

**EFISIENSI PEROMBAKAN ZAT WARNA TEKSTIL GOLONGAN AZO MENGGUNAKAN JAMUR PENDEGRADASI KAYU ISOLAT LOKAL BULELENG**I Dewa Ketut Sastrawidana<sup>1)</sup>, I Nyoman Selamat<sup>1)</sup>, I Nyoman Sukarta<sup>2)</sup><sup>1)</sup> Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA Undiksha<sup>2)</sup> Jurusan Analisis Kimia FMIPA Undiksha

Jl. Udayana Singaraja-Bali. e-mail : idewasastra@yahoo.com

**Abstrak**

Jamur pendegradasi kayu penghasil enzim ligninolitik yaitu laccase, mangan peroksidase (MnP) dan lignin peroksidase (LiP) merupakan salah satu organisme potensial digunakan untuk merombak lignin, senyawa fenolik dan senyawa-senyawa aromatik polisiklik termasuk zat warna azo. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas enzim ligninolitik dari dua jenis jamur pendegradasi kayu Isolat Lokal Buleleng yaitu *Ganoderma* sp dan *Polyporus* sp ILB1 serta mengkaji efisiensi perombakan zat warna azo oleh kedua jamur tersebut. Tahapan penelitian dimulai dari menumbuhkan jamur *Ganoderma* sp dan *Polyporus* sp.ILB1 pada media PDA yang berisi *chloramphenicol* sebagai senyawa anti bakteri selama 3 hari. Miselium dari kedua jamur tersebut masing-masing ditransfer secara aseptik ke dalam media Czapek cair menggunakan Erlenmeyer ukuran 250 mL. Stok kultur ini digunakan untuk memproduksi enzim ligninolitik. Enzim ligninolitik diproduksi menggunakan metode *submerged fermentation* dengan waktu inkubasi 7 hari, dilanjutkan dengan uji kualitatif dan kuantitatif terhadap enzim ligninolitik yang meliputi laccase, mangan peroksidase dan lignin peroksidase. Uji perombakan zat warna azo menggunakan jamur *Ganoderma* sp dan *Polyporus* sp. dilakukan secara kualitatif pada media agar menggunakan cawan petri dan kuantitatif dengan teknik *batch* menggunakan erlenmeyer. Zat warna tekstil yang digunakan adalah zat warna monoazo yaitu remazol red 198 dan diazo remazol black B. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas enzim laccase, mangan peroksidase dan lignin peroksidase dari jamur *Ganoderma* sp. secara berturut-turut sebesar 11,46 U/mL, 13,28 U/mL dan 4,17 U/mL sedangkan aktivitas enzim dari jamur *Polyporus* sp.ILB1 adalah 10,28 U/mL, 21,72 U/mL dan 3,72 U/mL. Efisiensi perombakan 50 mg/L zat warna remazol red 198 dan 50 mg/L remazol black B dengan teknik *batch* pada pH 5 selama 7 hari inkubasi menggunakan jamur *Ganoderma* sp. adalah 79,26% dan 77,15% sedangkan menggunakan jamur *Polyporus* sp.ILB1 adalah 80,25% dan 79,77%.

Kata Kunci: Jamur pendegradasi kayu, zat warna azo, aktivitas enzim ligninolitik, efisiensi perombakan

