

Pemanfaatan Media Tumbuh Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) Sebagai Sumber Enzim Lakase dan Kapasitas Biokatalis Pembentuk Senyawa Antimikroba

A. Herry Cahyana, Siswati Setiasih, Niken Wulandarie

Dept. Kimia, FMIPA-UI, Kampus UI Depok 16424

herrykim@ui.edu

Abstrak

Proses biokatalisis dengan pemanfaatan enzim sangat mendukung konsep kimiawi yang ramah lingkungan dan mempunyai jenis produk yang spesifik karena selektivitasnya. Jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*), adalah jamur yang aman dikonsumsi, dan dikembangkan biakkan dari media berupa serpihan kayu, secara kimiawi merupakan lignin dan dimanfaatkan sebagai sumber energi bagi jamur tersebut. Kemampuan jamur tersebut dapat mendegradasi lignin menarik perhatian untuk diteliti, bahwa sisa proses metabolisme yang terjadi diduga masih mengandung suatu sistem enzim golongan oksidoreduktase yang salah satunya dikenal enzim lakase (*laccase*). Ekstrak enzim kasar lakase diperoleh dari media tumbuh jamur dengan bufer fosfat pH 6,0 dan dengan tahapan pemurnian parsial, enzim ini mampu mengkatalisis reaksi dengan substrat senyawa fenolik, guaiakol. Hasil reaksi dapat ditandai dengan terbentuknya produk yang tidak larut dalam sistem akueusnya, membentuk kekeruhan berwarna kemerahan. Tahap pemurnian terhadap hasil reaksi ini dapat diperoleh suatu senyawa yang dalam uji lanjut secara spektroskopik dengan alat UV-Vis dan GC-MS diketahui merupakan senyawa berbentuk dimer dari substrat awalnya yaitu 4,4'-biguaiakol dan menunjukkan aktivitas sebagai antimikroba terhadap *B. subtilis* dan *E. coli*

Kata kunci : Lakase ; *Pleurotus ostreatus* ; 4,4'-Biguaiakol, Antimikroba

1. PENDAHULUAN

Senyawa bahan alam menyediakan variasi struktur kimiawi yang dapat dimanfaatkan oleh tanaman itu sendiri atau telah dikembangkan lebih jauh oleh manusia untuk menghasilkan bahan yang bermanfaat. Senyawa-senyawa tersebut terjadi karena adanya proses-proses yang salah satunya melalui proses biotransformasi¹⁾. Fenom ini menarik untuk diteliti bahwa pemanfaatan enzim untuk proses biofransformasi senyawa organik dapat diterapkan dalam skala laboratorium. Sistem enzim tersebut yang sedang diteliti saat ini adalah enzim peroksidase dan lakase. Enzim lakase diketahui bermanfaat dan telah diteliti dalam bidang lingkungan berupa kemampuan detoksifikasi polutan²⁻³⁾.

Pemanfaatan jamur sebagai sumber enzim adalah dari jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) yang diduga mempunyai spesifikasi khusus, karena lingkungan tumbuhnya. Jamur ini mengandung enzim lakase karena kemampuannya dapat tumbuh dengan

media kayu. Jamur ini dibudidayakan dengan teknologi sederhana menggunakan bahan media dari serbuk gergaji kayu dengan penambahan bahan suplemen antara lain dedak, biji-bijian, pupuk, mineral, dan air. Maka sisa media tumbuh hasil panen jamur ini berpotensi sebagai sumber enzim lakase yang bermanfaat. Dari jamur tersebut akan disekresikan suatu sistem enzim yang dapat mendegradasi kayu, untuk dimanfaatkan sebagai sumber karbonnya, dan diketahui enzim lakase memegang peranan penting dalam hal ini.

