

# Degradasi Pewarna Azo Mordant Black 17 oleh *Ganoderma* sp. BTA1 Strain Lokal

Atria Martina, Lila Kusuma Rahayu, dan Fitriyanti

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau Pekanbaru 28293

## ABSTRAK

*Ganoderma* sp. BTA1 local strain is a white rot basidiomycetes that have ligninolytic activities. This fungi was used for azo dye Mordant Black 17 (MB17) degradation. Their performance were evaluated at different Mordant Black 17 concentration and incubation times. To approve the ability of those isolates using N-limited medium and monitoring with spectrofotometer. Idiophase of this isolate was 11th day. The experiment on MB 17, indicated that the *Ganoderma* sp BTA1 were resistant at 200 mg/l concentration of MB 17 with optimal result 150 ppm. The optimal concentration was used for further experiment. The result of this study indicated that the capacity of MB17 degradation was affected by incubation times. The degradation rate was greater at six days after idiophase with 95%.

**Keywords:** *Ganoderma* sp., Mordant Black 17, azo dye, biodegradation

## Pendahuluan

Bahan pewarna terutama banyak digunakan pada industri farmasi, percetakan fotografi, tekstil, makanan, mainan dan kosmetik. Pewarna sintetis paling banyak digunakan dalam industri tekstil. Bahan pewarna kimia yang digunakan dalam industri tekstil harus memenuhi beberapa kriteria, antara lain stabil terhadap cahaya, gerakan, pencucian dan resisten terhadap serangan mikroba (Cripps, Bhumpus dan Aust. 1990). Sifat-sifat ini menyebabkan bahan pewarna sukar didegradasi (Pasczynsky, Grigsby, Maria, Goszynski, Crawford dan Crawford. 1992). Lebih dari 7 x 10<sup>7</sup> ton pewarna telah diproduksi tiap tahun dan digunakan secara luas, jumlah tersebut diperkirakan 10% terbuang ke lingkungan selama proses pewarnaan (Lacina, Germain dan Spiros. 2003).

Dias *et al.* 2003, Vandervivere *cit.* Zill. 2005b menyatakan pewarna azo merupakan pewarna yang paling banyak digunakan dalam industri tekstil dan merupakan senyawa xenobiotik dengan ciri adanya 1 atau lebih ikatan azo (Ar-N=N-R) dan cincin aromatis. Salah satu diantara pewarna azo adalah Mordant Black 17 (C40H26N4O10S2Zn).

Pewarna azo sulit didegradasi oleh bakteri aerob, bila didegradasi bakteri anaerob dan mikroaerobik dapat membentuk senyawa toksik dan mutagen karena tereduksi membentuk amin aromatik (Zille. 2005a). Metode fisika dan kimia untuk penghilangan pewarna sangat mahal dan kadang-kadang menghasilkan polusi sekunder. Biodegradasi menggunakan jamur merupakan alternatif yang menarik (Zille. 2005a). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa mikroba ligninolitik mampu merombak pewarna azo dengan memutuskan ikatan karbon tunggal (C-C) pada cincin aromatik. Namun

dari banyak penelitian, organisme yang paling efektif menghilangkan warna adalah jamur pelapuk putih (white-rot). Penelitian Abadulla *et al.* 2000, Toh *et al.* 2000, Nyangonho *et al.* 2002 dan Camarero *et al.* 2005) membuktikan, *Phanerochaete chrysosporium*, *Pycnoporus cinnabarinus*, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes villosa*, *T. hirsuta*, *T. versicolor* dan *T. modesta* mampu merombak pewarna azo. Wainwright (1992) menyatakan keuntungan jamur mendegradasi senyawa azo antara lain tidak membentuk amin aromatis.

Jamur white-rot mempunyai aktivitas ligninolitik dengan menghasilkan enzim lignin peroksidase, mangan peroksidase dan lakase untuk mendegradasi banyak senyawa aromatik (Harazono dan Nakamura. 2005, Toh *et al.* 2000). Jamur ligninolitik banyak terdapat di Indonesia. Alberida (2000) berhasil mengisolasi empat isolat jamur pelapuk putih yang mampu mendegradasi pewarna Mordant Yellow 3 (MY 3) dan Acid Orange 8 (AO 8). Martina *et al.* (2003) menguji aktivitas ligninolitik terhadap 14 isolat Aphylophorales yang berasal dari Taman Nasional Bukit Tigapuluh Riau menggunakan Poly R-478 dan mendapatkan *Ganoderma* sp. BTA1 merupakan isolat yang mempunyai aktivitas ligninolitik tertinggi.