**PENDAHULUAN**

Industri tekstil menjadi salah satu penyebab terjadinya pencemaran lingkungan terutama pencemaran air. Akar permasalahannya adalah ketidakmampuan pelaku industri terutama skala kecil dan menengah untuk mendirikan instalasi pengolahan air limbah yang memadai. Selain itu, pengolahan limbah cair industri tekstil dengan cara kimia dan fisika yang ada saat ini memerlukan biaya yang tinggi sehingga belum sepenuhnya bisa diaplikasikan pada skala lapang (Pandey *et al.* 2007). Untuk menanggulangi pencemaran lingkungan dari limbah tekstil ini maka sangat perlu dilakukan pengkajian secara intensif tentang penelusuran metode perombakan limbah tekstil yang efektif dan efisien. Salah satu metode inovatif yang prospektif untuk dikaji adalah perombakan menggunakan mikroorganisme. Keunggulan penggunaan mikroba untuk pengolahan limbah tekstil dibandingkan cara fisika dan kimia yaitu (a) operasional lebih mudah, (b) *low cost*, (c) dapat digunakan secara berulang manakala menggunakan mikroba teramobil dan (d) ramah lingkungan (Banat *et al.* 1996).

Zat warna azo dengan struktur benzen yang mempunyai paling sedikit satu ikatan rangkap N (N=N) merupakan salah satu zat warna yang umum digunakan sebagai

pewarna tekstil. Penggunaan zat warna azo sebagai pewarna tekstil sangat berdampak negatif terhadap lingkungan terutama menimbulkan pencemaran air. Dampak negatif ini muncul baik secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung karena zat warna azo bersifat toksik sehingga berbahaya bagi kehidupan organisme akuatik sedangkan secara tidak langsung mengganggu ketersediaan oksigen di perairan. Hampir sebesar 25% dari zat warna azo yang digunakan untuk mencelup kain akan terbuang sebagai limbah cair (Blackburn dan Burkinshaw, 2002). Dalam air, zat warna azo bersifat stabil sehingga terakumulasi pada perairan. Perairan yang berwarna akan menghambat penetrasi sinar matahari masuk ke dalam air sehingga terganggunya aktivitas fotosintesis dari mikroalga. Dampak lanjutannya adalah terjadinya kondisi anoksik-anaerob dalam perairan, menurunnya biodiversitas pada sistem akuatik. Disamping itu, zat warna azo dalam sedimen mengalami perombakan secara anaerob menghasilkan senyawa amina aromatik yang bersifat lebih toksik dibandingkan dengan zat warna azo itu sendiri (Pandey *et al.* 2007).

Salah satu mikroba yang banyak dikaji dan potensial dikembangkan untuk merombak zat warna tekstil golongan azo adalah jamur

pendegradasi kayu. Beberapa jenis jamur pendegradasi kayu dilaporkan sangat efektif merombak zat warna azo yaitu *Phanerochaete chrysosporium* (Capalash and Sharma, 1992), *Trametes versicolor*, *Bjerkandera adusta*, *Irpex lacteus*, and *Hypoxylon fragiforme* (Adosindo et al. 2003), *Bjerkandera adusta* (Mohorcic et al. 2004), *Trametes villosa* dan *Trametes pycnoporus* (Machado et al.2006) dan *Coriolus versicolor* (Nasreen et al. 2007). Kemampuan jamur pendegradasi kayu merombak zat warna tekstil tidak terlepas dari peran enzim ligninolitik ekstraseluler. Enzim ligninolitik yang dihasilkan antara lain mangan peroksidase (MnP), lignin peroksidase (LiP) dan laccase (Yesiladali et al. 2006). Enzim ligninolitik ini pada dasarnya mengkatalisis oksidasi senyawa organik aromatik, senyawa fenolik dan senyawa aromatik polisiklik termasuk zat warna tekstil. Pada prinsipnya, perombakan senyawa aromatik termasuk zat warna azo oleh ketiga enzim ligninolitik diawali dari oksidasi enzim laccase oleh adanya oksigen, oksidasi lignin peroksidase dan mangan peroksidase oleh peroksida menghasilkan enzim ligninolitik dalam keadaan teroksidasi. Selanjutnya, enzim ligninolitik dalam keadaan teroksidasi mengoksidasi senyawa aromatik maupun zat warna tekstil (Christian et al. 2005).