Enzim lakase termasuk dalam enzim oksidoreduktase yang dapat mereduksi molekul oksigen menjadi H₂O dan melibatkan mediator organik untuk proses oksidasinya. Aspek mediator inilah dari segi kimia organik penting untuk diteliti karena suatu komponen bahan alam dapat berperan disini. Dari sini dapat dimulai suatu penelitian yang merupakan simulasi model kimiawi bahan alam dan aspek enzimatik yang dapat memanfaatkan bahan alam tersebut.

Dari penelitian sebelumnya diketahui bahwa jamur tiram (*Pleurotus ostretus*) dan jamur kayu (*Phellinus gilvus*) mengandung enzim lakase dan diketahui aktif sebagai biokatalis pembentukan senyawa baru dan aktif dalam uji bioaktivitas sebagai senyawa antioksidan^{4,5}). Dari kesimpulan ini, ingin diteliti lebih lanjut yaitu bagian media tumbuh jamur yang berupa serpihan kayu sisa pertumbuhan jamurnya apakah berpotensi sebagai sumber enzim yaitu masih mengandung enzim lakase dan diharapkan kelak media sisa pertumbuhan yang sudah tidak bermanfaat lagi ini akan mempunyai nilai ekonomik yang baik.

Tujuan penelitian ini adalah pemanfaatan sisa media tumbuh jamur tiram putih sebagai sumber enzim lakase dan kemampuan biotransformasi terhadap senyawa fenolik guaiakol dan uji aktivitas antimikroba atas produk biotransformasinya.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Bahan :

Tanaman jamur yang digunakan diperoleh dari lembaga penelitian BIOTROP Bogor. Bahan-bahan lain yang digunakan antara lain: guaiakol, larutan buffer fosfat pH 6,0 *n*-heksan, etil asetat, katekol, pereaksi biuret, pereaksi follin ciocalteu, BSA, Na₂SO₄ anhidrat, dan lempeng KLT (Kromatografi Lapis Tipis).

2.2 Cara kerja

a. Isolasi Enzim Lakase

Sebanyak ± 200 g potongan jamur dihancurkan dengan blender dalam larutan buffer fosfat pH 6,0 dan dalam keadaan dingin (0-5°C). Homogenat kemudian disaring dengan kain katun, filtrat yang diperoleh disentrifugasi menghasilkan enzim kasar. Aktivitas enzim diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 470 nm⁶).

b. Reaksi biotransformasi dengan enzim lakase.

Sebanyak 200 mL enzim lakase kasar dicampur dengan 50 mL guaiakol 8.91 M dan direaksikan selama ± 10 menit pada suhu 4°C, kemudian dipindahkan dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut etil asetat. Didapatkan fase etil asetat berwarna coklat dan dipisahkan dari fase air. Pemurnian hasil dilakukan menggunakan kolom kromatografi silika-gel dengan pelarut *n*-heksan : etil asetat.

c. Uji aktivitas antimikroba⁷.

Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan terhadap dua species bakteri, yaitu bakteri Gram positif (*B. subtilis*) dan bakteri Gram negatif (*E. coli*).

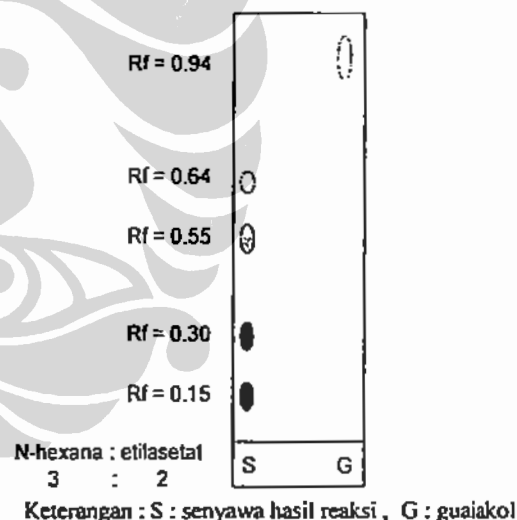
Metode yang digunakan adalah metode difusi cara cakram. Konsentrasi (dosis) yang diujikan adalah 2.5 x 10⁴ ppm, 1.25 x 10⁴ ppm, 1 x 10³ ppm, 0.5 x 10⁴ ppm, 0.25 x 10⁴ ppm, 1 x 10³ ppm, 0.5 x 10³ ppm, 0.25 x 10³ ppm dan 1 x 10² ppm.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari bahan sisa media tumbuh jamur tiram putih diketahui menunjukkan aktivitas sebagai enzim lakase yang ditunjukkan dengan hasil uji yang positif seperti tabel 1.

