

Potensi Isolat Kapang Koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Biologi ITS Dalam Mendegradasi Pewarna Azo Orange II

Aprilia Fitriana dan Nengah Dwianita Kuswytasari
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)
Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia
E-mail: kuswytasari@bio.its.ac.id

Abstrak—Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah isolat kapang koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Biologi ITS berpotensi dalam mendegradasi pewarna azo jenis Orange II. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan menumbuhkan isolat kapang pada Medium Basal Agar yang mengandung 100 ppm Orange II. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ke 37 isolat kapang yang digunakan berpotensi dalam mendegradasi Orange II. Semua isolat kapang dapat tumbuh dengan baik pada medium tersebut dan menunjukkan aktivitas degradasi dengan berubahnya warna medium. Isolat yang menunjukkan skoring perubahan warna tertinggi adalah *Gliomastix* sp. (LM 1020).

Kata Kunci—Isolat kapang, Orange II, perubahan warna, degradasi

I. PENDAHULUAN

Salah satu limbah industri yang menjadi kontributor utama penyebab pencemaran air adalah limbah zat warna yang dihasilkan dari proses pencelupan pada suatu industri tekstil. Zat warna yang paling banyak digunakan dalam industri tekstil adalah zat warna azo. Diketahui terdapat 3000 jenis zat warna azo yang digunakan dalam berbagai keperluan industri terutama di industri tekstil, salah satunya adalah zat warna azo jenis Orange II yang memiliki gugus aktif sulfonat [1]. Zat warna azo disintesis untuk tidak mudah rusak oleh perlakuan kimia maupun perlakuan fisika. Sehingga bila dibuang ke perairan, akan mengganggu estetika dan meracuni biota air di dalam badan air tersebut. Limbah zat warna menyebabkan berkurangnya oksigen yang dihasilkan selama proses fotosintesis akibat terhalangnya sinar matahari untuk masuk ke dalam badan air akibat keberadaan limbah zat warna. Selain itu, perombakan zat warna azo secara anaerobik pada dasar perairan menghasilkan senyawa amina aromatik yang kemungkinan lebih toksik dibandingkan dengan zat warna azo itu sendiri [2].

Untuk menangani masalah di atas, maka penggunaan mikroorganisme untuk mengolah limbah tekstil sangat berpotensi untuk dikembangkan karena limbah tekstil dengan kandungan bahan organik yang tinggi dapat dimanfaatkan secara langsung maupun tidak langsung oleh mikroorganisme sebagai nutrisi untuk pertumbuhannya. Akan tetapi tidak semua mikroorganisme mampu merombak zat warna tekstil. Mikroorganisme yang banyak dikaji dan potensial

dikembangkan adalah bakteri dan kapang. Kelemahan perombakan menggunakan bakteri adalah bekerja pada substrat yang spesifik, sehingga aktivitasnya pada spektrum yang spesifik [2]. Sedangkan kapang dapat tumbuh pada lingkungan yang mengandung bahan organik yang sangat tinggi seperti zat warna azo, yang mungkin justru dapat menghambat tumbuhnya bakteri karena tidak dapat memanfaatkan sebagai nutrisi secara langsung. Kapang juga dapat tumbuh pada lingkungan yang lebih asam dibandingkan dengan mikroorganisme yang lainnya [3].

Kapang sangat efektif digunakan merombak senyawa xenobiotik termasuk zat warna azo. Kemampuan kapang merombak zat warna tekstil disebabkan enzim ligninase ekstraseluler seperti mangan peroksidase, lignin peroksidase dan lakase [4]. Potensi strategis penggunaan enzim ligninase ini adalah proses perombakannya sampai pada mineralisasi menghasilkan zat tidak toksik, bersifat nonspesifik, sehingga aktivitasnya pada spektrum luas [5].

II. METODE PENELITIAN

A. Tahap Persiapan

Isolat kapang yang digunakan dalam Penelitian Tugas Akhir ini adalah tiga puluh tujuh (37) isolat kapang yang didapatkan dari koleksi kultur murni Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi ITS. Isolat kapang diisolasi dari kawasan pesisir Wonorejo Surabaya oleh peneliti sebelumnya [6] yakni dari genus *Penicillium*, *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Trichoderma*, *Scopulariopsis*, *Curvularia*, *Stachybotrys*, *Gliocladium*, *Gliomastix*, *Acremonium*, *Chaetomium*, *Mortiriella*, *Absidia*, *Exophiala*, dan *Cephaliophora*. Isolat kapang tersebut disubkultur ke dalam medium PDA-C dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu kamar.

