

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Lakase dengan kode enzim EC 1.10.3.2 merupakan enzim multi-tembaga oksidoreduktase yang memiliki kemampuan untuk mengoksidasi berbagai senyawa aromatik dan non aromatik termasuk fenol, polifenol, anilin, dan senyawa anorganik tertentu melalui mekanisme transfer satu elektron. Lakase mengkatalisis oksidasi berbagai macam senyawa fenol dan substrat lain bersamaan dengan reduksi molekul oksigen menjadi air (Ningsih *et al.*, 2020). Pada beberapa penelitian, lakase digunakan sebagai enzim yang dapat mengurai senyawa xenobiotik, mengubah antibiotik dan steroid, detoksifikasi air, menghilangkan lignin dari pulp, dan mendegradasi pewarna limbah cair (Anita *et al.*, 2024). Lakase telah banyak digunakan dalam bidang industri seperti industri tekstil, pulp, kertas, makanan, kosmetik dan farmasi. Lakase tersebar luas di tumbuhan tingkat tinggi seperti pir, lobak, kubis, apel, kentang dan asparagus (Dana *et al.*, 2017), serangga seperti *Anopheles*, *Apis*, *Bombyx*, *Calliphora*, *Diploptera*, *Drosophila* dan *Lucilia* (Janusz *et al.*, 2020), bakteri seperti *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Thermus thermophilus*, *Sinorhizobium meliloti* dan jamur seperti *Trametes*, *Pleurotus*, *Lentinula*, *Pycnoporus*, *Phanerochaete* dan *Agaricus* (Bertrand *et al.*, 2013). Lakase yang dihasilkan oleh mikroorganisme seperti bakteri dan jamur lebih mudah

untuk diperoleh karena enzim tersebut disekresikan ke medium pertumbuhannya (Anita *et al.*, 2024).

Trametes hirsuta merupakan jenis jamur pelapuk yang dapat ditemukan pada kayu mati atau akar pepohonan yang meranggas. Jamur *Trametes hirsuta* diketahui merupakan agen dekolonisasi pewarna karena kemampuannya dalam menghasilkan enzim lakase (Anita *et al.*, 2022a). Penelitian ini menggunakan salah satu isolat jamur pelapuk putih, yaitu *Trametes hirsuta* EDN 082 yang dapat menghasilkan enzim lakase. Produksi lakase dari mikroorganisme, terutama jamur, umumnya diproduksi menggunakan metode fermentasi padat (SSF) dengan memanfaatkan substrat lignoselulosa seperti tandan kosong kelapa sawit (TKKS), bambu, ampas tebu, sorgum dan kayu jabon (Ningsih *et al.*, 2020). Metode fermentasi padat (SSF) dapat meningkatkan stabilitas dan produktivitas enzim sekaligus meminimalkan biaya dan dampak lingkungan (Wang *et al.*, 2019). TKKS direkomendasikan sebagai substrat untuk pertumbuhan mikroba karena mengandung selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang tinggi. TKKS diketahui dapat merangsang sekresi enzim ligninolitik oleh *T. versicolor* U97 selama degradasi DDT. Selain itu, biomassa lignoselulosa merupakan kandidat yang baik untuk produksi lakase melalui fermentasi padat karena memiliki fungsi sebagai pendukung dan sumber nutrisi (Ningsih, *et al.*, 2020).

Pemurnian dan karakterisasi lakase sangat penting untuk meningkatkan potensi aplikasinya di berbagai industri, termasuk makanan, farmasi, dan

bioremediasi lingkungan. Pemurnian enzim lakase penting untuk menghilangkan pengotor, memaksimalkan kemampuan enzim untuk mengkatalisis reaksi oksidasi gugus fenolik, sehingga meningkatkan aktivitas spesifik dan efektivitasnya untuk berbagai aplikasi industri. Pemurnian enzim lakase dapat dilakukan dengan pengendapan ammonium sulfat, fraksinasi dengan kromatografi kolom (Yuliana *et al.*, 2022) dan ultrafiltrasi (Japonika, 2015). Sedangkan karakterisasi penting untuk memperoleh kondisi optimal pada aktivitas enzim agar memudahkan aplikasi enzim. Karakterisasi enzim lakase dapat dilakukan dengan menentukan pH dan suhu optimum, inhibitor, reaksi kinetik, dan bobot molekul enzim (Asih, 2016).

