

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI FUNGI PADA LIMBAH INDUSTRI KAYU PUTIH (*Melaleuca leucadendra*)

Isolation And Identification Fungi In Waste Of Cajuput Oil (*Melaleuca leucadendra*) Industry

Umi Isnatin^{1*}, Parwi²⁾, Takim Mulyanto¹⁾

¹⁾ Program Studi Agroteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi,
Universitas Darussalam Gontor

²⁾ Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas
Merdeka, Ponorogo

DOI: 10.21111/agrotech.v3i2.1075

Terima 28 November 2017

Revisi 28 December 2017

Terbit 30 Desember 2017

Abstrak: Penelitian ini bertujuan untuk isolasi dan seleksi fungi limbah industri kayu putih. Limbah penyulingan daun kayu putih selama ini belum dimanfaatkan untuk pupuk organik karena sulit didekomposisi akibat kadar selulosa yang tinggi. Disisi lain limbah ini memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan sebagai bahan baku pupuk organik. Oleh sebab itu perlu dicari fungi yang memiliki kemampuan untuk menguraikan limbah tersebut. Fungi dapat mengekskresi enzim selulase yang berfungsi mendegradasi selulosa. Sampel limbah diambil secara random sampling di 3 tempat dilimbah pabrik kayu putih. Fungi dikembangkan pada media cair, kemudian diisolasi dan diidentifikasi pada media padat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ditemukan tiga isolat fungi yang ada di limbah industri kayu putih dan yang mempunyai potensi untuk agen decomposer hanya dua isolat yaitu *aspergillus niger* dan *trichoderma viride*.

Kata Kunci : Isolasi, identifikasi, fungi, limbah, industri kayu putih

Abstract: This study aimed to isolate and select the fungi in waste of Cajuput Oil Industry. Waste of Cajuput oil industry has not been used for organic fertilizer because it is difficult to decompose due to high cellulose content. On the other hand, this waste has great potential to be developed as raw material of organic fertilizer. It is therefore, necessary to select for fungi that have the

*

Korespondensi email: umiagrounida@yahoo.com

Alamat : Jl. Raya siman km 5, Siman, Ponorogo, Jawa Timur 63471

ability to decompose the waste. Fungi can excrete cellulase enzymes that function to degrade cellulose. Samples taken by random sampling in three places of waste of Cajuput oil industry. Fungi are grown in liquid medium, then isolated and identified in solid media. The results showed that three isolates of fungi was found in waste of Cajuput oil industry and which have potential for decomposer agent were only two isolates ie *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride*.

Keywords: Isolation, identification, fungi, waste, Cajuput oil industry

1. Pendahuluan

Minyak kayu putih merupakan hasil tanaman hutan non kayu yang memiliki nilai ekonomis tinggi, sehingga memiliki potensi untuk dikembangkan. Luas lahan kayu putih di KBPH Sukun yaitu 2.307 ha lahan produktif dan 1.429 ha lahan tidak produktif. Kemampuan panen daun basah 7.720 ton/tahun. Proses produksi minyak kayu putih, selain menghasilkan minyak juga menghasilkan limbah padat berupa sisa ranting dan daun yang telah mengalami proses penyulingan. Pemanfaatan limbah penyulingan selama ini hanya digunakan untuk bahan bakar pabrik yang kebutuhannya hanya sedikit (20%), sedangkan sisanya masih belum dimanfaatkan sehingga jumlahnya semakin hari semakin bertambah banyak (Lukito, 2012).

Limbah penyulingan daun kayu putih yang belum dimanfaatkan akan mengalami kendala yaitu pertama, memerlukan tempat yang luas untuk menampung limbah. Kedua, bahan limbah mudah sekali terbakar, sehingga dapat mengganggu aktivitas

dilingkungan sekitar. Ketiga, limbah yang terdekomposisi kurang sempurna akan menghasilkan CO₂ sehingga mengakibatkan pencemaran lingkungan. Limbah pertanian memiliki potensi untuk dijadikan bahan baku pembuatan pupuk organik, dengan cara ditemukannya fungi yang mampu mendekomposisi bahan tersebut (Amrullah *et al* 2013).

