromium pada khamir dan kapang dengan substrat singkong yang diberi kromium anorganik. *Med. Pet.* 29: 83-88.
- Bagchi, D., S. J. Stohs, B. W. Downs, M. Bagchi, & H. G. Preus. 2008. Cytotoxicity of different form of chromium. <http://www.science-direct.com/science/article/URL>. [17 Novembar 2008].
- Baldrian, P. 2003. Interaction of heavy metal with white rot fungi. *Enzyme Microbial. Technol.* 32: 78-91.
- Bao, X. F., X. S. Wang, Q. Dong, J. N. Fang & X. Y. Lie. 2002. Structural features immunologically active polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry* 99: 175-181.
- Carry, E. E. & W. H. Allaway. 1971. Determination of chromium in plants and other biological materials. *J. Agric. Food Chem.* 19: 1159-1167.
- Chang, S. T. & P.G. Miles. 2004. Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medical Effect, and Environmental Impact. CRC Press. London, New York.
- Chen, W. Q., S. H. Luo, H. Z. Li, & H. Yang. 2005. Effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on serum lipid and lipoperoxidation in experimental hyperlipidemic rats.

- Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 30:1358-60. Abstract.
- Demirci, A. & A. L. Pornetto.** 2000. Enhanced organically bound chromium yeast production. *J. Agric. Food Chem.* 48: 531-536.
- Dinnis, M. J.** 2009. Modification of wheat straw lignin by solid state fermentation with white rot fungi. *Bioresour Technol.* 100: 4829-4835.
- Gervais, P. & P. Molin.** 2003. The role of water in solid state fermentation. *Biochem Engin J.* 13: 85-101.
- Gao, Y., W. Tang, X. Dai., H. Gao, & G. Chen.** 2005. Effect of water-soluble *Ganoderma lucidum* polysaccharides on the immune function of patients with advanced lung cancer. *J. Med. Food* 8:159-168.
- Gomez, K. A. & A. A. Gomez.** 1995. Prosedur Statistik Untuk Penelitian Pertanian. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Jayanegara, A., A. S. Tjakradidjaja, & T. Sutardi.** 2006. Fermentabilitas dan pencernaan *in vitro* ransum limbah agroindustri yang disuplementasi dengan kromium anorganik dan organik. *Med. Pet.* 29: 54-62.
- Lin, Z. B. & H. N. Zhang.** 2005. Anti-tumor and immunoregulatory activities of *G. lucidum* and its possible mechanisms. *Acta. Pharm. Sinica.* 25: 387-1395.
- Martinez, A. T.** 2005. Biodegradation of lignocellulolistics: microbial, chemical and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. *Int. Microbiol* 8: 195-204.
- Mayer, A. M. & R. C. Staples.** 2002. Laccase: new function for an old enzyme. *Phytochem* 60: 551-565.
- Misra, A. K., A. S. Mishra, M. K. Tripathi, R. Prasad, S. Vaithiyanathan, & R. C. Yakhmola.** 2007. Optimization of solid state fermentation of mustard (*Brassica campestris*) straw for production of animal feed by white rot fungi (*Ganoderma lucidum*). *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 20: 208-213.
- [NRC] National Research Council, Committee on Animal Nutrition.** 1997. The Role of Chromium in Animal Nutrition. National Academic Press, Washington DC.
- Pechova, A. & I. Pavlata.** 2007. Chromium as an essential nutrient. *Vet. Med.* 57: 1-18.
- Saad, A. M., S. A. El Batran, & Moharib.** 2007. Effect of trivalent chromium in the form of yeast on diabetic rats. *J. Appl. Sci. Res.* 3: 791-795.
- Sanches, C.** 2009. Lignocellulosics residues: biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnol Advan* 27: 185-194.
- Skongerson, L. E.** 1982. Method for the production of chromium yeast. U.S. Patent. 4:348-843. In Demirci, A & A. L. Pornetto. 2000. Enhanced organically bound chromium yeast production. *J. Agric. Food Chem.* 48: 531-536.
- Sun, J., H. He, & B. J. Xie.** 2004. Novel antioxidant peptides from fermented mushroom *Ganoderma lucidum*. *J. Agri. Food. Chem.* 52: 6645-6652.
- Van Soest, P. J. & R. H. Wine.** 1967. Use of detergents in analysis of fibrous feeds. Part IV. The determination of plant cell wall constituents. *J. Assoc. Anal. Chem.* 50: 50-52.
- Xing, Z. T., J. H. Chen, Q. Tan, & Y. I. Pan.** 2006. Effect of nutritional parameters by the culinary and medicinal mushroom, *Grifola frondosa*. Edible Fungi Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai, P. R. China.
- Yang, Z. X., Y. Y. So, & W. An.** 2006. Studies on the capability of *Ganoderma lucidum* rich in Chromium. Chinese Electronic Periodical Services.
- Zetic, V. G., V. S. Thomas, S. Grba, S. Lutitsky, & D. Kozlek.** 2001. Chromium uptake by *Saccharomyces cerevisiae* and isolation of glucose tolerance factor from yeast biomass. *J. Biosci.* 26: 217-223.
- Zhao, H. B., S. Q. Lin, J. H. Liu, & Z. B. Lin.** 2004. Polysaccharides extracts isolated from *Ganoderma lucidum* protects rat cerebral cortical neurons from hypoxia/reoxygenation. *J. Pharm. Sci.* 95: 294-298.