Streptococcus mutans merupakan salah satu bakteri oral yang menjadi penyebab adanya plak gigi dan karies yang merupakan penyakit infeksi bakteri yang terjadi pada jaringan keras gigi dan memiliki kasus tertinggi di antara semua penyakit mulut (Lu *et al.*, 2019). Sedangkan *Lactobacillus* adalah mikroorganisme pertama yang diketahui berkaitan dengan perkembangan karies gigi. *Lactobacillus* terdapat dalam jumlah besar pada air liur, lidah, mukosa, langit-langit mulut, plak gigi, dan dalam jumlah kecil pada permukaan gigi (Ahirwar *et al.*, 2019). *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri yang memfermentasi gula dan menghasilkan asam laktat dalam jumlah besar penyebab karies pada gigi (Lu *et al.*, 2019).

Saat ini, sebagian besar pasta gigi yang berada di pasaran banyak mengandung *Sodium Lauryl Sulphate* (SLS). SLS pada pasta gigi dan cairan

pencuci mulut dapat memberikan efek pembersihan yang efektif dan menghasilkan sensasi kesegaran selama perawatan rutin kesehatan mulut. Namun, adanya SLS dapat menyebabkan gangguan pada lingkungan mikroba alami mulut dan berpotensi meningkatkan risiko iritasi pada mulut. Hal tersebut, karena SLS mengambil minyak dan kelembaban pada permukaan yang dikenainya (Dewi, 2013). Untuk mengatasi permasalahan penyakit gigi dan mulut secara selektif, maka perlu dicarikan alternatif bahan alami sebagai bahan pengganti SLS seperti enzim.

Enzim lakase diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli* (Anita *et al.*, 2024). Enzim lakase dari jamur tersebut juga telah digunakan dalam formulasi penyanitasi tangan dan dapat mengurangi jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada tangan (Anita *et al.*, 2022). Akan tetapi enzim lakase yang digunakan masih dalam bentuk ekstrak kasar. Enzim ekstrak kasar cenderung memiliki aktivitas yang rendah dan kurang stabil selama penyimpanan. Kekurangan lainnya yaitu karena aktivitasnya rendah sehingga akan membutuhkan enzim dalam jumlah yang banyak apabila diaplikasikan. Adanya pengotor pada enzim ekstrak kasar juga akan berpengaruh pada warna produk yang dihasilkan. Selain itu, enzim lakase yang dihasilkan oleh jamur *Trametes hirsuta* EDN 082 juga belum diketahui kemampuannya sebagai agen antibakteri terhadap bakteri oral seperti *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus*.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil pemurnian enzim lakase dari jamur pelapuk putih *Trametes hirsuta* EDN 082, karakteristik enzim lakase dan berat molekul proteinnya setelah proses pemurnian enzim serta untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus*. Pemurnian enzim lakase dilakukan dengan pengendapan amonium sulfat, pemurnian dengan membran ultrafiltrasi serta kromatografi penukar ion. Karakterisasi enzim lakase dilakukan secara *in vitro* yang meliputi pengujian stabilitas enzim pada variasi pH, dan suhu. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan secara *in vitro* dengan metode uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) enzim lakase terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus*.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Bagaimana hasil pemurnian enzim lakase dari jamur pelapuk putih *Trametes hirsuta* EDN 082?
- 1.2.2 Bagaimana karakteristik enzim lakase yang dihasilkan oleh jamur *Trametes hirsuta* EDN 082 setelah proses pemurnian enzim?
- 1.2.3 Berapakah berat molekul protein yang dihasilkan enzim lakase setelah proses pemurnian?

- 1.2.4 Berapakah hasil uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) secara *in vitro* enzim lakase terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus*?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mengetahui hasil pemurnian enzim lakase dari jamur pelapuk putih *Trametes hirsuta* EDN 082.
- 1.3.2 Mengetahui karakteristik enzim lakase yang dihasilkan oleh isolat jamur *Trametes hirsuta* EDN 082 setelah proses pemurnian.
- 1.3.3 Mengetahui berat molekul protein yang dihasilkan enzim lakase setelah proses pemurnian.
- 1.3.4 Mengetahui hasil uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) secara *in vitro* enzim lakase terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus*.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai potensi enzim lakase dari isolat jamur *Trametes hirsuta* EDN 082 sebagai bahan yang memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus*.