Tabel 1. Aktivitas enzim lakase ekstrak kasar

A _{504,9nm}	A _{744nm}	Kadar protein (mg/mL)	Aktivitas spesifik (U/mg)	Total protein (mg)
1,29	1,21	0,85	0,230	510

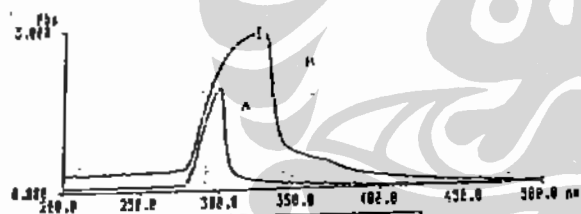


Gambar 1. KLT produk hasil reaksi guaiakol dengan enzim lakase.

Selanjutnya ekstrak enzim kasar lakase diujicobakan dengan mencampur senyawa fenolik guaiakol sebagai model substratnya. Guaiakol dipilih karena mempunyai reaktivitas yang baik dan hasil reaksinya dapat diamati secara sederhana. Hasil reaksi enzim kasar lakase dengan guaiakol menghasilkan produk berwarna kemerahan yang kelutannya terhadap air rendah. Perubahan fisik berupa perubahan tingkat kelarutan ini menandakan

telah terjadinya perubahan struktur kimiawi, yaitu kemungkinan adanya penggabungan molekul sehingga menaikkan berat molekulnya. Uji lebih lanjut atas komponen hasil reaksi ini dilakukan dengan menggunakan KLT dengan pelarut *n*-heksan : etil asetat (3:2) dan menunjukkan hasil adanya empat buah noktah seperti gambar 1.

Dari kromatogram KLT ini diketahui bahwa produk yang diperoleh merupakan hasil reaksi guaiakol oleh adanya enzim lakase dan merupakan campuran atas produk-produk baru yang sebelumnya tidak terdeteksi. Diketahui juga bahwa dengan waktu reaksi yang singkat hamper sebagian besar substrat awal guaiakol dapat berubah menjadi produk yang ditunjukkan dengan tidak adanya lagi noktah dengan Rf 0,94 dari campuran produknya. Pemurnian lanjut menggunakan kolom kromatografi silika-gel dengan sistem gradient pelarut *n*-heksan : etil asetat, dapat diperoleh salah satu isolat murni berupa kristal kekuningan dengan nilai Rf 0,55 dan mempunyai titik leleh 84-86°C. Analisis dengan UV diperoleh data λ_{max} guaiakol sebesar 299.7 nm dan dari senyawa hasil isolasi 323.3 nm. Pergeseran nilai absorbansi ini menandakan adanya perubahan yang diakibatkan oleh adanya pembentukan kromofor baru yaitu adanya tambahan ikatan tak jenuh yang terkonjugasi yang menambah membentuk sistem diena seperti dalam gambar 2.

