



Produksi dan Aplikasi Lakase pada Pembuatan Pulp: Sebuah Tinjauan

Hendro Risdianto

Balai Besar Pulp dan Kertas, Kementerian Perindustrian
Jl. Raya Dayeuhkolot No. 132, Bandung 40258

E-mail: hendrorisdianto@yahoo.com

Abstract

Laccase is one of the promising enzymes in the production process of pulpmaking especially for the delignification process. This enzyme is belonging to the oxidative enzymes that can be produce mainly by white rot fungi. A large scale production of this enzyme is necessary for its availability. Production system for this enzyme has been studied both by submerged fermentation and solid state fermentation. For the applications, a pulping and a bleaching process can utilize this enzyme that can reduce the chemical consumption and pollution loading to the environment without reduce the properties of pulp produced.

Keywords: *submerged fermentation, solid state fermentation, laccase, pulping, bleaching*

Pendahuluan

Lakase (*benzenediol: oxygen oxidoreductase*, EC 1.10.3.2) termasuk dalam kelompok enzim yang disebut protein tembaga biru (*blue copper proteins*) atau *blue copper oxidase*. Protein enzim ini mengandung empat atom tembaga katalitik. Satu tembaga berada pada bagian T1 yang mereduksi ikatan substrat dan bertanggung jawab pada warna biru kehijauan proses oksidasi ion Cu^{2+} . Tiga tembaga lainnya dikelompokkan dalam bagian T1/T2 yang mengikat oksigen molekuler (Kunamneni dkk., 2007).

Lakase adalah kelompok enzim yang memiliki potensi besar di bidang bioteknologi dan pasar yang luas. Lingkup substrat spesifik bagi lakase sangat luas sehingga dapat diaplikasikan dalam bermacam-macam bidang industri seperti delignifikasi pulp, penyisihan warna limbah, detoksifikasi air limbah, detoksifikasi senyawa xenobiotik dan transformasi antibiotik dan steroid (Octavio dkk., 2006; Riva 2006).

Lakase banyak terdapat pada tanaman tingkat tinggi dan jamur, serta ditemukan juga pada serangga dan bakteri. Pada tahun 1883, Yoshida pertama kali menjelaskan penemuan lakase ketika berhasil mengekstraknya dari pohon pernis Jepang (*Rhus vernicifera*). Pada tahun 1896, lakase diketahui merupakan salah satu enzim yang berasal dari jamur oleh Bertrand dan Laborde. Bakteri yang menghasilkan lakase antara lain *Azospirillum lipoferum*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces lavendulae*, *S. cyaneus*, dan *Marinomonas mediterranea*. Lakase pada tanaman ditemukan pada kubis, kentang, apel, asparagus, tunas hijau teh, dan pohon dari golongan *Anacardiaceae* yang mensekresi resin. Kesuksesan aplikasi lakase pada berbagai proses menyebabkan perlu produksi yang besar dengan biaya rendah. Penurunan biaya produksi lakase dapat dilakukan dengan pemilihan mikroorganisme yang tepat, optimisasi medium fermentasi, penambahan induser yang tepat, optimisasi kondisi proses seperti pH dan suhu (Rodgers dkk., 2010).

Jamur pelapuk putih merupakan kelompok jamur yang paling baik memproduksi lakase (Leonowicz dkk., 2001). Lakase disekresikan ke dalam medium oleh miselium atau filamen jamur pelapuk putih. Salah satu faktor pembatas aplikasi skala besar lakase adalah rendahnya efisiensi sistem produksi pada skala besar dalam bioreaktor. Perbedaan morfologi bentuk pertumbuhan jamur berfilamen mempunyai pengaruh yang signifikan pada reologi kaldu fermentasi dan akhirnya berpengaruh pada unjuk kerja bioreaktor. Pengaruh reologi kaldu fermentasi pada perpindahan massa, momentum dan panas dalam bioreaktor telah banyak dibahas. Kemudian, perbedaan bentuk morfologi menghasilkan perbedaan bentuk jenis reologi kaldu fermentasi. Kultur dengan pertumbuhan filamen biasanya menunjukkan reologi viskositas yang tinggi dan cairan non-newtonian. Pengaruh-pengaruh tersebut menyebabkan hasil yang tidak diinginkan





seperti perpindahan massa yang tidak baik, yang akan menurunkan produktivitas secara keseluruhan (Pandey dkk., 2008). Selain itu, pengendalian perpanjangan hifa sangat berpengaruh pada operasi bioreaktor sinambung. Teknik kultivasi dan strategi telah digunakan untuk memproduksi lakase pada skala besar dalam bioreaktor menggunakan jamur berfilamen. Lakase dapat dihasilkan dalam fermentasi kultur rendam (*submerged fermentation*) maupun dalam Fermentasi Kultur Padat (*Solid State Fermentation, SSF*) (Osma dkk., 2007; Risdianto dkk., 2012; Radhika dkk., 2013). Makalah ini memaparkan tinjauan/kajian tentang teknik produksi lakase dan aplikasinya pada pembuatan pulp.

Fermentasi Kultur Rendam

Fermentasi kultur rendam (*Submerged Fermentation, SmF*) melibatkan mikroorganisme dalam medium cair kaya nutrisi dan konsentrasi oksigen tinggi (kondisi aerobik). Produksi enzim skala industri biasanya menggunakan metode ini. Produksi lakase dengan Fermentasi kultur rendam dengan pertumbuhan bebas miselia telah dilakukan oleh banyak peneliti (Radhika dkk., 2013; Fu dkk., 2013). Pertumbuhan jamur dalam kultur rendam biasanya menghasilkan pola pertumbuhan miselium yang tidak terkendali. Pertumbuhan biomassa berpengaruh pada perpindahan massa, laju metabolik, dan sekresi produk. Miselium jamur dapat membungkus impeler dan tersebar dalam jalur pengambilan contoh dan pengumpan nutrisi sehingga perpindahan oksigen terbatas. Kelemahan tersebut membatasi waktu operasi bioreaktor.