*Ganoderma* sp. BTA1 mampu mengurangi konsentrasi lignin pada lindi hitam sebanyak 64,42% (Martina *et al.* 2005). *Ganoderma* sp. BTA1 diperkirakan juga dapat dimanfaatkan dalam proses dekolorisasi. Penelitian ini bertujuan untuk menguji ketahanan dan kemampuan *Ganoderma* sp. BTA1 dalam mendegradasi pewarna azo Mordant Black 17.

## Bahan dan Metoda

### Alat dan bahan

Alat dan bahan yang digunakan sesuai dengan prosedur dalam metoda penelitian.

### Metoda

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan masing-masing perlakuan

Diterima 10/10 2007, disetujui 5/11 2007. Peneliti Dari Laboratorium Biologi, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau Kampus Bina Widya, Jl. HR. Soebrantas KM 12,5 Pekanbaru 28293.



terdiri dari 4 ulangan. Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama adalah melihat pertumbuhan jamur *Ganoderma sp.* BTA1 terhadap pewarna dengan konsentrasi 0 mg/l, 50 mg/l, 150 mg/l dan 200 mg/l. Tahap kedua adalah uji kemampuan penghilangan warna oleh isolat dengan masa inkubasi 0 hari, 2 hari sebelum idiofase dan 2,4,6 hari setelah idiofase.

### Penyediaan inokulum

Inokulum didapat dengan mengkultur isolat murni *Ganoderma sp.* BTA1 yang diperoleh dari koleksi Lab. Mikrobiologi FMIPA UNRI pada medium PDA. Kultur diinkubasi pada suhu kamar selama 20-25 hari untuk mendapatkan spora.

### Pengukuran kurva pertumbuhan

Penentuan kurva pertumbuhan *Ganoderma sp.* BTA1 bertujuan untuk mendapatkan idiofase isolat *Ganoderma sp.* BTA1 yang dilakukan secara gravimetri. Penentuan kurva pertumbuhan dilakukan dengan menginokulasikan 107/ml suspensi spora ke dalam erlenmeyer yang berisi 50 ml medium N-Limited. Inkubasi dilakukan dalam orbital shaker dengan kecepatan 200 rpm pada suhu kamar. Isolat yang tumbuh akan membentuk pelet. Pelet dipanen setiap hari sampai didapatkan fase stasioner. Berat kering miselia diperoleh dengan menyaring kultur pada kertas saring Whatman 42 dan dikeringkan pada suhu 80°C.

### Penentuan ketahanan jamur terhadap Mordant Black 17

Uji ketahanan jamur terhadap pewarna bertujuan untuk mencari konsentrasi Mordant Black 17 yang optimum. Konsentrasi ini digunakan pada penelitian tahap ke-2. Pada 50 ml medium N-limited, ditambahkan MB17 masing-masing sebanyak 0 mg/l, 50 mg/l, 100 mg/l, 150 mg/l dan 200 mg/l. Parameter yang diamati adalah berat kering miselium. Berat kering diukur awal fase stasioner berdasarkan kurva pertumbuhan.

### Kemampuan penghilangan warna

Spora isolat sebanyak 107/ml diinokulasi pada 50 ml medium N-limited steril yang telah diberi pewarna MB 17 dengan konsentrasi 150 mg/l pada erlenmeyer 100 ml. Kultur diinkubasi pada suhu kamar dalam orbital shaker berkecepatan 200 rpm. Pengurangan warna diukur pada hari ke 0, 2 hari sebelum idiofase dan 2,4,6 hari setelah idiofase untuk perlakuan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 490 nm (<http://www.Physchem.ux.ac.uk/htm.2006>)