B. Pembuatan Medium Limbah Degradasi

Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah Medium Basal Agar, yakni medium padat yang digunakan untuk medium pertumbuhan jamur pada uji degradasi pewarna azo Orange II. Medium dibuat dengan cara menimbang $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 gr, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,2 gr, KH_2PO_4 1,5 gr, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2 gr, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,2 gr, dan yeast ekstrak sebanyak 2 gr. Kemudian ditambah 1 mg Orange II,

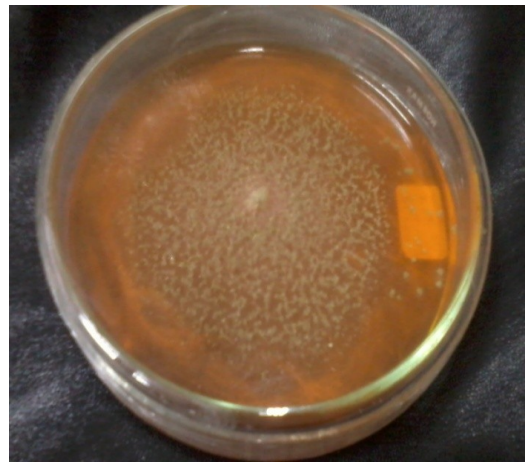
dilarutkan dan dihomogenkan kedalam 1 liter aquades dalam erlenmeyer serta disterilisasi dengan autoklaf dengan suhu 121⁰ C tekanan 1,5 atm selama 15 menit.

C. Uji Degradasi Orange II pada Medium Padat

Isolat kapang subkultur berusia 7 hari diinokulasikan pada cawan petri yang berisi 20 ml Medium Basal Agar yang mengandung 100 ppm Orange II. Kemudian diinkubasi 2-10 hari pada suhu kamar di tempat gelap. Selanjutnya dilakukan pengukuran diameter koloni. Aktivitas degradasi pewarna azo dilihat secara kualitatif perubahan warna pada medium tersebut.

D. Analisa Data

Data penelitian dianalisa menggunakan metode deskriptif kuantitatif. Uji degradasi pewarna azo Orange II dilakukan untuk melihat pengaruh jenis isolat dalam mendegradasi pewarna azo Orange II.



Gambar 1. Hasil inokulasi 1 titik pada medium Basal Agar yang mengandung 100 ppm Orange II. Hasil inokulasi 1 titik pada medium Basal Agar yang mengandung 100 ppm Orange II.

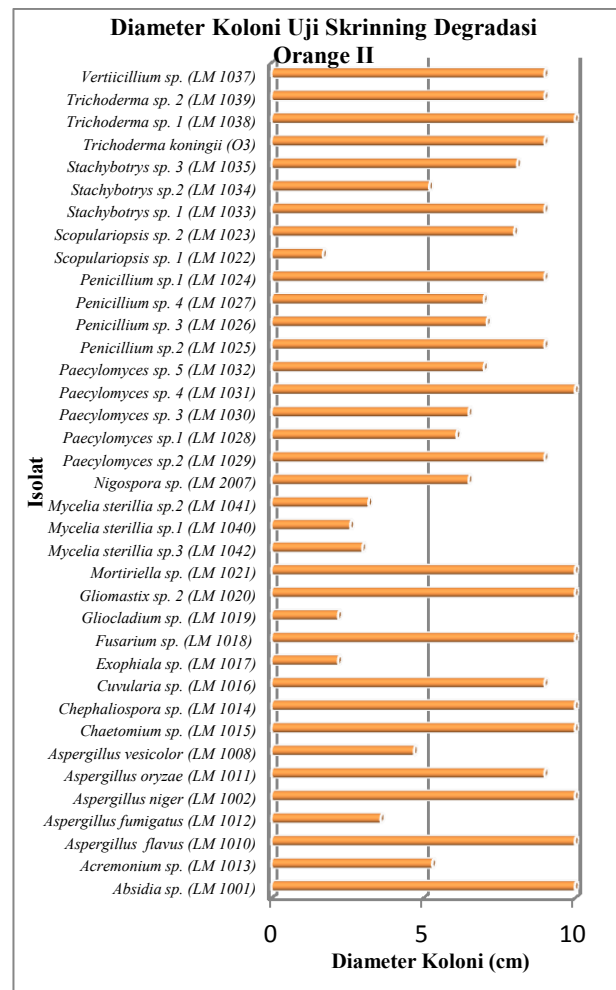
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium Basal yang mengandung pewarna azo Orange II, akan dimanfaatkan oleh kapang sebagai sumber nutrisi. Isolat kapang menghasilkan enzim ligninase, memecah zat warna azo Orange II menjadi senyawa yang sederhana seperti CO₂, H₂O, dan asam organik yang kemudian diabsorpsi oleh hifa kapang secara langsung [7].

