Vol.8 No.1 Hal.92-98
Januari 2025

BEST JOURNAL
(Biology Education,Science & Technology)
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan

ISSN (Print) : 2614 – 8064
ISSN (Online): 2654 – 4652

Isolasi, Seleksi, Identifikasi Jamr Pelapuk Kayu Berpotensi Produksi Lipase

Aprilia Dyah Fitriani (1), Endry Nugroho Prasetyo (2), Nengah Dwianita Kuswytasari (3)

(1)(2)(3) Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Analitika Data [(1)(2)(3)] Institut Teknologi Sepuluh Nopember– Jl. Teknik Mesin No.173, Keputih, Kec. Sukolilo, Surabaya, Jawa Timur 60115

apriliadyahfitriani@gmail.com (1) , enpracorp@gmail.com (2) , kuswytasari@bio.its.ac.id (3)

ABSTRAK

Lipase dapat dihasilkan dari makhluk hidup baik itu hewan, tumbuhan maupun mikroorganisme seperti bakteri, dan jamur. Salah satu aktivitas lipolitik berasal dari jamur pelapuk kayu. Isolasi Jamur Pelapuk Kayu di Pulau Poteran, Dusun Sakolaan, Jawa Timur diambil menggunakan metode hand collecting dan diinokulasikan ke media agar. Skrining jamur pelapuk kayu sebanyak 6 isolat menggunakan media Czapek-dox Agar dan indikator Rhodamine-b. Jamur Isolat M12 berpotensi memiliki aktivitas lipolitik dengan menghasilkan warna pendar oranye di bawah sinar UV kemudian diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis yang merupakan jamur *Trametes sp*. Pengamatan kurva pertumbuhan menimbang berat basah miselium selama 14 hari untuk mengetahui fase pertumbuhan dan deteksi aktivitas lipase menggunakan substrat p-Nitrophenol. Hasil kurva pertumbuhan produksi lipase menggunakan metode submerged fermentation yang tertinggi terdapat pada inkubasi hari ke-7 dengan aktivitas crude lipase sebesar 229 U/ml.

Kata Kunci : Jamur Pelapuk Kayu, Isolasi, Metode Skrining, Lipase.

ABSTRACT

Lipase can be produced from animals, plants and microorganisms such as bacteria and fungi. One of the lipolytic activities comes from wood-rotting fungi. Isolation of Woody Weathering Fungi on Poteran Island, Sakolaan Hamlet, East Java was taken using the hand collecting method and inoculated onto agar media. Screening of wood-rotting fungi as many as 6 isolates using Czapek-dox Agar media and Rhodamine-b indicators. Fungus isolate M12 has the potential to have lipolytic activity by producing an orange glow under UV light and then macroscopically and microscopically identified as Trametes sp. Observation of the growth curve weighing the wet weight of the mycelium for 14 days to determine the growth phase and detection of lipase activity using p-Nitrophenol substrate. The results of the growth curve of lipase production using the submerged fermentation method were highest on day 7 incubation with crude lipase activity of 229 U/ml.

Keywords : Wood Decay Fungi, Isolation, Screening Method, Lipase

I. PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Beberapa strain jamur diketahui mampu menghasilkan lipase yang memiliki sifat katalitik khas yang difungsikan untuk aplikasi komersial. Lipase jamur memfasilitasi transfer gugus asil dari beberapa jenis substrat, tidak hanya menggunakan air (substrat alami), alkohol (termasuk turunannya seperti gula), amina, asam amino, alkohol amino dan tiol, yang dapat menghasilkan potensi luas untuk diterapkan dalam reaksi sintesis organik (Godoy *et al*., 2022).Jamur pelapuk kayu memiliki kemampuan mendegradasi lignin dan senyawa organik lainnya yang melibatkan lipase untuk memecah komponen lipid dalam kayu lapuk. Jamur *Trichoderma sp* termasuk kedalam jamur pelapuk kayu dan memiliki potensi aktifitas lipase yang lebih tinggi diikuti oleh *Aspergillus sp* (Gopinath *et al*., 2013). Penelitian Hermansyah dkk (2019), untuk menggunakan *crude* lipase dari *Rhizopus oryzae* dengan mengoptimasi kondisi produksi lipase dan membandingkan unit aktivitas lipase yang dihasilkan dari *solid state fermentation* dan *submerged fermentation*.Sistem fermentasi terendam atau submerged fermentation (SmF) juga disebut sebagai sistem fermentasi cair. Untuk media fermentasi yang digunakan terdiri dari nutrien berfungsi sebagai pendukung pertumbuhan mikroba yang mengandung sumber karbon, nitrogen, fosfor, air dan udara. Pada umumnya, sumber karbon minyak seperti minyak nabati, minyak zaitun, minyak kelapa merupakan faktor yang mempengaruhi karena sifatnya yang lengket, meskipun berbagai minyak sebagai sumber karbon telah digunakan untuk memproduksi lipase dari strain mikroba terutama minyak zaitun, minyak kelapa sawit, minyak bunga matahari, dan minyak almond telah meningkatkan hasil yang lebih tinggi (Colla dkk., 2016).