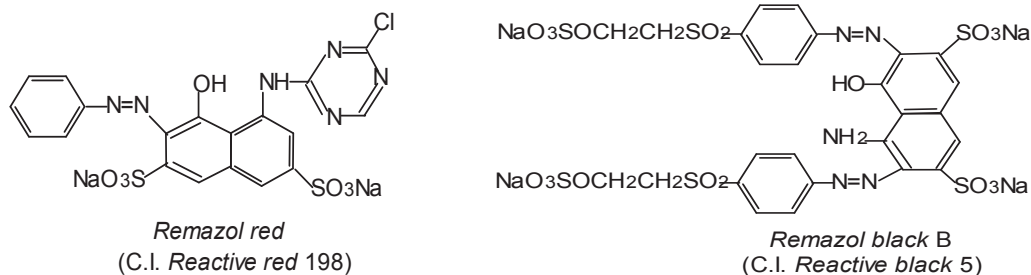
Proses perombakan zat warna azo menggunakan jamur pada dasarnya meru-

upakan proses enzimatik sehingga efisiensi perombakannya sangat ditentukan oleh jumlah enzim. Jumlah enzim ligninolitik yang dihasilkan oleh jamur pendegradasi kayu sangat bergantung pada jenis jamur, cara memproduksi enzim dan faktor lingkungan. Dengan demikian, pada penelitian ini mengkaji perombakan zat warna tekstil golongan azo menggunakan dua jenis jamur pendegradasi kayu Isolat Lokal Buleleng yaitu *Ganoderma* sp. dan *Polyporus* sp.ILB1.

### Metodologi Eksperimen

Jamur pendegradasi kayu yang digunakan adalah *Ganoderma* sp. dan *Polyporus* sp.ILB1. yang diperoleh dari daerah perkebunan di Desa Gitgit Kabupaten Buleleng. Objek yang dikaji adalah aktivitas enzim ligninolitik yang diproduksi menggunakan metode *submerged fermentation* (SmF) dan efisiensi perombakan zat warna tekstil dengan menggunakan jamur pendegradasi kayu. Zat warna tekstil yang dirombak adalah zat warna monoazo remazol red 198 dan zat warna diazo remazol black B. Struktur kimia dari kedua zat warna tersebut disajikan pada Gambar 1. Data penelitian terdiri dari data kualitatif tentang pemudaran warna zat warna tekstil pada media agar dan data kuantitatif tentang aktivitas enzim ligninolitik serta efisiensi perombakan zat warna tekstil

Miselium dari jamur *Ganoderma* sp dan



Gambar 1. Struktur kimia zat warna tekstil *remazol red* dan *remazol black*

### Peremajaan Kultur Jamur Pada Media Agar

Jamur *Ganoderma* sp. dan *Polyporus* sp.ILB1 ditumbuhkan pada media PDA selama 3 hari menggunakan cawan petri. Dalam 1 liter media PDA tersebut terdiri dari 200 gram kentang, 20 gram dekstrosa dan 20 gram agar serta ditambahkan 1 gram *chloramphenicol* untuk mencegah adanya pertumbuhan bakteri. Media PDA sebelumnya disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

### Perbanyak Kultur Jamur Pada Media Cair

PDA masing-masing ditransfer secara aseptik ke dalam erlenmeyer ukuran 250 mL berisi 50 mL media *Czapek* cair yang telah disterilisasi. Dalam 1 liter media *Czapek* cair mengandung nutien 30 g Sukrosa, 3 g NaNO<sub>3</sub>, 0,5 g KCl, 0,5 g MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, 0,01 g FeSO<sub>4</sub> 7 H<sub>2</sub>O dan 1 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Selanjutnya, dikondisikan pada pH 5 dan diinkubasi selama 7 hari sambil di gojog menggunakan *shaker*

### Produksi Enzim Ligninolitik

Produksi enzim lignolitik dilakukan dengan metode *Submerged Fermentation* (SmF)

seperti yang telah dikakukan oleh Gupte *et al.* (2007) termodifikasi, yaitu dengan cara mentransfer miselium jamur pendegradasi kayu ke dalam erlenmeyer ukuran 250 mL yang telah berisi 100 mL media *Czapek* cair. Campuran tersebut diinkubasi selama 7 hari selanjutnya disentrifugasi pada 4000 rpm selama 15 menit. Supernatan diuji secara kualitatif terhadap enzim ligninolitiknya dan diuji kuantitatif terhadap aktivitas enzimnya.