Limbah penyulingan kayu putih memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi bahan baku pembuatan pupuk organik tetapi kelemahannya proses dekomposisi berjalan lambat sehingga perlu waktu lama untuk menjadi pupuk organik. Limbah penyulingan kayu putih banyak mengandung lignoselulosa yang sulit didekomposisi. Agar proses dekomposisi berjalan lebih cepat maka langkah awal yang harus dilakukan adalah menemukan fungi yang memiliki kemampuan dalam menguraikan limbah tersebut. Oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian untuk menentukan jenis fungi yang mampu berkembang dengan baik, sehingga didapat isolate fungi yang dapat mempercepat proses dekomposisi limbah padat tersebut. Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi dan mengidentifikasi fungi yang ada di limbah penyulingan daun kayu putih.

2. Bahan dan Metode

Lokasi pengambilan sampel

Penelitian dilakukan di lahan Industri penyulingan daun kayu putih KPH Sukun di Desa Sidoharjo Kecamatan Pulung, Kabupaten Ponorogo. Lokasi penelitian berada pada $111^{\circ}30'$ – $111^{\circ}36'$ bujur timur dan $7^{\circ}50'$ – $7^{\circ}54'$ lintang selatan. Ketinggian tempat 200 – 350 m diatas permukaan laut. Sampel limbah diambil di lahan pembuangan limbah penyulingan daun kayu putih. Sampel dianalisa di laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Merdeka Ponorogo dan Laboratorium MIPA Universitas Brawijaya Malang. Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret – Juli 2016

Penelitian ini menggunakan bahan sebagai berikut limbah padat Kayu putih, PDA (medium *Potatoes Dextrose Agar*), air bebas ion, CMC (*Carboxil Methil Cellulase*), larutan fisiologis, Kongo red, alkohol 95%. Alat yang digunakan yaitu mikroskop, autoklaf, pH meter, oven, neraca analitis, thermometer, hot plate stirrer, labu Erlenmeyer, gelas ukur, cawan petri, tabung reaksi, spatula, pipet, jarum ose, kaca obyektif, pinset, bunsen dan gunting.

Pengambilan sampel

Sampel diambil berupa limbah pabrik kayu putih. Pengambilan sampel dilakukan pada 3 tempat, dengan metode

random sampling. Sampel limbah sebanyak 250 g diambil dan dimasukkan dalam wadah steril dan diletakan dalam *Cool box*.

Isolasi Fungi

Kultur dalam media pengayaan diambil 1 ml dan diencerkan dengan aquades untuk mendapatkan pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-6} . Cara pengenceran sebagai berikut; mengambil 1 ml dari media pengayaan kemudian dimasukkan dalam wadah yang telah berisi aquades 9 ml sehingga didapatkan pengenceran 10^{-1} . Untuk membuat pengenceran 10^{-2} maka ambil 1 ml dari pengenceran 10^{-1} dan dimasukkan dalam wadah yang berisi 9 ml aquades. Hal yang sama dilakukan sampai mendapatkan pengenceran $10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}$. Kemudian masing-masing pengenceran ditumbuhkan pada medium PDA padat yang ditambah ekstrak limbah. Media diinkubasi selama 24 – 48 jam pada suhu 28 – 30 °C. Peubah pengamatan meliputi bentuk, warna, tepian permukaan dan tekstur koloni (Yosmar *et al*, 2013).

Pemurnian Fungi

Setiap media isolasi dimurnikan dengan cara digoreskan pada medium PDA dalam cawan petri, lalu diinkubasi selama 5 hari pada suhu kamar. Setiap akhir inkubasi dilakukan pengamatan dan apabila kultur belum murni dilakukan cara yang sama sampai kultur benar benar murni. Setelah didapatkan isolat yang murni

maka dilakukan identifikasi berdasarkan makroskopik (Mukaromah *et al*, 2015).

Uji kemampuan degradasi selulosa

Isolat jamur diinokulasikan pada medium PDA dan diinkubasi di suhu ruang selama 24 jam. Setelah isolat jamur tumbuh, permukaan medium ditetesi dengan indikator Kongo red kemudian dibilas dengan NaCl. Selanjutnya, diamati dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk di sekitar koloni (Suryani *et al*, 2012).

Identifikasi fungi secara morfologi

Identifikasi berdasarkan panduan Barnett (1998). Identifikasi fungi dilakukan dengan mengamati beberapa karakter morfologi baik secara makroskopis. Secara makroskopis karakter yang diamati meliputi : warna dan permukaan koloni, tekstur, zonasi, daerah tumbuh, garis-garis radial.