2. Perumusan Masalah

Dari latar belakang tersebut dapat dirumuskan permasalahan yaitu jenis jamur pelapuk kayu apa yang dapat menghasilkan lipase dari Pulau Poteran, Dusun Sakolaan, Desa Talango, Kabupaten Sumenep, Provinsi Jawa Timur.

3. Tujuan Penelitian

Tujuan dan Manfaat pada penelitian ini untuk mengetahui potensi jenis jamur pelapuk kayu yang dapat menghasilkan lipase dari Pulau Poteran, Dusun Sakolaan, Desa Talango, Kabupaten Sumenep, Provinsi Jawa Timur

4. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah : diharapkan sebagai salah satu sumber bacaan atau referensi tentang Isolasi, Seleksi, Identifikasi Jamur Pelapuk Kayu Berpotensi Produksi Lipase dan dapat menjadi bahan bagi penelitian selanjutnya.

II. METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni sampai dengan September 2024 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Analitikal Data Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS). Lokasi pengambilan sampel jamur pelapuk kayu di Pulau Poteran, Dusun Sakolaan, Desa Talango, Kabupaten Sumenep, Provinsi Jawa Timur.

Rancangan Penelitian atau Model

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu deskriptif kuantitatif dengan melakukan uji seleksi, identifikasi isolat yang berpotensi aktivitas lipolitik dan membuat kurva produksi lipase terhadap isolat jamur pelapuk kayu.

Alat dan Bahan Penelitian

Cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, kertas pH (Merck), kertas saring Watman No.1, jarum ose, autoklaf, lampu spritus, timbangan analitik, inkubator shaker, mikroskop,

centrifuge, dan spektrofotometer. Isolat Jamur Pelapuk Kayu dari Pulau Poteran, Dusun Sakolaan, *Potato Dextrose Agar* (PDA), Medium *Czapek-Dox*, Minyak kelapa sawit, Minyak zaitun, Rhodamine-b, Buffer Tris-HCl pH 7-8, p-Nitrophenol murni (p-NP), Natrium Hiplokorit, NH_4NO_3, KH_2PO_4, $MgSO_4.7H_2O$, $FeSO_4.7H_2O$, Pepton, *Yeast Extract*, $CaCl_2$, Tween-80, *Arabic gum*, isopropil alkohol, akuades, dan alkohol.

Tahapan Penelitian

a. Isolasi dan Purifikasi Jamur Pelapuk Kayu

Pengambilan sampel jamur pelapuk kayu dilakukan pada bulan April 2024 di Lokasi titik koordinat pada Tabel 3.1 menggunakan metode *hand collecting*. Jamur pelapuk kayu diambil secara purposif menggunakan peralatan steril dari permukaan batang kayu lapuk, kemudian disimpan kedalam ziplock steril untuk dibawa ke Laboratorium Biologi ITS. Sampel jamur bagian tudung jamur dan lamella diambil ukuran 1x1 cm. Rendam dengan natrium hipoklorit selama 10 detik dan dibilas menggunakan akuades. Selanjutnya ditumbuhakan dalam media PDA

b. Skrining Lipase Jamur Pelapuk Kayu

Media selektif untuk skrining aktivitas lipolitik jamur, disiapkan 10 ml minyak zaitun dicampur dengan Tween-80 dalam media Czapek-dox kemudian ditempatkan di atas pengaduk magnetik selama 30 menit. Setelah itu, ditambahkan 0,01 g/l Rhodamine-b dan 1,5% agar (Abrunhosa, 2013).