### Hasil dan Pembahasan

#### Pertumbuhan *Ganoderma sp.* BTA1

Pada Gambar 1 dapat dilihat bahwa fase lag terjadi pada hari ke 0-1, fase ini sering disebut dengan fase adaptasi, pada fase ini jamur mulai beradaptasi terhadap media pertumbuhan dan kondisi lingkungan sekitarnya. Fase logaritma atau fase eksponensial dimulai pada hari ke 2, pada fase ini terjadi penambahan

massa sel jamur dan kecepatan pertumbuhan menjadi maksimal. Setelah hari ke 11 penambahan massa sel jamur mulai menurun, hal ini menandakan pertumbuhan jamur telah mengalami idiofase. Enzim ligninolitik dihasilkan oleh jamur apabila berada pada idiofase. Kekurangan nutrisi pada tahap ini menyebabkan terakumulasinya inducer enzim ligninolitik yang selanjutnya akan menginduksi pengeliatan enzim ligninolitik. Kirk dan Farrel *cit.* Zille (2005) menyatakan degradasi senyawa struktur aromatis oleh jamur merupakan peristiwa metabolisme sekunder yang dimulai bila nutrisi (C, N dan S) menjadi terbatas.

Fase stasioner dialami oleh jamur pada hari ke 12-13, pada saat ini penambahan biomassa jamur mulai terhenti karena nutrisi semakin berkurang, metabolisme sekunder yang dihasilkan dan perubahan pH medium. Perubahan kondisi yang terjadi menyebabkan jamur berkompetisi sehingga sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Fase kematian dialami oleh jamur setelah hari ke 13 yang ditandai dengan mulai menurunnya biomassa jamur akibat sel jamur yang mati mengalami lisis.

#### Ketahanan Jamur *Ganoderma sp.* BTA1 Terhadap Pewarna Mordant Black 17

Hasil uji ketahanan isolat terhadap pewarna Mordant Black 17 (Gambar 1) dapat dilihat pada Tabel 1. *Ganoderma sp.* BTA1 mampu tumbuh pada setiap perlakuan konsentrasi Mordant Black 17. Kemampuan tumbuh *Ganoderma sp.* tertinggi terjadi pada perlakuan dengan konsentrasi 150 ppm yaitu 0,00515 gr. Hal ini karena konsentrasi 150 mg/l merupakan konsentrasi substrat optimum bagi jamur sehingga mampu dengan baik memecah ikatan azo dan memanfaatkan nutrisi hasil degradasi Mordant Black 17 dengan bantuan enzim ligninolitik. Menurut Stolz (2001); Hatakka *cit.* Diaz, *et al.* (2003) dan Almansa *et al.* (2004) sistem enzimatis ligninolitik yang dihasilkan white rot yang terbukti berkaitan dengan pewarna azo adalah lignin peroksidase (LiP), mangan peroksidase dan lakase (lcc). Kemampuan ini menyebabkan meningkatkannya massa sel jamur yang tumbuh.

Hasil ini berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Konsentrasi MB 17 dibawah 100 mg/l mungkin kurang mencukupi untuk pertumbuhan isolat. Konsentrasi 200 mg/l terlalu tinggi sehingga jamur sulit untuk tumbuh dan memutuskan ikatan azo yang terkandung dalam MB 17 tersebut untuk mendapatkan sumber karbon dan N. Menurut Caldwell (1995), mikroba tidak dapat tumbuh dengan cepat dan baik di bawah kondisi nutrisi terbatas ataupun berlebihan.

#### Kemampuan Degradasi Warna oleh *Ganoderma sp.* BTA1

Kemampuan degradasi warna Mordant Black 17 (Gambar 1) oleh *Ganoderma sp.* BTA1 sp. untuk masing-masing konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 2.