Beberapa strategi telah digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan jamur dalam bioreaktor. Salah satunya adalah imobilisasi jamur pada bahan tertentu untuk mengendalikan laju pertumbuhan. Jamur berfilamen mempunyai kecenderungan untuk melekat pada permukaan sehingga menjadi terimobilisasi. Imobilisasi mikroorganisme dapat didefinisikan sebagai teknik yang membatasi pergerakan bebas sel. Imobilisasi sel jamur mempunyai keuntungan antara lain sel terdispersi merata, pemisahan sel dengan medium cair lebih mudah sehingga memungkinkan untuk proses kultur curah berulang, proses kontinyu, dan lanjutan proses hilirnya (Pandey, 2008).

Pada dasarnya, terdapat dua jenis imobilisasi sel, yaitu pemerangkapan (*entrapment*) dan pelekatan (*attachment*). Dahulu, mikroorganisme diperangkap pada celah/sela materi berserat atau berpori atau secara fisik ditahan dalam materi padat atau berpori seperti gel terstabilisasi atau membran. Kemudian, mikroorganisme melekat pada permukaan dengan ikatan dirinya sendiri atau ikatan kimia. Polimer alami seperti alginat, khitosan, khitin, dan turunan selulosa telah banyak digunakan sebagai matriks untuk imobilisasi sel melalui teknik pemerangkapan. Prosedur ini terutama digunakan pada penyisihan limbah warna. Material yang dapat digunakan untuk prosedur pelekatan antara lain busa sintesis seperti *polyurethane foam* (PUF) dan sepon nilon. Kedua jenis bahan tersebut sangat cocok untuk imobilisasi jamur pelapuk putih *Phanerochaete chrysosporium* untuk pengolahan keluaran penjernihan gula. Selain itu, produksi lakase oleh *Pycnoporus cinnabarinus* yang diimobilisasi pada potongan sepon nilon dalam bioreaktor *packed-bed* 10 L secara *batch* (Schliephake, 2000). Luke dan Burton (2001) telah mengimobilisasi jamur *Neurospora crassa* pada membran sebagai media pertumbuhan produksi lakase secara sinambung selama periode 4 bulan tanpa adanya deaktivasi enzim.

Sedarati dkk. (2003) membandingkan kultur sel bebas *Trametes versicolor* dengan kultur terimobilisasi pada *nylon mesh* dalam reaktor tangki berpengaduk 2 L untuk transformasi pentaklorofenol (PCP) dan 2,4-diklorofenol (2,4 DCP) dan ditemukan bahwa kultur terimobilisasi lebih efisien. Couto dkk. (2004) mengamati bahan sintetik yang berbeda sebagai pembawa untuk imobilisasi jamur pelapuk putih *Trametes hirsuta* dalam bioreaktor *fixed-bed* yang dioperasikan secara curah. Pada penelitian tersebut didapatkan bahwa diantara bahan yang digunakan spon *stainless steel* menghasilkan lakase dengan aktivitas tertinggi. Prasad dkk. (2005) meneliti peningkatan aktivitas lakase yang diimobilisasi pada PUF menggunakan jamur *Pleurotus ostreatus* dalam kultur curah.

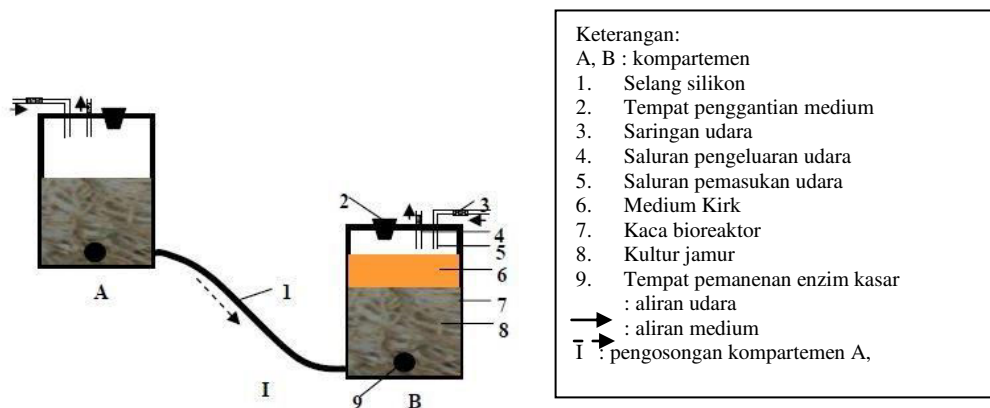
Pada operasi skala industri, sistem imobilisasi sel mikroorganisme memiliki keuntungan lebih dibandingkan sistem sel bebas tersuspensi yaitu daur ulang biomassa setelah proses pemisahan dan minimisasi penyumbatan pada proses sinambung. Namun, sistem imobilisasi memiliki kelemahan antara lain relatif tidak ekonomis, pengaruh terbatasnya perpindahan massa yang dapat mengubah fisiologi sel, dan bahan imobilisasi dapat terganggu karena pertumbuhan metabolisme sel.