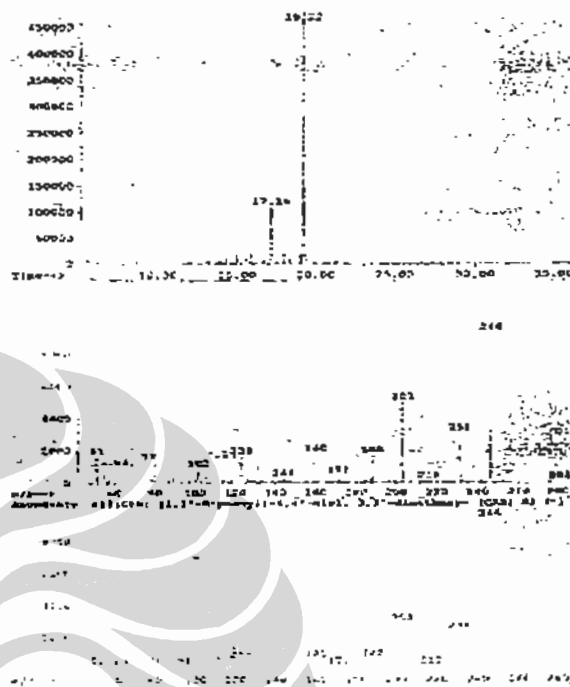


Gambar 2. Spektrum UV-Visible guaiakol (A) dan senyawa hasil isolasi (B).

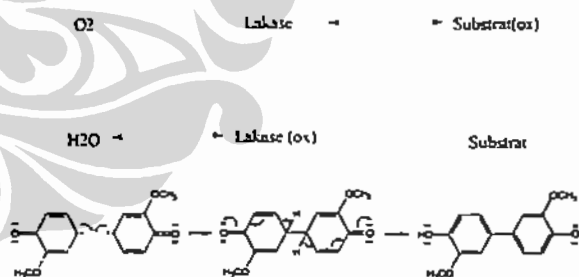
Untuk mengetahui lanjut tingkat kemurnian dan berat molekul isolat yang diperolehnya, dilakukan analisis lanjut dengan alat GC-MS (kromatografi gas spektrometri massa). Dari hasil kromatogram diketahui adanya puncak utama dengan waktu retensi sebesar 19.22 menit yang mempunyai luas area sebesar 87.12%.

Dari data di atas diperoleh nilai $m/z = 246$ dan dalam konfirmasi lebih lanjut dengan cara membandingkan nilai m/z tersebut dengan standar yang telah diketahui, diperoleh bahwa senyawa baru yang terbentuk tersebut adalah 4,4'-biguaiakol. Dari identifikasi tersebut maka senyawa baru ini merupakan hasil pembentukan melalui reaksi kopling oksidasi

antar molekul guaiakol dengan penggabungan pada posisi para-para seperti ilustrasi gambar dibawah ini.



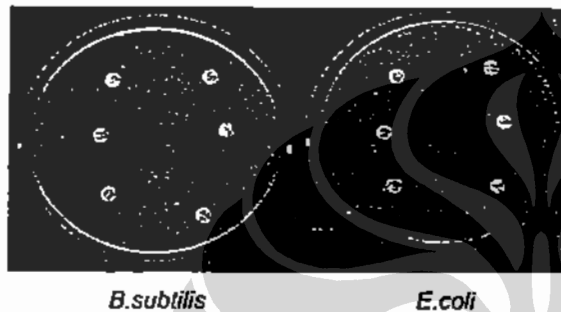
Gambar 3. Kromatogram GC-MS senyawa hasil isolasi.



Gambar 4. Mekanisme kopling oksidatif pembentukan 4,4'-biguaiakol

Pembentukan ini terjadi karena enzim lakase merupakan enzim oksidoreduktase yang mempunyai kemampuan mengoksidasi suatu mediator dalam hal ini senyawa fenolik guaiakol akibat dari hasil penstabilan diri enzim setelah mereduksi oksigen. Guaiakol yang teroksidasi karena struktur fenolik yang dapat beresonansi mengakibatkan terjadi saling menstabilkan diri lewat mekanisme kopling oksidatif, dan reaksi ini terjadi dalam kondisi yang mudah dan sederhana. Kemampuan oksidatif yang dimiliki enzim