## DEGRADASI PEWARNA AZO MORDANT BLACK 17...

**Tabel 1. Berat miselium *Ganoderma sp.*BTA1 dalam medium N-limited mengandung Mordant Black 17**

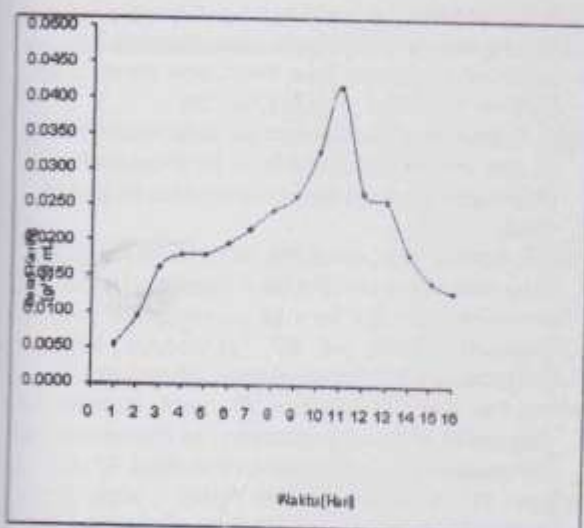
Konsentrasi Mordant Black 17 (mg/l)	Miselium <i>Ganoderma sp.</i> BTA1 (g)
0	0,00065 <sup>a</sup>
50	0,00055 <sup>b</sup>
100	0,00063 <sup>b</sup>
150	0,00515 <sup>a</sup>
200	0,00060 <sup>b</sup>

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama berarti berbeda tidak nyata menurut uji lanjut Duncan (DMRT) pada taraf  $p < 0,05$

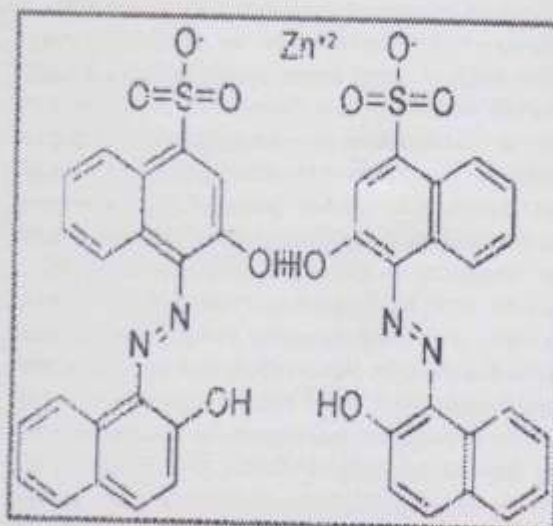
**Tabel 2. Degradasi MB17 oleh *Ganoderma sp.* BTA1 pada medium medium N-limited**

Waktu inkubasi	Degradasi Mordant Black 17 (%)
0 hari	0 <sup>a</sup>
2 hari sebelum idiofase	73 <sup>b</sup>
2 hari setelah idiofase	77 <sup>b</sup>
4 hari setelah idiofase	83 <sup>c</sup>
6 hari setelah idiofase	95 <sup>d</sup>

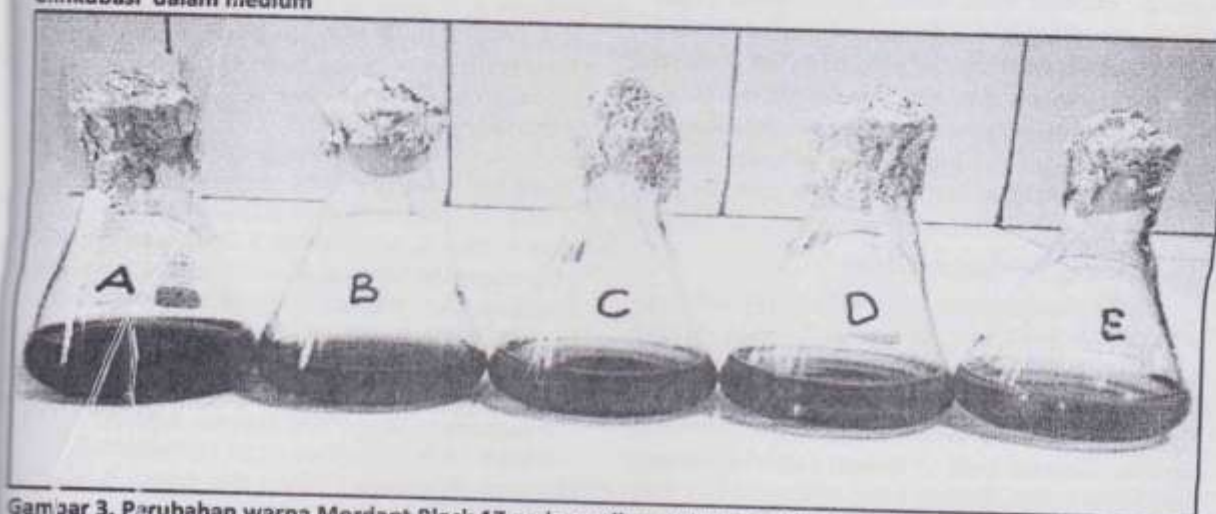
Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama berarti berbeda tidak nyata menurut uji lanjut Duncan (DMRT) pada taraf  $p < 0,05$