Faktor lain yang mempengaruhi produksi lakase adalah agitasi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa produksi lakase tertahan karena gaya mekanis yang dialami jamur. Hess dkk. (2002) mendapatkan bahwa produksi lakase oleh *Trametes multicolor* menurun pada saat menggunakan reaktor tangki berpengaduk disebabkan rusaknya miselia karena gaya geser (*shear stress*). Fenice dkk. (2003)



membandingkan efisiensi dan produktivitas tiga jenis bioreaktor untuk memproduksi lakase dalam reaktor tangki berpengaduk, reaktor *air-lift*, dan reaktor drum berputar. Hasilnya menegaskan bahwa agitasi (gaya mekanis) memberikan pengaruh negatif pada produksi lakase. Ryan dkk. (2005) mengembangkan reaktor *air-lift loop* dan menghasilkan lakase dengan aktivitas tinggi oleh kultur *Trametes pubescens*. Reaktor *air-lift loop* juga dikembangkan oleh Couto dkk. (2006) dan menunjukkan bahwa sistem reaktor tersebut sangat tepat untuk memproduksi lakase dari *Trametes hirsuta* hingga memperoleh aktivitas 19.400 U/L.

Risdianto dkk. (2008) menggunakan bioreaktor imersi berkala termodifikasi untuk mengurangi gaya geser seperti disajikan pada Gambar 1. Satu set bioreaktor terdiri atas dua kompartemen yang diisi *Marasmius sp.* terimobilisasi bulustru. Salah satu kompartemen dapat digerakkan naik dan turun dengan menggunakan mesin penggerak yang diatur waktunya sesuai variasi waktu imersi yang digunakan. aktivitas maksimum lakase diperoleh pada kultur *Marasmius sp.* dengan waktu imersi 12 jam, yaitu sebesar 457,6 U/L dan diikuti berturut-turut oleh kultur *Marasmius sp.* dengan waktu imersi 15 menit (348,4 U/L) dan 24 jam (281,9 U/L). Aktivitas lakase pada siklus kedua lebih rendah dibandingkan siklus pertama. Persentase penurunan tertinggi aktivitas lakase pada siklus kedua terjadi pada kultur dengan waktu imersi 24 jam (80,66%) kemudian diikuti oleh kultur dengan waktu imersi 12 jam (64,30%) dan 15 menit (3,83%).



Gambar 1. Skema bioreaktor imersi berkala termodifikasi (Risdianto dkk., 2008)

Selain faktor pengadukan, sistem operasi reaktor juga berpengaruh pada produksi lakase. Sistem *fed batch* merupakan sistem operasi yang efektif untuk memproduksi lakase oleh jamur pelapuk putih dalam bioreaktor. Strategi ini memberikan pengendalian laju pertumbuhan dengan mengatur konsentrasi substrat untuk menghindari represi katabolit dan metabolisme gula berlebihan. Selain itu, sistem ini menghindari sintesis protease yang secara cepat dapat membuat lakase tidak aktif. Keuntungan utama sistem *fed-batch* adalah kemungkinan pengendalian laju reaksi dan laju metabolik karena pengaturan laju umpan substrat dan menghindari pembatasan karena perpindahan oksigen.

Fermentasi Kultur Padat

Fermentasi Kultur Padat didefinisikan sebagai proses fermentasi dengan tidak atau hampir tidak ada cairan bebas, menggunakan substrat inert (bahan sintetis) atau substrat alami (bahan organik) sebagai media pertumbuhan (*support media*) (Pandey dkk., 2008). Pada saat ini, Fermentasi Kultur Padat merupakan sistem fermentasi yang mampu menghasilkan perolehan produk yang lebih unggul dan proses hilir yang lebih mudah daripada fermentasi rendam (Robinson dan Nigam, 2003; Hansen dkk., 2015). Proses Fermentasi Kultur Padat sangat tepat untuk produksi enzim oleh jamur berfilamen karena memiliki *water activity* yang rendah (0,5 – 0,6 a_w) (Thomas dkk., 2013) dan jamur berada di kondisi yang mirip dengan kondisi asli di alam (Pandey dkk., 2008)

Fermentasi kultur padat dipengaruhi oleh berbagai faktor meliputi pemilihan mikroorganisme, substrat, medium, parameter proses (kimia dan biologi). Identifikasi fisiologi mikroorganisme dan faktor fisika-kimia yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme dan aktivitas enzim yang dihasilkan menuntun untuk pengembangan parameter proses seperti pH, suhu, aerasi, *water activity*, kelembapan, jenis substrat dan



ukuran yang digunakan. Faktor-faktor tersebut harus dioptimisasi yang salah satunya menggunakan rancangan percobaan dan *Response Surface Methodology* (Risdianto dkk., 2012; Hanung dkk., 2013; Thomas dkk., 2013).

Pada saat ini, aplikasi Fermentasi Kultur Padat semakin meningkat walaupun secara umum metode fermentasi untuk produksi produk mikroorganisme masih menggunakan fermentasi kultur rendam. Pada Fermentasi Kultur Padat, media pertumbuhan dan mikroorganisme berada pada keadaan statis sehingga sistem akan kesulitan pada proses perpindahan panas dan massa. Karbon dioksida hasil respirasi mikroorganisme akan terakumulasi pada unggun substrat berukuran lebih berat dari oksigen, kemudian menghasilkan kenaikan temperatur unggun fermentasi. Hal ini memerlukan pengendalian. Secara ringkas, perbandingan fermentasi rendam dan Fermentasi Kultur Padat disajikan pada Tabel 1 (Pandey dkk., 2008).