#### Uji Kualitatif dan Uji Aktifitas Enzim Ligninolitik.

Uji kualitatif enzim lignin peroksidase (LiP) dilakukan dengan cara sebagai berikut: Sebanyak 0,5 mL filtrat ditambahkan 0,05 mL  $H_2O_2$  10 mmol/L, 0,375 mL kalsium tartrate (pH= 4), 0,5 mL air distilasi dan 4,0 mmol/L *veratryl alcohol*. Uji positif terhadap LiP ditandai adanya perubahan warna dari kuning tua menjadi kuning muda kecoklatan. Selanjutnya uji aktivitas LiP dilakukan dengan cara mengukur absorbansi campuran tersebut dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 310 nm. Satu unit LiP setara dengan jumlah enzim yang mengoksidasi 1mmol *veratryl alcohol* per menit per mililiter filtrat.

Uji kualitatif enzim mangan peroksidase (MnP) dengan cara sebagai berikut : Sebanyak 0,5 mL filtrat ditambahkan 0,1 mL natrium laktat 0,25 mol/L, 0,05 mL  $MnSO_4$  2 mol/L, 0,05 mL  $H_2O_2$  2,0 mmol/L dan 0,1 mL *phenol red* 0,1%. Uji positif terhadap MnP ditandai dengan adanya perubahan warna dari kuning tua menjadi coklat kekuningan kecoklatan. Selanjutnya uji aktivitas dilakukan dengan cara mengukur absorbansi campuran tersebut dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 610 nm. Satu unit MnP setara dengan jumlah enzim yang mengoksidasi 1 mmol *phenol red* per menit per mililiter filtrat

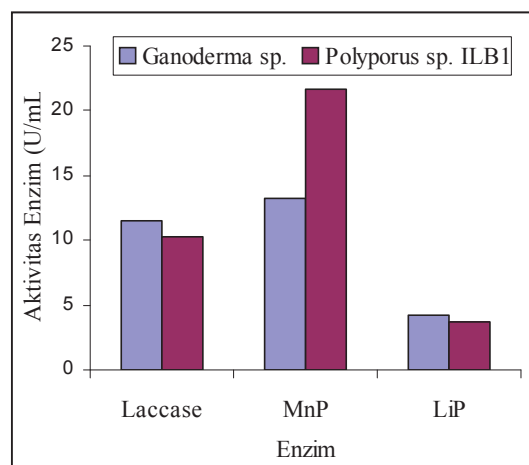
Uji kualitatif laccase dengan cara sebagai berikut: Sebanyak 0,5 mL filtrat ditambahkan 0,3 mL buffer sitrat-fosfat (pH= 5) dan 0,1 mL ABTS konsentrasi 50 mmol/L. Uji positif terhadap laccase ditandai terjadinya perubahan warna dari kuning menjadi hijau. Sedangkan uji aktivitas laccase dilakukan dengan mengukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 420 nm. Satu unit laccase setara dengan jumlah enzim yang diperlukan untuk mengoksidasi 1 mmol ABTS per menit per mililiter filtrate.