c. Identifikasi Jamur Pelapuk Kayu Penghasil Lipase

Isolat fungi yang berpotensi menghasilkan aktivitas lipolitik, selanjutnya dipilih satu untuk diidentifikasi. Pengamatan makroskopis berdasarkan pengamatan pertumbuhan miselium, warna koloni, tipe (kompak, longgar, aerial hyphae), tekstur (seperti beludru, seperti kapas, kasar), dan diameter koloni diamati.

d. Pembuatan Kurva Produksi Lipase

Kurva produksi lipase diamati dengan cara isolat jamur yang sudah disubkultur kemudian diinokulasikan ke dalam 100 mL media produksi yang terdiri dari komposisi (Pal *et al*., 1978) mengandung NH4NO3 0,1%, KH2PO4 0,2%, MgSO4.7H2O 0,2% dan FeSO4.7H2O 0,1%. Peptone 2%, D-Sorbitol 1%, Yeast Extract 0,5%, dan CaCl2 0,1% ditambahkan ke dalam 100 mL akuades.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Isolasi Jamur Pelapuk Kayu

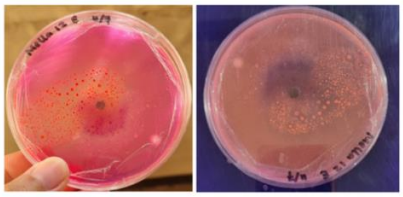
Berdasarkan hasil pengambilan sampel disajikan pada Tabel 3.1 di Kawasan Dusun Sakolaan, Pulau Poteran, Jawa Timur. Memiliki bentuk tubuh buah yang berbeda, menghasilkan hasil kultur hifa yang tumbuh mulai pada inkubasi hari ke-3 pada media PDA. Koloni dari isolat yang tumbuh pada media agar menunjukkan hifa yang tersebar rata dan membentuk miselia yang halus dan tebal. Pertumbuhan jamur pelapuk kayu mulai tumbuh hifa putih pada hari ke-3 inkubasi dan mulai menunjukan karakter perubahan warna hifa dan kantung spora pada hari ke-7. Warna hifa pada jamur pelapuk kayu diperngaruhi oleh beberapa faktor seperti jenis jamur, proses metabolisme yang terjadi selama pelapukan, dan komponen kimia dari media pertumbuhan atau kayu yang terdegradasi. Jamur pelapuk kayu coklat memiliki hifa umumnya berwarna coklat gelap dan mendegradasi selulosa dan hemiselulosa, meninggalkan lignin yang memberikan warna gelap pada kayu yang terdegradasi. Sedangkan jamur pelapuk putih memiliki hifa berwarna putih atau keabu-abuan dengan kemampuan untuk mendegradasi lignin secara efisien, sehingga sering kali mengakibatkan kayu menjadi lebih pucat atau keputih-putihan (Musa dkk, 2022). Pengelompokan berdasarkan warna hifa dan hasil kayu yang terdegradasi bahwa jenis isolat M12 dan A8 adalah jamur pelapuk putih. Isolat B10, B14, S11 dan A10 termasuk kedalam jenis jamur pelapuk coklat.

Tabel 1 Isolat Pengambilan Jamur Pelapuk Kayu di Dusun Sakolaan

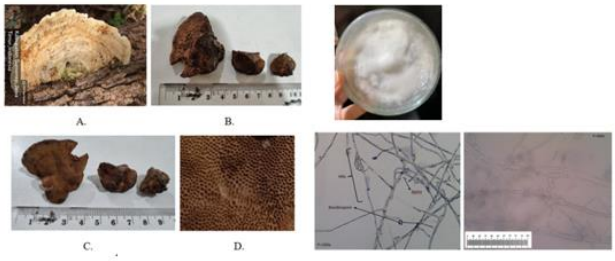
Foto	Isolat	Kode	Foto	Isolat	Kode
		M12			B14
		B10			A8
		S11			A10