Tabel 1. Perbandingan Karakteristik Fermentasi Kultur Padat dan Fermentasi Kultur Rendam

Karakteristik	Fermentasi Kultur Padat	Fermentasi Kultur Rendam
Mikroorganisme, substrat	Statis	teragitasi
Penggunaan air	Terbatas	tidak terbatas
Suplai oksigen	Difusi	aerasi
Volume fermentasi	Kecil	besar
Limbah cair terproduksi	dapat diabaikan	signifikan
Energi yang diperlukan	Rendah	tinggi
<i>Capital investment</i>	Rendah	tinggi

Sumber: Pandey dkk., 2008

Risdianto dkk. (2012) menyatakan bahwa suhu, pH dan konsentrasi ekstrak ragi berpengaruh pada produksi lakase dari jamur *Marasmius* sp. Dalam fermentasi kultur padat menggunakan media pertumbuhan jerami. Suhu optimum produksi lakase berkisar 30°C. Hasil ini menunjukkan bahwa *Marasmius* sp. menghasilkan lakase sesuai dengan suhu pertumbuhannya yaitu pada kisaran suhu ruang (28°C). Kunamneni dkk. (2007) juga melaporkan bahwa suhu optimum produksi lakase adalah 25°C dengan adanya cahaya, namun saat tanpa ada cahaya suhu optimumnya adalah 30°C. Secara umum suhu optimum produksi lakase berkisar antara 25 – 30°C. Sedangkan Khrisna (2005) menyatakan bahwa suhu merupakan variabel yang sangat berpengaruh dalam fermentasi kultur padat karena pertumbuhan, produksi enzim atau metabolit biasanya sensitif terhadap suhu. Ekstrak ragi dapat dianggap mewakili sumber nitrogen dengan semakin tinggi konsentrasi ekstrak ragi maka lakase yang dihasilkan semakin turun (Risdianto dkk., 2012). Dengan demikian konsentrasi ekstrak ragi berpengaruh negatif terhadap produksi lakase (Ellisahvilli dkk., 2008). Produksi lakase dipicu oleh keterbatasan nitrogen dalam medium fermentasi (Desai dan Nityanand, 2011)

Ukuran media pertumbuhan, konsentrasi Cu dan kelembapan juga mempengaruhi produksi lakase (Hanung dkk., 2013). Ukuran yang optimum media pertumbuhan (jerami) menghasilkan lakase dengan aktivitas tertinggi. Semakin kecil ukuran dapat mengganggu distribusi oksigen ke jamur karena terjadinya pengumpulan media tersebut. Sedangkan semakin besar ukuran media pertumbuhan maka semakin tinggi fraksi ruang kosong namun semakin kecil luas kontak antara jamur dengan media pertumbuhan sehingga mempengaruhi biomassa yang dihasilkan. Ibrahim dkk. (2012) yang menyatakan bahwa kelembapan sangat berpengaruh pada produksi enzim dalam fermentasi kultur. Kelembapan yang rendah mengurangi menghambat pertumbuhan awal jamur karena rendahnya solubilitas nutrien. Kelembapan yang tinggi menurunkan porositas (ruang kosong) pada medium fermentasi dan menghambat transfer oksigen secara difusional. Patel dkk. (2009) menyatakan bahwa kelembapan awal 40-60% merupakan kondisi optimum produksi lakase optimum. Logam Cu merupakan inducer yang tepat untuk produksi lakase, namun semakin tinggi konsentrasinya dalam medium fermentasi dapat berdampak negatif karena merupakan racun bagi pertumbuhan jamur (Niladevi dkk., 2007)

Penggunaan media pertumbuhan alami, khususnya limbah pertanian lignoselulosa, sebagai substrat pertumbuhan untuk jamur telah digunakan untuk produksi lakase (Couto dkk., 2005; Risdianto dkk., 2012; Gonzales dkk., 2013). Limbah pertanian tersebut mengandung lignin dan/atau selulosa dan hemiselulosa yang berperan sebagai inducer lakase. Selain itu, kebanyakan dari limbah tersebut kaya akan gula yang



secara alami mudah dimetabolisme oleh mikroorganisme. Fermentasi kultur padat ini sangat menarik karena proses pemurnian akan lebih ekonomis (Osma dkk., 2007). Tantangan pada Fermentasi Kultur Padat adalah penguasaan pemahaman terhadap transfer panas dan massa untuk menentukan rancangan dan operasi bioreaktor dan selanjutnya untuk proses *scale-up* (Thomas dkk., 2013).

Tabel 2. Lakase dari Berbagai Jamur Pelapuk Putih dan Limbah Pertanian

Jamur Pelapuk Putih	Media pertumbuhan	Aktivitas lakase (U/L)	Peneliti
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	biji anggur, jerami gandum dan serutan kayu	1620	Couto dkk., 2001
<i>Trametes hirsuta</i>	gandum yang dicampur dengan kulit apel atau kulit jeruk atau kulit kentang	5.000	Rosales dkk., 2002
<i>Trametes versicolor</i>	jerami gandum, kulit gandum dan serutan kayu	1.700	Couto dkk., 2002
	jerami gandum	662	Elisashvili dkk., 2008
<i>Plurotus ostreatus</i>	serbuk tanaman anggur dan serbuk kulit jeruk mandarin	2144.6	Stajic dkk., 2006
<i>Pycnoporus sanguineus</i>	<i>oil palm frond parenchyma tissue</i> ,	46,5 U/g	Vikineswary dkk., 2006
<i>Trametes hirsuta</i>	biji anggur	1.600	Couto dkk., 2006
<i>Trametes pubescens</i>	kulit pisang	1.570	Osma dkk., 2007
<i>Trametes hirsuta</i>	campuran serpih kayu pinus dan kulit jeruk	485	Bohmer dkk., 2011
<i>Marasmius sp.</i>	jerami padi	1.564	Risdianto dkk., 2012