Uji degradasi pewarna azo Orange II menggunakan teknik inokulasi satu titik yaitu dengan menginokulasikan spora isolat kapang dari medium PDA-C ke tengah medium Basal Agar yang mengandung 100 ppm Orange II sebesar 1 titik menggunakan jarum tanam tajam. Menurut [8], hasil diameter koloni dan diameter zona bening dengan metode 1 titik lebih baik dari pada teknik inokulasi agar plug 1 cm. Hal tersebut diperkirakan karena adanya sumber karbon lain yang berasal dari PDA-C yang ikut terinokulasi pada teknik agar plug 1 cm, sehingga kapang akan menggunakan sumber karbon dari PDA-C terlebih dahulu, baru kemudian menggunakan sumber karbon dari medium LAC. Sedangkan pada teknik satu titik, kapang langsung menggunakan satu-satunya sumber karbon pada medium LAC yaitu lignin. Kapang harus mensekresikan enzim ligninase terlebih dahulu untuk memecah lignin menjadi senyawa yang sederhana seperti asam organik, CO₂, dan H₂O, yang kemudian akan diabsorpsi oleh kapang. Jadi, dapat diperkirakan bahwa waktu degradasi Orange II pada teknik 1 titik lebih cepat dan enzim yang disekresikan lebih banyak dari pada teknik agar plug 1 cm. Gambar 2 menunjukkan hasil pertumbuhan koloni kapang yang baik dengan menggunakan teknik 1 titik.

Uji degradasi pewarna azo dilakukan untuk mengetahui kemampuan 37 isolat kapang dalam menguraikan pewarna azo pada medium selektif padat, dengan mengukur zona bening yang dibentuknya. Medium yang digunakan adalah medium Basal Agar yang mengandung 100 ppm Orange II.

Pada uji degradasi pewarna azo pada 37 isolat kapang tidak menghasilkan zona bening, tetapi isolat kapang tersebut mampu tumbuh dengan baik pada medium Basal Agar yang



Gambar 2. Diameter koloni isolat kapang pada medium Basal Agar yang mengandung 100 ppm Orange II umur 10 hari.

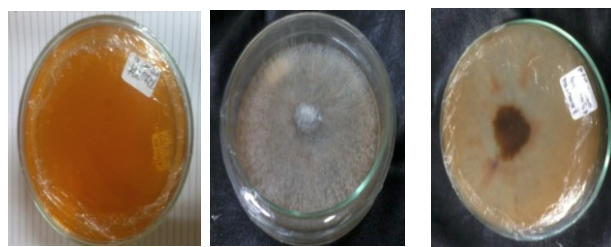
mengandung 100 ppm Orange II. Dengan demikian pengamatan dilakaukan dengan skoring perubahan warna secara kualitatif. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 2 yang menunjukkan bahwa, *Trichoderma sp.1* (LM 1038), *Paecylomyces sp. 4* (LM 1031), *Mortiriella sp.* (LM 1021), *Gliomastix sp. 2* (LM 1020), *Fusarium sp.* (LM 1018),