**Gambar 1. Pertumbuhan *Ganoderma sp.*BTA1 yang diinkubasi dalam medium**



**Gambar 2. Struktur bangun Mordant Black 17**



**Gambar 3. Perubahan warna Mordant Black 17 pada medium N-limited oleh *Ganoderma sp.*BTA1. (A) kontrol. (B) 2 hari sebelum idiofase. (C) 2 hari setelah idiofase. (D) 4 hari setelah idiofase. (E) 6 hari setelah idiofase**

Kemampuan degradasi warna oleh *Ganoderma* sp.BTA1 untuk masing-masing masa inkubasi sangat berbeda nyata. Kemampuan degradasi tertinggi terjadi pada perlakuan pengukuran konsentrasi pada hari ke 6 setelah idiofase yaitu sebesar 95 % karena jamur telah merombak Mordant Black 17 secara optimal untuk mendapatkan nutrisi seperti C dan N yang akan digunakan untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya. Hasil ini sangat berbeda nyata dengan perlakuan lainnya dan terlihat secara visual. Pada pengukuran 2 hari sebelum idiofase telah terjadi pengurangan yang cukup signifikan dibandingkan dengan kontrol yaitu 73 % . Penelitian yang dilakukan Zille *et al.*, (2003), menyatakan lakase dari *Trametes villosa* mampu mengurangi warna dari pewarna azo Reactive Black 5 hingga 90 %. Oszyo *et al.* (2005) melaporkan, *Funalia troglia* mampu mengurangi pewarna tekstil azo Drimarene Blue X3LR dan Remazol Brilliant Blue R, masing-masing hingga 92 % dan 98%. Menurut Stolz (2001) degradasi beberapa pewarna azo memperlihatkan mineralisasi sempurna menjadi CO<sub>2</sub>.

Kemampuan *Ganoderma* sp menghilangkan Mordant Black 17 untuk setiap perlakuan terlihat pada perubahan warna medium (Gambar 3). Penghilangan warna merupakan proses pemutusan ikatan pada gugus kromofor. Kerusakan kromofor ditunjukkan secara visual sebagai *discoloration* larutan pewarna azo. Kecepatan penghilangan warna tergantung pada aktivitas enzim dalam memutuskan ikatan dalam gugus kromofor . Chivukula dan Ranganathan (1995) menyatakan mekanisme degradasi pewarna azo diawali melalui abstraksi dua elektron. Hal ini diikuti oleh aksi nukleofilik air yang menghasilkan kation stabil. Pemecahan molekul pewarna mengeluarkan satu proton dan satu molekul N<sub>2</sub> kinoid aromatis dan hydroperoksida. Kandelbauer *et al.* (2004) menyatakan, diantara enzim ligninolitik, lakase mempunyai spesifisitas substrat yang luas. Pada degradasi Mordant Black, lakase mengoksidasi gugus fenol dengan partisipasi 1 elektron, menghasilkan fenoksi radikal. Aksi nukleofilik oleh air pada cincin karbon fenol disamping ikatan azo menyebabkan pemutusan ikatan N-C. Hasil degradasi pewarna azo antara lain adalah asam hidroksi-benzen sulfonat, asam benzen sulfonat, asam 3 diazeny-benzen sulfonat dan hasil reaksi produk dengan 1,2-naftokuinon atau dengan 1,2-naftodiol (Zille. 2005)

### Kesimpulan

Fase idiofase *Ganoderma* sp.BTA1 terjadi pada hari ke 11. *Ganoderma* sp.BTA1 mampu tumbuh dengan kondisi sel yang terbaik pada medium dengan konsentrasi Mordant Black 17 sebesar 150 mg/l. Pemberian *Ganoderma* sp.BTA1 sangat berpengaruh terhadap degradasi Mordant Black 17 dengan degradasi tertinggi terjadi pada waktu inkubasi 6 hari setelah idiofase yaitu 95%.