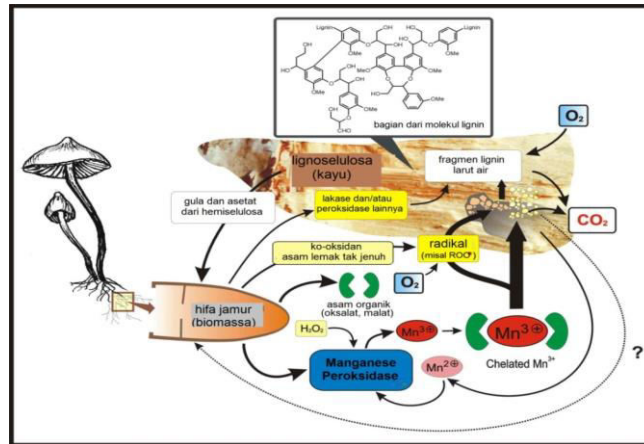
Aplikasi lakase pada pembuatan pulp

Tahap awal pembuatan pulp khususnya pulp kimia adalah penyisihan lignin (delignifikasi) bahan baku lignoselulosa. Proses yang digunakan sebagian besar adalah proses kraft. Pada proses ini, serpih kayu direaksikan dengan campuran sodium hidroksida dan sodium sulfida. Selama proses berlangsung, lignin akan terekstraksi sehingga menghasilkan selulosa dan hemiselulosa dengan sedikit lignin (Gharehkhani dkk., 2015).

Lignin terdiri atas tiga grup besar yaitu lignin guaiasil dalam kayujarum (*softwood*), lignin guaiasil-siringil dalam kayudaun (*hardwood*), lignin guaiasil siringil-*p*-hidroksifenil dalam rerumputan. Lignin tersusun atas polimer tiga dimensi yang terhubung oleh beberapa ikatan C-C, yang hanya sebagian terdegradasi menjadi monomer penyusunnya melalui hidrolisis dan sebagian besar melalui oksidasi (Higuchi, 2006). Struktur utama lignin terdiri atas struktur non-fenolik (80-90%) dan struktur fenolik (Dashtban dkk., 2009). Menurut Koch (2006), struktur kompleks lignin berasal dari biosintesis yang tahap akhirnya adalah nonenzimatis, rekombinasi acak fenoksi radikal dari koniferil, sinapinil, dan *p*-komaril alkohol.

Penyisihan lignin dapat dilakukan oleh jamur pelapuk putih. Jamur ini mendekomposisi kayu menjadi karbondioksida dan air. Kelompok jamur ini secara selektif mendegradasi lignin, yang merupakan tujuan dalam proses pembuatan pulp kimia. Oleh karena itu, penggunaan jamur ini dalam pembuatan pulp dikenal dengan istilah *biopulping* (Kirk dkk., 1993). Degradasi lignin oleh jamur pelapuk putih melibatkan beberapa enzim ekstraseluler (Badr El-Din dkk., 2013), salah satunya adalah lakase (Hatakka dan Hammel, 2010). Jamur pelapuk putih dapat mendegradasi lignin menjadi karbon dioksida (melalui pembentukan antara radikal kimia bebas) tapi tidak dapat tumbuh hanya dengan menggunakan lignin sebagai sumber karbon walaupun lignin menyediakan energi untuk pertumbuhan (Hofrichter, 2000). Penambahan sumber karbon primer dan/atau energi untuk proses degradasi senyawa lain disebut dengan ko-metabolisme (Griffin, 1993). Manganese peroksidase, lignin peroksidase dan lakase disekresikan oleh jamur pelapuk putih untuk mendegradasi lignin dibantu oleh bahan dengan berat molekul rendah (ion Mangan(II), oksalat, asam lemak tak jenuh) (Hofrichter, 2000) seperti disajikan pada Gambar 2.





Gambar 2. Mekanisme pembentukan enzim ligninolitik dalam mendegradasi lignin (Hofrichter, 2000)

Proses biopulping mengurangi penggunaan bahan kimia pemasak (Singh dkk., 2010), menghemat penggunaan energi (Scott dkk., 1998), memperbaiki sifat-sifat kekuatan kertas dan mengurangi beban pencemaran lingkungan (Yadav dkk., 2010). Menurut Scott dkk. (1998), konsep biopulping terdiri atas proses penyerpihan kayu, dekontaminasi, pendinginan, inokulasi jamur, dan perlakuan jamur pada kayu selama 1-4 minggu sebelum dilakukan proses pemasakan dengan tujuan utama untuk mendegradasi lignin. Tabel 3 menyajikan hasil penelitian untuk *biopulping*.

Tabel 3. *Biopulping* berbagai jenis jamur pelapuk putih dan bahan lignoselulosa

Perlakuan/Bahan	Kandungan Lignin (%)		% Reduksi	Pustaka
	Sebelum perlakuan	Sesudah perlakuan		
Perlakuan <i>Ceriporiopsis subvermispota</i> pada bagas (14 hari)	20,1	19,3		Bajpai dkk., 2004
Perlakuan <i>Ceriporiopsis subvermispota</i> pada campuran serpih of <i>Eucalyptus</i> dan poplar (21 hari)	27,70	26,40	4,69	Yadav dkk., 2010
Perlakuan <i>Trametes versicolor</i> pada <i>Acacia mangium</i> (60 hari)	-	-	26,9	Liew dkk., 2011
Perlakuan <i>Trametes versicolor</i> pada <i>Oil Palm Trunk</i> (OPT) (28 hari)	20,55	9,35	54,50	Singh dkk., 2013
Perlakuan <i>Dichomytus squalens</i> pada jerami gandum (14 hari)	-	-	34,1	Knežević dkk., 2013
Perlakuan <i>Phlebia brevispora</i> BAFC 633 pada serpih kayu <i>Pinus taeda</i> (30 hari)	28,79	26,72	7,19	Fonseca dkk., 2014
Perlakuan <i>Marasmius</i> sp. pada Tandan Kosong Sawit (30 hari)	24,26	15,54	35,94	Risdianto dan Sugesty, 2015