Chepaliosphora sp. (LM 1014), *Chaetomium* sp. (LM 1015), *Aspergillus niger* (LM 1002), *Aspergillus flavus* (LM 1010), *Absidia* sp. (LM 1001) memiliki diameter paling besar dari seluruh kapang yaitu 10 cm, dimana 10 cm merupakan ukuran koloni yang telah memenuhi seluruh permukaan medium pada cawan hingga dinding cawan pada waktu inkubasi 10 hari. Kemudian diikuti oleh *Trichoderma koningii* (O3) dan yang lainnya yang memiliki ukuran diameter 9 cm sehingga koloni hampir menutup penuh permukaan medium. Melihat pertumbuhan tersebut, maka diduga isolat yang memiliki diameter koloni yang besar tersebut membentuk zona bening, namun tidak terlihat atau berada di bawah koloni kapang. Jika kapang tersebut memiliki zona bening yang besarnya sama dengan diameter koloni kapang, maka nilai rasio zona beningnya sama dengan 1 [8]. Menurut [9], dalam penelitiannya mengenai aktivitas selulase pada medium padat, isolat kapang dimungkinkan mampu menghasilkan enzim, namun aktivitasnya kecil sehingga zona bening tidak terlihat atau berada di bawah koloni kapang. Kemungkinan lain adalah penggunaan sumber karbon selain Orange II oleh isolat kapang, misalnya ekstrak yeast yang terkandung di dalam medium, sehingga isolat kapang masih dapat tumbuh dalam medium Basal Agar yang mengandung 100 ppm Orange II.

Gambar 3 dibawah ini menunjukkan salah satu contoh perubahan warna medium Basal Agar yang mengandung 100 ppm Orange II yang dilakukan oleh kapang setelah koloni kapang tumbuh dengan baik selama 10 hari.

Masing-masing isolat menunjukkan perubahan warna pada medium Basal Agar yang mengandung 100 ppm Orange II yang berbeda-beda pada lama waktu inkubasi 10 hari dengan skoring pada Tabel 1. Dari tabel tersebut menunjukkan isolat yang memiliki potensi tertinggi adalah *Gliomastix* sp. 2 (LM 1020). *Gliomastix* dilaporkan memiliki aktivitas enzim ligninase yang tinggi dengan pertumbuhan koloni yang cepat. Isolat dengan potensi tertinggi kedua yaitu *Aspergillus flavus* (LM 1010), *Aspergillus niger* (LM 1002), *Chaetomium* sp. (LM 1015), *Mortiriella* sp. (LM 1021), *Penicillium* sp. 1 (LM 1024), dan *Stachybotrys* sp. 1 (LM 1033). Dimana tiap-tiap isolat, selain terbukti mampu tumbuh dengan baik tapi juga mampu mendegradasi Orange II pada medium Basal Agar yang kemudian dimanfaatkan sebagai sumber karbon. Hal ini membuktikan bahwa pertumbuhan jamur sangat dipengaruhi oleh nutrisi yang terkandung di dalam medium. Medium yang digunakan dalam uji degradasi ini adalah medium Basal, yang mana dapat mendukung pertumbuhan berbagai jenis spesies tanpa syarat nutrisi. Dan ditambahkan 100 ppm Orange II sebagai tujuan utama zat yang akan didegradasi oleh kapang dan dimanfaatkan sebagai sumber karbon. Menurut [10], energi pertumbuhan berasal dari oksidasi komponen media atau dari sinar. Beberapa industri mikrobial menggunakan bahan-bahan organik yang diproses secara kimia, umumnya sumber energi yang dibutuhkan sebagai sumber karbon adalah karbohidrat, lipid dan protein. Beberapa mikroorganisme juga dapat menggunakan metana dan metanol sebagai sumber karbon dan energi.

Selain itu degradasi Orange II yang ditandai dengan berubahnya warna merupakan aktivitas dari enzim ligninase. Dimana setiap enzim memiliki substrat spesifik untuk mengkatalisis suatu reaksi. Faktor- faktor yang mempengaruhi



Gambar 3. Hasil uji skrining degradasi Orange II pada medium basal agar yang mengandung 100 ppm Orange II: a) kontrol (tanpa isolat kapang), b) bagian atas koloni *Gliomastix* sp. 2 (LM 1020) umur 9 hari, c) bagian bawah koloni *Gliomastix* sp.2 (LM 1020) umur 9 hari.

Tabel 1. Skoring perubahan warna medium.