#### Efisiensi Perombakan Zat Warna Azo Menggunakan Jamur Pendegradasi kayu

Sebanyak 100 mL media tumbuh dimasukkan ke dalam erlenmeyer ukuran 250 mL dan ditambahkan zat warna tekstil dengan konsentrasi 50 mg/L. Campuran dikondisikan pada pH 5 dengan cara menambahkan larutan HCl. Sebanyak 2 mL suspensi kultur jamur pendegradasi kayu ditambahkan ke dalam erlenmeyer selanjutnya ditutup dengan kapas steril dan diinkubasi selama 7 hari sambil digojog menggunakan *shaker*. Setelah 7 hari, Cairan disentrifugasi pada 4000 rpm selama 30 menit kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517,5 nm untuk remazol red 198 dan 598 nm untuk remazol black B.

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Enzim ligninolitik dari jamur *Ganoderma* sp. dan *Polyporus* sp.ILB1 diproduksi dengan menggunakan metode *submerged fermentation* (SmF) pada media *Czapek* cair selama 7 hari inkubasi. Pengamatan kualitatif terhadap perubahan warna enzim ligninolitik setelah ditambahkan substrat 2,2-Azinobis-(3-ethylbenzthiozoline sulfonic acid) ABTS untuk uji laccase, *phenol red* untuk uji MnP dan *veratryl alkohol* untuk uji LiP menunjukkan uji positif. Hal ini berarti kedua jamur pendegradasi kayu mampu menghasilkan enzim ligninolitik ekstraseluler. Enzim laccase, mangan peroksidase (MnP) dan lignin peroksidase (LiP) yang dihasilkan selanjutnya ditentukan aktivitas enzimnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan hasilnya disajikan pada Gambar 2.

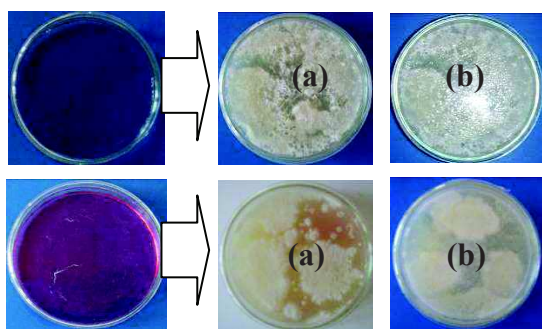


Gambar 2. Aktivitas Enzim Laccase, MnP dan LiP

Gambar 2 menunjukkan aktivitas laccase yang dihasilkan oleh jamur *Ganoderma* sp dan *Polyporus* sp.ILB1 masing-masing 11,46 U/mL dan 10,28 U/mL.

Uji aktivitas ini ditentukan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 420 nm menggunakan ABTS sebagai substrat ( $\epsilon=29300 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ). Sedangkan aktivitas enzim MnP dari kedua jamur tersebut yang diukur pada panjang gelombang 610 nm menggunakan substrat *phenol red* ( $\epsilon=22000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) menghasilkan aktivitas enzim sebesar 13,28 U/mL dan 21,72 U/mL Aktivitas enzim LiP yang diukur pada panjang gelombang 310 nm menggunakan substrat *veratryl alkohol* ( $\epsilon=93000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) masing-masing sebesar 4,17 U/mL dan 3,72 U/mL.

Uji perombakan secara kualitatif terhadap zat warna azo remazol black B dan remazol red RB oleh jamur *Ganoderma* sp. dan *Polyporus* sp.ILB1 pada media agar selama 5 hari inkubasi disajikan pada Gambar 3.

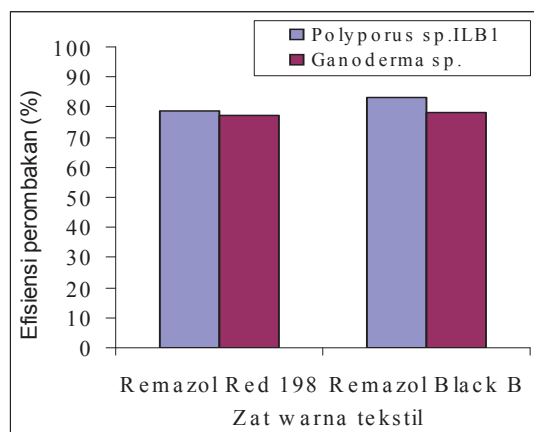


Gambar 3. Perombakan Remazol Black B dan Remazol Red 198 oleh Jamur Pendegradasi Kayu pada Media Agar selama 5 hari inkubasi. (a) *Ganoderma* sp. dan (b) *Polyporus* sp.ILB1