1. Skrining Lipase dan Identifikasi Jamur Berpotensi

Hasil seleksi aktivitas lipolitik terlihat pada Isolat M12 pada Gambar 4.1 dengan pengamatan dibawah sinar UV mengeluarkan warna pendar oranye dan zona bening disekitar koloni. Berdasarkan hasil uji skrining aktivitas lipase menggunakan media agar Czapek-dox dengan substrat minyak zaitun dan indikator Rhodamine-b, terpilih hanya 1 isolat yang memenuhi kriteria hasil positif. Hasil pengamatan dibawah sinar UV pada isolat lainnya tidak menunjukan zona bening meskipun menghasilkan pendar oranye. Hasil positif uji skrining aktivitas lipolitik jamur terlihat pada hari ke-4 pengamatan.Hasil identifikasi secara makroskopis pada Gambar 4.3 isolat berpotensi lipolitik M12 adalah tempat hidup pada kayu lapuk keras yang sudah mati, bertekstur keras, bentuk tudung lebar setengah lingkaran, berukuran 1-7 cm, berwarna putih krem dengan corak garis melengkung pada bagian tudung.



Gambar 1. Pengamatan hasil uji skrining aktivitas lipase isolat M12 secara langsung (A) dan dibawah mesin sinar UV (B)



Gambar 2. (I) Karakteristik Tubuh buah isolat M12 bagian Basidiokarp (A), Permukaan atas setelah diisolasi (B), Permukaan bawah setelah diisolasi (C) dan Himenofor Polyporoid (D) ; (II) Karakteristik secara mikroskopik dan makroskopik isolat M12

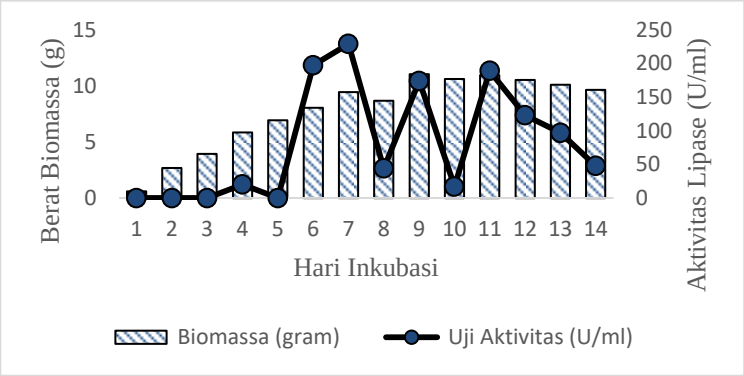
Jamur pelapuk kayu yang berpotensi kemudian diidentifikasi dengan karakteristik morfologi dan makroskopis yang dimiliki oleh isolat M12 memiliki kesamaan dengan Jamur *Trametes sp*. Genus *Trametes* dicirikan dengan kombinasi basidiokarp berlapis-lapis, bertipe himenofor polyporoid, dengan sistem hifa trimitik mengandung ketiga jenis hifa yaitu generatif, skeletal, dan ligatif. Basidiospora *Trametes sp* berdinding tipis yang halus. Tumbuh secara kosmopolitan yang tersebar disemua jenis ekosistem hutan beriklim tropis, subtropis dan kawasan vulkanis (Justo & Hibbett, 2011). *Trametes sp* secara mikroskopis memiliki karakteristik sistem hifa bercabang, saling bertautan, berdinding tebal hingga *subsolid*, dan pada bagian hifa yang bersifat generatif memiliki hifa sambungan seperti *clamp*. Basidiospora berbentuk silindris, mengandung hialin, memiliki dinding yang tipis dan halus, serta berukuran > 5µm (Li & Hui He, 2011).