Proses pemutihan (*bleaching*) dilakukan untuk memproduksi pulp putih. Lakase dapat berperan untuk perlakuan awal proses pemutihan karena memiliki kemampuan untuk delignifikasi. Perlakuan pemutihan menggunakan enzim kasar dilakukan pada kondisi optimum (L_{opt}) seperti pada sebelumnya yaitu suhu 30°C, waktu 4 jam dan dosis mediator 2,2'-azino-di-[3-ethyl-benzo-thiazolin-sulphonate] (ABTS) 500 g/ton pulp kering. Parameter yang mewakili sifat-sifat kekuatan kertas antara lain panjang serat persentase *fines* dan viskositas pulp Panjang serat pada pulp sangat mempengaruhi kualitas kertas yang dihasilkan. Semakin banyak proporsi serat yang berukuran panjang di dalam pulp, kertas yang dihasilkan akan semakin kuat. Panjang serat antara pulp yang mendapatkan perlakuan pemutihan dengan enzim dan tanpa enzim tidak mengalami perubahan. Panjang serat yang relatif konstan menyebabkan *fines* yang dihasilkan juga relatif sama. *Fines* merupakan fraksi serat yang lolos saringan 200 mesh. Persentase *fines* untuk pemutihan pulp tanpa enzim adalah 4,4% sedangkan dengan enzim adalah 4,5%. Viskositas pulp merupakan gambaran



derajat polimerisasi serat selulosa, sehingga viskositas mengindikasikan degradasi relatif serat selulosa selama proses *pulping/bleaching*. Viskositas pulp dapat diartikan sebagai pengukuran tidak langsung kekuatan pulp. Viskositas pulp untuk pemutihan pulp tanpa enzim adalah 12,12 mPa.s sedangkan dengan enzim adalah 12,01 mPa.s (Risdianto dkk., 2011).

Penelitian Risdianto dkk., (2011) mengindikasikan bahwa lakase hanya menyerang lignin yang terdapat pada permukaan serat sehingga menyebabkan porositas meningkat, pembengkakan serat dan pengelupasan dinding serat. Peristiwa tersebut mempermudah akses proses pemutihan dengan bahan kimia (Dwivedi dkk., 2010). Hasil ini juga sejalan dengan Widsten dan Kandelbauer (2008) yang menyatakan bahwa prasyarat untuk LMS pada proses *biobleaching* adalah selektif terhadap lignin untuk menghindari kehilangan viskositas pulp. Dengan demikian, lakase memiliki kemungkinan yang kecil bereaksi dengan selulosa (Chandra dan Ragauskas, 2005). Kemampuan lakase menurunkan Bilangan Kappa memberi pengaruh positif pada penurunan konsumsi bahan kimia pemutih. Pengurangan kebutuhan klorodioksida sebanding dengan penurunan Bilangan Kappa. Penurunan kebutuhan/pemakaian bahan kimia pemutih klorodioksida (ClO_2) sebesar 36% (Risdianto dkk., 2011).

Organik halida adalah senyawa organik yang mengandung satu atau lebih atom halida (klorin, bromin, iodin dan florin). Klorin secara umum merupakan satu-satunya halida yang terlibat dalam proses pembuatan pulp. AOX adalah ukuran kolektif semua senyawa organik terklorinasi dalam limbah industri pulp. Saat ini telah terjadi peningkatan kesadaran atas bahaya yang diakibatkan oleh limbah proses *bleaching* terutama yang menggunakan senyawa klor. Salah satu metode yang sedang dikembangkan adalah penggunaan enzim untuk proses pemutihan. Nilai AOX turun dari proses pemutihan D_0 ke D_1 . Ini disebabkan karena kandungan lignin pada pulp setelah proses D_0 semakin rendah sehingga senyawa organik terklorinasi pada proses D_1 menjadi lebih rendah. Sementara itu, nilai AOX perlakuan enzim sebelum proses pemutihan menghasikan air limbah dengan kandungan AOX lebih rendah daripada tanpa perlakuan enzim. Pada proses pemutihan klorodioksida tahap I (D_0) nilai AOX tanpa enzim adalah 47,40 ppm dan dengan perlakuan enzim adalah 33,31 ppm atau terjadi penurunan sekitar 29,73%, sedangkan pada proses D_1 terjadi penurunan sekitar 30%. Proses perlakuan dengan lakase sebelum proses pemutihan dengan bahan kimia dapat menurunkan nilai AOX sekitar 30% baik untuk proses D_0 maupun D_1 (Risdianto 2011).

Kesimpulan

Lakase dapat diproduksi secara fermentasi kultur rendam maupun kultur padat. Dengan melihat kehidupan jamur di alam, maka fermentasi kultur padat merupakan teknik yang sesuai untuk sistem produksi lakase dari jamur pelapuk putih. Medium pertumbuhan yang berasal dari limbah pertanian merupakan salah satu strategi untuk produksi lakase berbiaya rendah karena melimpah, murah dan mengandung selulosa, hemiselulosa dan lignin yang dapat berperan sebagai induser. Pemanfaatan lakase yang dihasilkan oleh jamur pelapuk putih mampu mendegradasi lignin sehingga dapat membantu proses *pulping* berikutnya menggunakan bahan kimia pemasak. Pada proses pemutihan untuk delignifikasi lebih lanjut, lakase dapat berperan signifikan untuk menurunkan kadar lignin sehingga menurunkan kebutuhan bahan kimia pemutih dan mampu menurunkan beban pencemar berupa AOX ke lingkungan.