Gambar 3 memperlihatkan terjadinya pemudaran warna dari zat warna remazol red 198 dan remazol black B pada media agar setelah dirombak oleh jamur jamur pendegradasi kayu *Ganoderma* sp. dan *Polyporus* sp.ILB1 selama 5 hari inkubasi. Pudarnya warna juga mengindikasikan bahwa kedua jamur tersebut menghasilkan enzim ligninolitik ekstraseluler (laccase, MnP dan LiP) yang mampu merombak zat warna azo. Untuk mengetahui efisiensi perombakan zat warna yang dihasilkan, maka dilakukan pengujian secara kuantitatif dengan teknik *batch* dan hasilnya disajikan pada Gambar 4.

Gambar 4 menunjukkan efisiensi perombakan 50 mg/L zat warna remazol red 198 dan remazol black B dengan teknik *batch* pada pH 5 selama 7 hari inkubasi menggunakan jamur *Ganoderma* sp. adalah 79,26% dan 77,15%, sedangkan dengan jamur *Polyporus* sp, adalah 80,25% dan 79,77%. Hasil ini menunjukkan jamur *Polyporus* sp.ILB1 menghasilkan efisiensi perombakan lebih

tinggi dibandingkan dengan jamur *Ganoderma* sp. Hal ini disebabkan oleh perbedaan aktivitas enzim ligninolitik yang dihasilkan oleh kedua jenis jamur tersebut. Salah satu faktor keberhasilan perombakan zat warna menggunakan enzim adalah ketersediaan enzim yang memadai. Pada umumnya jumlah (aktivitas) enzim yang lebih besar akan menghasilkan efisiensi perombakan yang tinggi. Dari hasil perombakan juga memperlihatkan bahwa enzim ligninolitik yang dihasilkan berspektrum luas, artinya mampu merombak berbagai macam zat warna azo walaupun mempunyai struktur yang berbeda-beda (mono azo dan diazo). Meskipun enzim ligninolitik dari jamur pendegradasi kayu mampu merombak zat warna mono azo dan diazo, namun ada sedikit perbedaan efisiensi perombakan yang



Gambar 4. Efisiensi perombakan zat warna remazol red RB dan remazol black B.

dihasilkan. Zat warna remazol red 198 yang termazuk monoazo sedikit lebih mudah dirombak dibandingkan remazol black B yang merupakan diazo. Perbedaan efisiensi kemungkinan disebabkan oleh perbedaan struktur diantara kedua zat warna dan jumlah azo yang terikat pada zat warna tersebut. Hasil kajian yang dilakukan oleh Pearce *et al.* (2003), melaporkan bahwa kemudahan zat warna azo mengalami perombakan secara biologi dipengaruhi oleh strukturnya dan jumlah ikatan azo yang terdapat pada zat warna. Zat warna azo dengan struktur sederhana dengan berat molekul kecil lebih mudah dirombak dibandingkan dengan zat warna azo yang mempunyai struktur lebih kompleks dan mempunyai ikatan azo lebih banyak (poliazo).

## SIMPULAN

Jamur pendegradasi kayu Isolat Lokal Buleleng *Ganoderma* sp. dan *Polyporus*

sp.ILB1 penghasil enzim ligninolitik yang potensial digunakan untuk merombak zat warna tekstil golongan azo. Produksi enzim ligninolitik dengan metode *Submerged Fermentation* selama 7 hari inkubasi menghasilkan aktivitas enzim laccase, mangan peroksidase dan lignin peroksidase dari jamur *Ganoderma* sp. secara berturut-turut sebesar 11,46 U/mL, 13,28 U/mL dan 4,17 U/mL sedangkan aktivitas enzim dari jamur *Polyporus* sp.ILB1 adalah 10,28 U/mL, 21,72 U/mL dan 3,72 U/mL.