2. **Kurva Produksi Lipase Jamur Pelapuk Kayu Berpotensi**

Kurva pertumbuhan produksi lipase dengan tambahan substrat minyak kelapa sawit selama 14 hari dapat terlihat pada Tabel 2. Rata-rata pertambahan berat basah miselium 6,15 gram. Fase pertumbuhan sel konstan yakni berat basah miselium konstan dengan rata-rata pertambahan sebesar 10,66 gram pada hari ke-9 sampai dengan hari ke-13 inkubasi. Pada hari ke-14 mulai terlihat penurunan berat basah miselium. Aktivitas *crude* lipase terdeteksi paling tinggi bersamaan dengan tingginya penambahan biomassa paling tinggi yaitu pada hari ke-7 inkubasi sebesar 229 U/ml. Analisis profil pertumbuhan dan aktivitas *crude* lipase dilakukan untuk mengetahui waktu panen maksimal dalam produksi lipase. Berat basah miselium menunjukan bahwa pada hari ke pertama belum menunjukan penambahan biomassa signifikan hanya sebesar 0,6 gram yang disebut Fase Lag. Fase Lag merupakan masa adaptasi dimana mikroorganisme menyesuaikan diri dengan lingkungan yang ditandai dengan tidak/sedikitnya fase pertumbuhan. Pada hari ke- 2 sampai ke -7 terlihat bahwa biomassa mengalami peningkatan biomassa cepat dan konstan dengan rata-rata pertambahan berat basah miselium 6,15 gram yang disebut sebagai fase Log atau eksponensial. Pada hari ke-9 hingga ke-11, isolat M12 menunjukkan fase stasioner karena fase pertumbuhan sel konstan yakni berat basah miselium konstan dengan rata-rata pertambahan sebesar 10,66 gram, bersama dengan nutrisi yang terkandung dalam media pertumbuhan sudah mulai mengalami penurunan nutrisi. Isolat M12 akan mencari sumber nutrisi lain dalam media pertumbuhan seperti susbtrat tambahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu minyak kelapa sawit.

Tabel 2. Data Profil Pertumbuhan dan Profil Aktivitas Lipase Jamur Berpotensi

Hari	Biomassa (gram)	Uji Aktivitas (U/ml)
1	0,600	0
2	2,680	0
3	3,954	0
4	5,848	20,25
5	6,953	0
6	8,048	197,38
7	9,445	229
8	8,678	44
9	11,053	174
10	10,625	17,5
11	10,978	189
12	10,530	123
13	10,119	97
14	9,645	47,77



Gambar 3 menunjukkan peningkatan biomassa bersamaan dengan aktivitas *crude* lipase pada hari ke 6 dan 7 inkubasi. Hal ini terjadi karena adanya aktivitas metabolik seperti produksi enzim lipase meningkat sebagai respon terhadap kondisi lingkungan media yang mengandung substrat minyak kelapa sawit sebagai ketesediaan nutrisi yang mendukung pertumbuhan. Namun memasuki fase stasioner, aktivitas *crude* lipase terdeteksi tidak stabil. Ketidak stabilan tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya kondisi pH dan kosentrasi garam pada media yang digunakan, suhu inkubasi kultur, dan kualitas substrat pada saaat uji aktivitas enzim. Lipase memiliki kondisi optimum pada suhu 30^{o} C akan tetapi masih dapat aktif pada suhu 51^{o} C, sedangkan sebagai katalis enzim dapat berkerja dan bertahan pada rentang pH 6 sampai dengan 8 (Komari & Susilo, 2021). Pada saat penelitian, kualitas substrat dalam uji aktivitas enzim menggunakan pNP dengan campuran *Arabic gum* dan Tween-80 yang dilarutkan dengan isopropil alkohol menghasilkan kondisi larutan substrat yang keruh atau tidak terlarut secara sempurna, menyebabkan pengukuran aktifitas lipase yang kurang stabil dengan spektrofotometer. Substrat pNP bertindak sebagai indikator pH untuk mengukur asam lemak yang dilepaskan oleh lipase secara tidak langsung sehingga hilangnya warna kuning dari p-NP diukur dengan spektrofotometer. *Arabic gum* dan Tween-80 membantu mendispresikan lipid dalam larutan untuk mencegah pengendapan pada saat reaksi berlangsung, dan sebagai agen pengemulsi untuk menstabilkan pNP (Mateos-Díaz *et al*., 2012).

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa salah satu dari 6 isolat jamur pelapuk kayu yang diisolasi dari Dusun Sakolaan, Pulau Poteran memiliki potensi aktivitas lipase yang memiliki karakteristik seperti anggota dari genus *Trametes* yang merupakan tipe jamur *white-rot*. *Trametes* sp berpotensi menghasilkan aktivitas lipase pada kondisi fermentasi pH 7-8 dengan suhu inkubasi 30^{o} C.