Daftar Pustaka

- Badr El-Din, SM., Kheiralla, ZH., Abdel Malik, SM., Abdel Aziz, DH., Selection of fungal isolate for Biopulping of Rice Straw. *Bioresources*, 2013; 8(4): 4969-4980
- Bajpai, P., Mishra, S. P., Mishra, O. P., Kumar, S., Bajpai, P. K., Biochemical Pulping of Bagasse. *Biotechnol. Prog.* 2004; 20: 1270-1272
- Chandra, RP, dan Ragauskas, AJ: Modification of high-lignin kraft pulps with laccase. Part 2. xylanase-enhanced Strength benefits, *Biotechnol. Prog.* 2005; 21: 1302-1306.
- Couto, SR, Sanroman, MA, Hofer, D., Gübitz, GM. Production of laccase by *Trametes hirsuta* grown in an immersion bioreactor and its application in the decolorization of dyes from a leather factory, *Engineering in Life Science*. 2004; 4: 233-238.
- Couto, SR, Rodriguez, A., Peterson, RRM., Lima, N., Teixeira, JA., Laccase activity from the fungus *Trametes hirsuta* using an air-lift bioreactor, *Applied Microbiology*. 2006; 42: 612-616.
- Dashtban, M., Schraft, H., Qin, W. Fungal Bioconversion of Lignocellulosic Residues: Opportunities & Perspectives. *International Journal of Biological Science*. 2009; 5(6): 578-595





- Desai, SS, Nityanand, C. Microbial Laccase and their Applications: A review. *Asian Journal of Biotechnology*. 2011; 3 (2): 98 – 124.
- Dwivedi, P., Vivekanand, V., Pareek, N., Sharma, A., Singh, RP. Bleach enhancement of mixed wood pulp by xylanase–laccase concoction derived through co-culture strategy. *Appl Biochem Biotechnol*. 2010;160: 255–268.
- Fu, K., Fu, S., Zhan, H., Zhou, P., Liu, M., Liu, H. A Newly Isolated Wood-rot Fungus for Laccase Production in Submerged Cultures. *Bioresources*. 2013; 8 (1): 1385 – 1397
- Fonseca, MI., Fariña, JI., Castrillo, ML., Rodríguez, MD., Nuñez, CE., Villalba, LL., Zapata, PD. Biopulping of wood chips with *Phlebia brevispora* BAF 633 reduces lignin content and improves pulp quality. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2014; 90: 29-35
- Griffin, DH. *Fungal physiology*. A John Willey and Sons, Inc., New York. 1993.
- Hanung, C.D., Osmond, R., Risdianto. H., Suhardi, S.H., Setiadi, T. Optimisasi Produksi Enzim Lakase pada Fermentasi Kultur Padat menggunakan Jamur Pelapuk Putih *Marasmius* sp.: Pengaruh Ukuran Partikel, Kelembapan, dan Konsentrasi Cu. *Jurnal Selulosa*. 2013; 3 (2): 67-74
- Hatakka, A., Hammel, KE. *Fungal Biodegradation of Lignocelluloses*. Dalam Hofrichter, M. *Industrial Application, 2nd Edition*, The Mycota X, Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2010.
- Higuchi, T. Look back over the studies of lignin biochemistry. *J Wood Sci*. 2006; 52: 2–8
- Hofrichter, M. Manganese peroxidase: enzymatic combustion of lignin. *Biospektrum*. 2000; 6: 198-199.
- Ibrahim, D., Puspitaloka, H., Rahim, RA, Hong, LS. Characterization of solid state fermentation culture conditions for growth and mananase production by *Aspergillus niger* USM F4 on rice husk in tray system. *British Biotechnology Journal*.2012; 2(3): 133-145
- Kirk, TK., Burgess, RR., Koning, JW. Use of Fungi in Pulping Wood: An Overview of Biopulping Research. Dalam Leatham, Gary F., ed. *Frontiers in industrial mycology. Proceedings of Industrial Mycology symposium; 1990 June 25–26; Madison, WI*. New York: Routledge, Chapman & Hall; 1992. Chapter 7.
- Knežević, A., Milanović, I., Stajić, M., Lončar, N., Brčeski, I., Vukojević, J., Čilerdžić, J.. Lignin degradation by selected fungal species. *Bioresource Technology*.2013; 138: 117–123
- Koch, G. Raw material for pulp. Dalam Sixta, H.. *Handbook of Pulp*. WILEY-VCH Verlag GmbH&Co.2006.
- Kunamneni, A., Ballesteros, A., Plou, F. J., and Alcalde, M. Fungal laccase – a versatile enzyme for biotechnological applications. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*.2007;p: 233-245.
- Leonowicz, A., Cho, NS., Luterek, J., Wilkolazka, A., Wasilewska, MW., Matuszewska, A., Hofrichter, M., Wesenberg, D., Rogalski, J. Fungal laccase: properties and activity on lignin. *J. Basic Microbiol*.2001; 41 3–4: 185–227.
- Liew, C. Y., Husaini, A., Muid, S., Liew, K. C., Roslan, H. A. Lignin biodegradation and ligninolytic enzyme studies during biopulping of *Acacia mangium* wood chips by tropical white rot fungi. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*.2011; 27(6): 1457-1468
- Liew, C.Y., Husaini, A., Muid, S., Liew, K.C., Roslan, HA. Lignin biodegradation and ligninolytic enzyme studies during biopulping of *Acacia mangium* wood chips by tropical white rot fungi. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*.2011; 27(6):1457-1468
- Niladevi, K.N., Sukumaran, R.K., Prema, P. Utilization of rice straw for laccase production by *Streptomyces psammoticus* in solid state fermentation. *J. Ind Microbiol Biotechnol*. 2007; 34: 665-674
- Octavio, LC., Irma, PP., Ricardo, BR., Francisco, VO. Laccases. *Advances in Agricultural and Food Biotechnology*. 2006; p: 323-340.
- Osma, J., Herrera, J., Couto, S. Banana skin: A novel waste for laccase production by *Trametes pubescens* under solid-state conditions application to synthetic dye decolouration. *Dyes and Pigments*.2007; 75: 32-37.
- Pandey, A., Soccol, C., Laroche, C. *Current development in solid state fermentation*. New Delhi: Springer Asiatech Publisher Inc.2008
- Patel, H., Gupte, A., Gupte, S. Effect of different culture and inducers on production of laccase by a Basidiomycete fungal isolate *Pleurotus ostreatus* HP-1 under Solid State Fermentation. *Bioresources*. 2009;4(1): 268-284