lakase hasil pemurnian dari sisa media tumbuh jamur tiram putih ini memberikan informasi yang sangat penting dalam penelitian awal ini. Hal ini menarik untuk diteliti lanjut karena proses ini sebenarnya terjadi juga dalam biogenetik senyawa bahan alam yang berbasis pada jalur pembentukan senyawa-senyawa tertentu yang juga diketahui mempunyai kapasitas bioaktif yang spesifik⁸⁾. Uji antimikroba senyawa hasil biotransformasi ini dengan menggunakan bakteri *B.subtilis* dan *E.coli* dengan cara difusi cakram seperti terlihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 5. Hasil uji antimikroba cara cakram

Tabel 1. Diameter penghambatan uji antimikroba cara cakram.

Kons. (mg/mL)	Guaiakol		4,4'-Biguaiakol	
	<i>B.subtilis</i> (cm)	<i>E.coli</i> (cm)	<i>B.subtilis</i> (cm)	<i>E.coli</i> (cm)
0.1	-	-	-	-
0.25	-	-	-	-
0.50	-	-	-	-
1.00	-	-	-	-
2.50	-	-	-	-
5.00	-	-	0.2	-
10.00	-	-	0.6	-
12.5	0.8	0.9	1.0	1.0
25.0	1.2	1.3	1.4	1.4
50.0	1.6	1.7	1.9	2.3

Dari data diatas terlihat bahwa dari seri konsentrasi yang diterapkan pada konsentrasi diatas 5,00 mg/mL menunjukkan adanya aktivitas penghambatan yang ditunjukkan dengan timbulnya daerah bening disekitar cakram zat uji. Produk reaksi senyawa 4,4'-biguaiakol mulai aktif terhadap *B.subtilis* pada konsentrasi 5,00 mg/mL dan semakin kuat aktivitasnya dengan naiknya konsentrasi yang diberikan. Senyawa ini juga menunjukkan aktivitas yang sama terhadap bakteri

E.coli dan menunjukkan aktivitasnya mulai konsentrasi 12, 5 mg/mL.

4. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian diatas dapat disimpulkan bahwa ekstrak kasar enzim lakase yang dari jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) dapat dimanfaatkan sebagai biokatalis untuk pembentukan senyawa bioaktif dari senyawa fenolik guaiakol membentuk produk dimernya, 4,4'-biguaiakol, dan menunjukkan aktivitas sebagai antimikroba terhadap *B. subtilis* dan *E. coli*.

DAFTAR ACUAN

- [1]. Ikehata, K., Buchanan I, D., Smith D.W., Recent Developments in the production of extracellular fungal peroxidase and laccase for waste treatment J. Environ. Eng. Sci., (2004), 1-19.
- [2]. Bollag, J. M., Shuttlesworth, K.L., Anderson, D.H., Laccase-mediated detoxification of phenolic compounds, Appl. Environ. Microbiol., (1998), 3086-3091.
- [3]. Podzdyakova, N.N., Nowak, J. R., Turkovskaya, O.V. Catalytic Properties of Yellow Laccase from *Pleurotus ostreatus* D1, J. Molecule.Catalysis ,Enzymatic, 30, (2004) . 19-24.
- [4]. Latifah, M., (2004). Karya Utama Sarjana Kimia, Departemen Kimia, FMIPA-UI.
- [5]. Rossi, M., (2004) Karya Utama Sarjana Kimia, Departemen Kimia, FMIPA-UI.
- [6]. Alexander, M., Purification and characterization of the constitutive form of laccase from the basidiomycetes *Coriolus hirsutus* and effect of induction laccase synthesis. Biotechnol. Appl. Biochem., (1998), 28, 47-54.
- [7]. Pelczar, M.J. Dasar-dasar mikrobiologi, Terj. Ratna S. Hadioetomo. UI press Jakarta. 1996.
- [8]. Dewick, P.M., Medicines natural products. A biosynthesis approach. John Wiley and Sons. New York. 1997.