Efisiensi perombakan masing-masing 50 mg/L zat warna remazol red 198 dan remazol black B dengan teknik *batch* pada pH 5 selama 7 hari inkubasi menggunakan jamur *Ganoderma* sp. adalah 79,26% dan 77,15% sedangkan efisiensi perombakan menggunakan jamur *Polyporus* sp.ILB1 adalah 80,25% dan 79,77%.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Adosinda, M., M. Martins, N. Lima, Armando, J.D. Silvestre dan M.J. Queiroz. 2003. Comparative Studies of Fungal Degradation of Single or Mixed Bioaccessible Reactive Azo Dyes. *Chemosphere* 52: 967–973
- Banat, I.M., P. Nigam, D. Singh dan R. Marchant. 1996. Microbial Decolourization of Textile Dye Containing Effluents [Review]. *Bioresource Technology*. 58:217-227
- Blackburn, R.S dan S.M. Burkinshaw. 2002. A Greener to Cotton Dyeing With Excellent Wash Fastness. *Green Chem*. 4:47-52
- Capalash, N dan P. Sharma. 1992. Biodegradation of Textile Azo Dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. *Microbiol Biotechnol*. 8: 309-312.
- Christian, V., R. Shrivastava, D. Shukla, H.A. Modi dan B.R.M. Vyas. 2005. Degradation Xenobiotic Compounds by Lignin-Degrading White-rot fungi: Enzymology and Mechanism Involved. *Indian Journal of Experimental Biology*. 43:301-312
- Gupte, A., S. Gupte dan H. Patel. 2007. Ligninolytic Enzyme Production Under Solid-State Fermentation by White Rot Fungi. *Journal of Scientific & Industrial Research*.66: 611-614
- Machado, K.M.G., L.C.A. Compart, R.O. Morais, L.H. Rosa dan M.H. Santos. 2006. Biodegradation of Reactive Textile Dyes by Basidiomycetous Fungi From Brazilian Ecosystems. *Brazilian J Microbiol*. 37:481-487.
- Mohorcic, M., J. Friedrich dan P. Pavko. 2004. Decoloration of Diazo Dye Reactive Black 5 by Immobilised *Bjerkandera adusta* in a Stirred Tank Bioreactor. *Acta Chim. Slov*. 51: 619–628
- Nasreen, Z., R. Bajwa dan T. Kusar. 2007. Decolorization of Textile Dyes and Their Effluents Using *White rot fungi*. *Mycopath* 5(1): 49-52.
- Pandey, A., P. Singh dan L. Iyengar. 2007. Bacterial Decolorization and Degradation of Azo Dyes. *International Biodeteoration and Biodegradation*. 59:73-84
- Pearce, A.P., J.R. Liod dan J.T. Guthrie. 2003. The Removal of Colour from Textile Wastewater Using Whole Bacterial Cells [review]. *Dyes Pigment*. 58:179-196.
- Yesiladali, S.K, G.L Pekin, H Bermek, I.A. Alaton, D. Orhon dan C. Tamerler. 2006. Bioremediation of Textile Azo Dyes by *Trichophyton rubrum* LSK-27. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 22:1027–1031

#### TANYA JAWAB

Penanya : Florentina Maria Titin S (UPI).

#### Pertanyaan:

Peran bakteri dalam mendegradasi zat warna? Produk yang dihasilkan berbahaya atau tidak ?

#### Jawaban :

Penelitian ini melakukan perombakan zat warna tekstil menggunakan jamur bukan bakteri. Proses perombakannya melalui proses oksidasi zat warna azo menjadi produk yang tak toksik. Enzim yang berperan laccase MnP. LIP