DAFTAR PUSTAKA

Abrunhosa, L., Felisbela O., Danielle D., Cristiana G. & Isabel B. (2013). Lipase Production by Aspergillus Ibericus Using Olive Mill Wastewater. Bioprocess Biosyst Eng. 36:285–291

Armel, Boris O., Franz-Sebastian Krah, Meike Piepenbring, Nourou Soulemane Yorou, Ewald Langer. (2020). Diversity of Trametes (Polyporales, Basidiomycota) in tropical Benin and description of new species Trametes parvispora MycoKeys 65: 25–47

Colla, L.M., Primaz, A.L., Benedetti, S., Loss, R.A., Lima, M.D., Reinehr, C.O., & Costa, J.A.V. (2016). Surface Response Methodology for The Optimization Of Lipase Production Under Submerged Fermentation by Filamentous Fungi. Braz. J. Microbiol. 47 (2), 461–467.

Gerry, S. P. Y., Putra, I. P., Yudistyana, R., & Lukito, E. (2022) Keanekaragaman Jamur di Kawasan Pt Badak Ngl. Penerbit Badak NGL

Godoy, C.A., Juan, S. P. T., & Oveimar, B. (2022). Review: Microbial Lipases and Their Potential in the Production of Pharmaceutical Building Blocks Building Blocks. Int. J. Mol. Sci. 23, 9933.

Gopinath, S. C. B., Periasamy, A., Thangavel, L., & Azariah, H. (2013). Strategies to Characterize Fungal Lipases for Applications in Medicine and Dairy Industry BioMed Research International, Article ID 154549.

Hai-Jiao Li & Shuang-Hui He. (2011). Notes on Trametes (Basidiomycota) in China Mycotaxon, Ltd. ISSN (online) 2154-8889 MYCOTAXON Volume 116, pp. 265–281 April–June. ISSN (print) 0093-4666

Hermansyah, H., Andikoputro, M.I., & Alatas. (2019). A Production of lipase enzyme from Rhizopus oryzae by solid state fermentation and submerged fermentation using wheat bran as substrate (Conference Paper). Volume 2085. Article number 020013

Justo, A. and Hibbett, D.2011. Phylogenetic classification of Trametes (Basidiomycota, Polyporales) based on a five-marker dataset 2011 Taxon 60(6):1567-1583

Komari, N. & Susilo, T. B. (2021) Enzimologi : Macam, Fungsi dan Aplikasi Enzim. CV Banyubening Cipta Sejahtera Banjarbaru.

Mateos-Díaz E., Rodríguez J. A., Camacho-Ruiz M. A., Mateos-Díaz J. C. 2012. High-throughput screening method for lipases/esterases. In Lipases and Phospholipases: Methods and Protocols. G. Sandoval, editor. Humana Press, New York. 89–100

Murni, Sri W., Kholisoh, S.D., Tanti, D.L., & Petrissia, E.M. (2011) Produksi, Karakterisasi, dan Isolasi Lipase dari Aspergillus niger prosiding seminar nasional teknik kimia kejuangan 2011 a, Fakultas Teknologi Industri, UPN "Veteran" Yogyakarta

Musa, B. Ha., Edy, B. M. S.b, & Nelly, A.c (2022). Identifikasi Fungi Pelapuk Jaringan Kayu Mati Yang Berperan Pada Proses Biodelignifikasi Di Taman Hutan Raya Bukit Barisan Kabupaten Karo. Abdicendekia Vol 1 No 1

Phookamsak, Rungtiwa et al. (2019). Fungal Diversity notes 929–1035: taxonomic and phylogenetic contributions on genera and species of fungi 95:1–273

Suryani, Yani & Cahyanto, Tri (2022) Pengantar Jamur Makroskopis ISBN : 978-623-99555-2-6 Gunung Djati Publishing Kampus Universitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati, Bandung..

Accepted Date	Revised Date	Decided Date	Accepted to Publish
08 Januari 2025	11 Januari 2025	27 Januari 2025	Ya