- Prasad, KK., Mohan, SV., Bhaskar, YV., Ramanaiah, SV., Babu, VL., Pati, BR., Sarma, PN. Laccase production using *Pleurotus ostreatus* 1804 immobilized on PUF cubes in batch and packed bed reactors : influence of culture condition, *The Journal of Microbiology*. 2005; 43: 301-307.
- Radhika R, G. Jebapriya, R., Gnanadoss, J.J., 2013. Production of cellulase and laccase using *Pleurotus* sp. under submerged and solid-state fermentation. *Int J. Curr. Sci*. 2005; 6: E 7-13
- Risdianto, H., Sofianti, E., Suhardi, S.H., Setiadi, T. Optimisation of laccase production using white rot fungi and agriculture wastes in solid state fermentation. *ITB Journal of Engineering Science*. 2012; 44B(2): 93-106
- Risdianto, H., Sudarmin, Suhardi, S.H., Setiadi, T. Optimisation of Biobleaching Process of Unbleached Kraft Pulp *Acacia mangium* by using Crude Laccase. *Journal of Science and Technology, Vietnamese Academy and Technology*. 2011; 9(1A)
- Risdianto, H., Sugesty, S.. Pretreatment of *Marasmius* sp. on Biopulping of Oil Palm Empty Fruit Bunches. *Modern Applied Science*. 2015; 9 (7): 1-6.
- Risdianto, H., Suhardi, S. H., Setiadi, T. Produksi Lakase dan potensi aplikasinya dalam proses pemutihan pulp. *Berita Selulosa*. 2008; 43 (1): 1-10.
- Riva, S. Laccases: blue enzymes for green chemistry. *TRENDS In Biotechnology*. 2006; 24:119 – 226.
- Rodgers, CJ., Blanford, CF., Giddens, SR., Skamnioti, P., Armstrong, FA., Gurr, SJ. Designer laccases: a vogue for high-potential fungal enzymes?. *Trends Biotechnol*. 2010; 28: 63-72.
- Ryan, DR., Leukes, WD., Burton, SG. Fungal Bioremediation of Phenolic Wastewaters in an Airlift Reactor. *Biotechnology Progress*, 2005; 21 (4): 1068-1074.
- Schliephake, K., Mainwaring, DE., Lonergan, GT., Jones, IK., Baker, WL. Transformation and degradation of the disazo dye Chicago Sky Blue by a purified laccase from *Pycnoporus cinnabarinus*. *Enzyme Microb Technol*. 2000; 27: 100–107.
- Scott, GM., Akhtar, M., Lentz, MJ., Kirk, TK. New technology for papermaking: commercializing biopulping. *Tappi J*. 1998; 81: 220–225
- Sedarati, MR., Keshavarz, T., Leontievsky, AA., Evans, CS. Transformation of high concentrations of chlorophenols by the white-rot basidiomycete *Trametes versicolor* immobilized on nylon mesh. *Process Biotechnology*. 2003; 6 (1): 1-8.
- Singh, P., Sulaiman, O., Hashim, R., Rupani, PF., Peng, LC. Biopulping of lignocellulosic material using different fungal species: a review. *Rev Environ Sci Biotechnol*. 2010; 9: 141–151
- Thomas, L., Larroche, C., Pandey, A. Current developments in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*. 2013; 81: 146–161
- Widsten, P., Kandelbauer, A. Laccase applications in the forest products industry: A review. *Enzyme and Microbial Technology*. 2008; 42: 293-307.
- Yadav, RD., Chaudry, S., Dhiman, SS. Biopulping and Its Potential to Reduce Effluent Loads from Bleaching of Hardwoods Kraft Pulp. *Bioresources*. 2010; 5(1): 159-171.



Lembar Tanya Jawab

Moderator: Y Deddy Hermawan (UPN "Veteran" Yogyakarta)

Notulen : Andri Perdana (UPN "Veteran" Yogyakarta)

- Penanya : Deddy Hermawan (UPN "Veteran" Yogyakarta)
- Pertanyaan : Apa penggunaan laktose dibanding chemical? Perbandingan keekonomian?
- Jawaban : Belum dietliti lebih lanjut. Akan menguntungkan teknologi ini apabila, waktu dan cost. Air limbah menjadi pertimbangan.