No	Kode Isolat	Spesies	Perubahan Warna Medium
1	(LM 1001)	<i>Absidia</i> sp.	++
2	(LM 1013)	<i>Acremonium</i> sp.	+
3	(LM 1010)	<i>Aspergillus flavus</i>	+++
4	(LM 1012)	<i>Aspergillus fumigatus</i>	++
5	(LM 1002)	<i>Aspergillus niger</i>	+++
6	(LM 1011)	<i>Aspergillus oryzae</i>	++
7	(LM 1008)	<i>Aspergillus vesicolor</i>	++
8	(LM 1014)	<i>Cephaliosphora</i> sp.	+
9	(LM 1015)	<i>Chaetomium</i> sp.	+++
10	(LM 1016)	<i>Curvularia</i> sp.	+
11	(LM 1017)	<i>Exophiala</i> sp.	++
12	(LM 1018)	<i>Fusarium</i> sp.	++
13	(LM 1019)	<i>Gliocladium</i> sp.	+
14	(LM 1020)	<i>Gliomastix</i> sp.	++++
15	(LM 1021)	<i>Mortiriella</i> sp.	+++
16	(LM 1040)	<i>Mycellia sterillia</i> sp. 1	+
17	(LM 1041)	<i>Mycellia sterillia</i> sp. 2	+
18	(LM 1042)	<i>Mycellia sterillia</i> sp. 3	+
19	(LM 2007)	<i>Nigrospora</i> sp.	+
20	(LM 1028)	<i>Paecylomyces</i> sp. 1	+
21	(LM 1029)	<i>Paecylomyces</i> sp. 2	++
22	(LM 1031)	<i>Paecylomyces</i> sp. 4	++
23	(LM 1032)	<i>Paecylomyces</i> sp. 5	+
24	(LM 1024)	<i>Penicillium</i> sp. 1	+++
25	(LM 1025)	<i>Penicillium</i> sp. 2	+
26	(LM 1026)	<i>Penicillium</i> sp. 3	++
27	(LM 1027)	<i>Penicillium</i> sp. 4	++
28	(LM 1024)	<i>Penicillium</i> sp. 1	++
29	(LM 1022)	<i>Scopulariopsis</i> sp. 1	+
30	(LM 1023)	<i>Scopulariopsis</i> sp. 2	+
31	(LM 1033)	<i>Stachybotrys</i> sp. 1	+++
32	(LM 1034)	<i>Stachybotrys</i> sp. 2	+
33	(LM 1035)	<i>Stachybotrys</i> sp. 3	++
34	(O3)	<i>Trichoderma koningii</i>	++
35	(LM 1038)	<i>Trichoderma</i> sp. 1	+
36	(LM 1039)	<i>Trichoderma</i> sp. 2	+
37	(LM 1037)	<i>Verticillium</i> sp.	+

Keterangan: + adalah skoring untuk medium yang mengalami perubahan warna dibandingkan dengan kontrol.

++ adalah skoring untuk medium yang sedikit mengalami perubahan warna dibandingkan dengan kontrol.

+++ adalah skoring untuk medium yang cukup mengalami perubahan warna dibandingkan dengan kontrol.

++++ adalah skoring untuk medium yang banyak mengalami perubahan warna dibandingkan dengan kontrol.

aktivitas enzim adalah konsentrasi enzim, substrat, produk, pH, suhu, dan lainnya. Menurut [11], dengan mengubah suatu konsentrasi substrat dan produk, dapat dipelajari mekanisme reaksi suatu enzim, yakni bagaimana tahap terjadinya pengikatan substrat oleh enzim, maupun melepas produknya. Pembentukan kompleks Enzim Substrat (ES) membatasi

kecepatan reaksi enzimatik. Artinya, kecepatan maksimum reaksi enzim dicapai pada tingkat konsentrasi substrat yang sudah mampu mengubah seluruh enzim menjadi kompleks ES pada keadaan lingkungan yang memungkinkan. Pada konsentrasi substrat dibawah konsentrasi ini, reaksi enzim bergantung pada konsentrasi substrat yang ditambahkan, sedangkan pada konsentrasi substrat diatas konsentrasi tersebut, kecepatan reaksi menjadi tidak bergantung pada konsentrasi substrat.

Dari 37 isolat tersebut terdapat isolat-isolat yang termasuk ke dalam genus yang telah dilakukan penelitian sebelumnya mengenai potensi mendegradasi pewarna azo dengan menggunakan medium cair. Misalnya, *Aspergillus* sp. [12], *Fusarium* sp. dan *Trichoderma* sp., *Penicillium simplicissimum* [13] dan *Penicillium* sp [7]. Namun isolat yang tergolong dalam genus lainnya belum banyak dilakukan penelitian dalam mendegradasi pewarna azo.