Identifikasi Fungi berdasarkan sekuensing

Isolat jamur diekstrak menggunakan kit DNA, kemudian diuji kualitas ekstrak DNA dengan menggunakan elektroforesis menggunakan 1.5 % agarosa. Sekuen DNA dilakukan dengan menggunakan primer ITS5 (5'GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG3') dan ITS4

(5'TCCTCCGCTTATTGATATGC3') dan reaksi amplifikasi PCR menggunakan suhu 95 °C selama 10 menit, dilanjutkan 95 °C selama 0.25 menit, 55 °C selama 0.5 menit, 72 °C selama 0.25 menit dengan siklus 35 kali, terakhir aplikasi suhu 72 °C selama 7 menit (Schoch *et al*, 2011). Uji hasil PCR menggunakan elektroforesis dengan gel agarosa 1,5%. Hasil sekuensing dianalisis pada *GenBank* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) dengan program MEGA ver.5.03.

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil isolasi jamur

Sampel yang diambil di limbah kayu putih terdapat 3 jenis fungi yang ditumbuhkan dalam media PDA yang diperkaya dengan ekstrak limbah kayu putih. Ketiga isolat jamur tersebut adalah J1, J2 dan J3. Isolat J1, J2 dan J3 mampu hidup pada media yang mengandung ekstrak kayu putih (Gambar 1).

Setelah disekrining dengan menggunakan media yang mengandung selulosa maka yang mampu berkembang adalah isolat J1 dan J2 (Gambar 2).

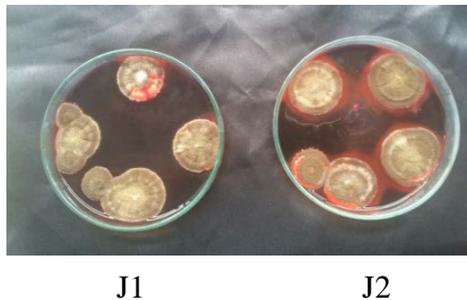
Identifikasi jamur

Berdasarkan ciri ciri makroskopik maka isolat J1 teridentifikasi dari spesies *Aspergillus sp* (Tabel 1). Hasil pengamatan pada penelitian sejalan dengan penelitian Subowo (2013) yang menyatakan bahwa *Aspergillus sp* merupakan jamur

yang mempunyai karakter: koloni berwarna kuning kecoklatan hingga coklat kehitaman, sedangkan secara mikroskopik mempunyai hifa baik bersekat maupun tidak bersekat, konidiofor tidak bercabang yang mempunyai sterigma primer dan sekunder.



Gambar 1. Isolat (I = J1, II=J2, III=J3)



Gambar 2. Uji selulose

Tabel 1. Karakter makroskopik isolat J1 (*Aspergillus sp*) dan J2 (*Trichoderma sp.*)

No	Karakter makroskopik	J1 = <i>Aspergillus sp</i>	J2 = <i>Trichoderma sp</i>
1	Warna koloni	Hijau	Hijau
2	Tepi koloni	Rata	Rata
3	Permukaan koloni	Mendatar	Mendatar
4	Tekstur permukaan koloni	Halus	Halus
5	Titik tumbuh	Cakram	Cakram

Hasil pengamatan pada penelitian sejalan dengan penelitian Subowo (2013) yang menyatakan bahwa *Aspergillus sp* merupakan jamur yang mempunyai ciri-ciri: koloni berwarna putih, kuning, kuning kecoklatan, coklat kehitaman hifa bersekat dan tidak bersekat, konidiofor tidak bercabang, konidium pada ujung stipe, memiliki sterigma primer dan sekunder.

Isolat J2 berdasarkan ciri makroskopik teridentifikasi dari genus *Trichoderma sp.* Ciri-ciri makroskopik *Trichoderma sp* yang diisolasi pada medium PDA ditampilkan pada Tabel 1. Hasil pengamatan pada penelitian ini didukung oleh penelitian Nadhifah (2016) menyatakan bahwa koloni *Trichoderma sp* berwarna putih pada bagian tepi berwarna kuning, kemudian berubah berwarna hijau tua. Hifa berwarna bening transparan dengan diameter 2,5

μm . Konidiofor bercabang, berwarna kehijauan, diameter $5 \mu\text{m}$, dan panjangnya $10 \mu\text{m}$, dinding konidiofor halus. Fialida berwarna kehijauan dengan ukuran $10 \times 3,75 \mu\text{m}$. Konidia berwarna kehijauan, berbentuk subglobose, dengan ukuran $5 \times 2,5 \mu\text{m}$ dan berdinding halus

Berdasarkan analisis sekunsing maka isolate J1 teridentifikasi sebagai *Aspergillus niger* dan J2 teridentifikasi sebagai *Trichoderma viride*. Jamur *Aspergillus niger* pada penelitian ini memiliki ciri yang sama dengan jamur *Aspergillus niger* yang terdapat pada tanaman kakao yaitu koloni berbentuk bulat, tekstur lembut, tepi koloni rata, serta berwarna hitam dan coklat kehitaman (Wulandari *et al.*, 2016). Sedangkan *Trichoderma viride* memiliki ciri yang sama dengan penelitian Suryani *et al.*, (2012) yaitu memiliki tekstur permukaan halus dan berbutir, permukaan koloni mendatar, margin koloni rata, titik tumbuh berbentuk seperti cakram berwarna putih, kuning, hijau muda, dan hijau tua, memiliki lingkaran konsentris.

4. Kesimpulan

Limbah industri kayu putih mengandung fungi yang berperan dalam menguraikan limbah tersebut yaitu *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride*. Jamur yang ditemukan di limbah kayu putih memiliki peran dalam mendegradasi selulosa dan dapat digunakan sebagai agen dekomposer limbah tersebut.

5. Referensi

- Amrullah M , Nawir NH, Abdullah A, Tambaru E. 2013. Isolasi jamur mikroskopik pendegradasi lignin dari beberapa substrat alami. *Jurnal Alam dan Lingkungan*, Vol.4 (7): 19-25
- Barnett, H.L. and B.B. Hunter. 1998. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 4ed. USA: Prentice-Hall, Inc.
- Lukito M. 2012. Model pendugaan biomassa tanaman kayu putih(KASUS BKPH Sukun KPH Madiun). *Jurnal Agri-tek*, 12(2) : 36-48.
- Mukharomah E, Munawar, Widjajanti H. 2015. Identifikasi dan sinergisme kapang lipolitik dari limbah SBE (*spent bleaching earth*) sebagai agen bioremediasi. *Jurnal Ilmu Lingkungan* 13(1) : 19-20
- Nadhifah YM, Hastuti US dan Syamsuri I, 2016.Isolasi, karakterisasi, dan identifikasi mikoflora dari rizosfer tanah pertanian tebu (*saccharum officinarum* l.) sebagai bahan ajar kingdom fungi untuk siswa kelas x sma. *Jurnal Pendidikan: Teori, Penelitian, dan Pengembangan* (1)10 : 2023—2030
- Suryani Y, Andayaningsih P,Hernaman I, 2012. Isolasi dan identifikasi jamur selulolitik pada limbah produksi bioetanol dari singkong yang berpotensi dalam pengolahan limbah menjadi pakan domba. *Jurnal ISTEK* (7)1 : 1-10

- Subowo, YB. 2013. Kemampuan beberapa jamur tanah dalam menguraikan pestisida deltametrin dan senyawa lignoselulosa. *Berita Biologi* 12(2): 231-238
- Schoch, C. L., K. A. Selfert., S.Huhndorf., V. Robert., J. L. Spouge., dan C. A. Levesque. 2011. Nuclear Ribosomal Internal Transcribed Spacer (ITS) Region as a Universal DNA Barcode Marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 109(16):1-6.
- Wulandari DE , Asrul, Lakani I. 2016. Seleksi jamur antagonis *aspergillus niger* dari beberapa lahan perkebunan kakao untuk mengendalikan *Phytophthora palmivora*. *J. Agroland* 23 (3) : 233 – 242
- Yosmar R, Suharti N, dan Rasyid R. 2013. Isolasi dan Uji Kualitatif Hidrolisat Jamur Penghasil Enzim Selulase dari Tanah Tumpukan Ampas Tebu. *Jurnal Farmasi Andalas* 1 (1): 5-12.