Berdasarkan penelitian sebelumnya tentang degradasi lignin yang dilakukan oleh [8], isolat yang tergolong genus *Gliomastix*, *Mortierella* dan *Mycelia sterilia* adalah genus yang memiliki aktifitas enzim ligninase paling tinggi bersama genus *Penicillium*. Hal tersebut ditunjukkan juga pada uji degradasi pada medium padat dengan pertumbuhan koloni terbesar dan terbaik pada medium Basal Agar yang mengandung 100 ppm Orange II.

IV. KESIMPULAN/RINGKASAN

Semua isolat kapang (37 isolat) koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Biologi ITS memiliki potensi sebagai agen hayati dalam mendegradasi limbah pewarna azo jenis Orange II. Isolat yang memiliki potensi degradasi tertinggi adalah *Gliomastix* sp. (LM 1020).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis A.F. mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Biologi ITS yang telah memberikan dukungan finansial melalui proyek pengembangan payung penelitian Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Biologi ITS. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Institut Teknologi Sepuluh Nopember yang telah membantu menyediakan dana penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] K.T. Chung and S.E. Steven, "The Aerobic Biodegradability of primary Aromatic Amines," *Chemosphere* 12:405-414. (1993).
- [2] Van der Zee, *Anaerobic azo dye reduction* [Thesis]. Wageningen University. Netherlands. (2002).
- [3] J. M. Pelczar, *Dasar-dasar Mikrobiologi*. UI-Press. Jakarta. (2010).
- [4] S. K Yesiladah, G. L. Pekin, H. Bermek, I. A Alaton, D. Orhon, and C. Tamerler, "Bioremediation of Textile Azo Dyes by *Trichophyton rubrum* LSK-27," *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 22. 1027-1031. (2006).
- [5] M.G Katia Machado, C.A Luciana, O Rúbio Morais, H Luiz, and H Santos, "Biodegradation of reactive textile dyes by Basidiomycetous fungi from Brazilian ecosystems," *Brazilian J. Microbiol.* 37:481-487. (2006).
- [6] N. D. Kuswytasari, M. Shovitri, and R. D. Andriyadi, *Soil Molds Diversity in The Coastal Wonorejo Surabaya*. Proceeding International Conference on mathematics and Science (ICOMS). Surabaya. (2011).

- [7] E.I. Wiloso, *Penanganan Limbah Cair berwarna mengandung Senyawa Azo secara Biologi khususnya oleh Jamur *Penicillium* sp. L2*. Laporan Riset Unggulan Terhadap VII Bidang Teknologi Perlindungan Lingkungan. Pusat Penelitian Kimia – Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Kementerian Riset dan Teknologi RI Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. (2002).
- [8] Y.M. Rohmah, *Studi Potensi Isolasi Kapang Tanah dari Wonorejo Surabaya dalam Mendegradasi Lignin*. Tugas Akhir. Biologi FMIPA ITS. Surabaya. (2012).
- [9] I.M. Ilmi dan N.D. Kuswytasari, "Aktifitas Enzim Lignin Peroksidase oleh *Gliomastix* sp. T3.7 pada Limbah Bonggol Jagung dengan Berbagai pH dan Suhu," *Jurnal Sains Dan Seni Pomits* Volume. 2, No.1, (2013) 2337-3520 (2301-928X Print) . Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya.
- [10] I.Gandjar, *Mikologi Dasar dan Terapan*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta. (2006).
- [11] A.H. Lehninger, *Dasar-dasar Biokimia*. Erlangga. Jakarta. (1995).
- [12] M. Ramzay, B. Anusha, S. Kalavathy, and N. Devlaksmi, "Biodecolorization and Biodegradation of reactive blue by *Aspergillus* sp. African," *J. Biotechnol.* 6 (12). 1441-1445. (2007).
- [13] B.L.R Toralba, M.M. Nishikawa, D.I Baptista, D.P Magalhaes, and M. daSilva, "Decolorization of Different Textile Dyes By *Penicillium simplicissimum* and Toxicity Evaluation After Fungal Treatment," *Brazilian Journal of Microbiology* 40:808-817. (2009).