### Daftar Pustaka

- Abadulla E, Tzanov T, Costa S, Robra KH, Cavaco-Paulo A, dan Gubitzi GM. 2000. Decolorization and detoxification of textile dyes with a laccase from *Trametes hirsuta*. *Appl. and Environ. Microbiol.* 66:3357-3362.
- Alberida H. 2000. Pengurangan Warna Pewarna Azo oleh Jamur Pembusuk Putih. Laporan Penelitian Proyek Pengembangan Diri. Universitas Negeri Padang.
- Almansa E, Kandelbauer A, Pereira L, Cavaco-Paulo A, dan Guebitz GM. 2004. influence of Structure on Dye Degradation with Laccase Mediator System. *Biocatalysis and Biotransform.* 22(56): 315-324.
- <http://www.Physchem.ux.ac.uk/htm>. 2006. Azo Dye.
- Caldwell DR. 1995. *Microbial Physiology & Metabolism*. Wm. C. Brown Communications Inc. America.
- Camarero S, Ibarra D, Martinez MJ, dan Martinez AT. 2005. Lignin-Derived Compounds as Efficient Laccase Mediators for Decolorization of Different types of Recalcitrant Dyes. *Appl. Environ. Microbiol.* 71 (4):1775-1784.
- Civukula M dan Renganathan V. 1995. Phenolic azo dye oxidation by laccase from *Pycnicularia oryzae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(4):1775-1784.
- Cripps C, Bhumpus, JA, dan Aust SD. 1990. Biodegrading of Azo and Heterocyclic Dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56 (4):1114-1118.
- Dias AA, Bezerra RM, Lemos PM, dan Pereira N. 2003. In Vivo and Laccase-Catalyzed decolorization of cenobiotic azo dye by a basidiomycetous fungus: characterization of its ligninolytic system. *Microbiology and Biotechnology.* 19: 969-975.
- Jeffries TW, Choi S, dan Kirk TK. 1981. Nutritional Regulation of Lignin Degradation by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 42 (2).
- Madigan MT, Martinko JM, dan Parker J. 2003. *Brock Biology of Microorganism*. Edisi ke-10. Prentice Hall. New Jersey.
- Kandelbauer A, Erlacher A, Cavaco-Paulo A, dan Gubitzi GM. 2004. Laccase-catalyzed Decolorization of the Synthetic Azo-dye Diamond Black PV 200 and some Structurally Related Derivates. *Biocat. and Biotransform.* 22:331-339
- Lacina C, Germain G, dan Spiros A. 2003. Utilization of Fungi for Treatment Raw Wastewaters. *African Journal of Biotechnology.* 2 (12):620-630.
- Martina A, Devi S, dan Marlina S. 2005. Kemampuan *Ganoderma* sp. Strain Lokal mendegradasi lignin pada beberapa konsentrasi lindi hitam . Prosiding seminar UNRI-UKM ke 3 . Pekanbaru.
- Martina A. 2007. Aktivitas ligninolitik Jamur *Ascomycota* strain lokal dari TNBT dengan menggunakan Poly-R 478. Laporan Penelitian HEDS Project. UNRI. Pekanbaru. (tidak dipublikasikan).
- Nyanhongo GS, Gomes J, Gubitzi GM, Zvauya R, Read J, dan Steiner W. 2002. Decolorization of textile dyes by laccase from a newly isolated strain of *Trametes modesta*. *Water Res.* 36:1449-1456



- Ozsoy HD, Unyayar A, Mazmanci dan M.A. 2005. Decolourization of reactive textile dyes Drimarene Blue X3LR and Remazol Brilliant Blue R by *Funalia troglit* ATCC 200800. *Biodegradation*. 16 (3):195-204
- Palmieri G, Giardino P, Bianco C, Fontanella B, dan Sannia G. 2000. Copper Induction of Laccase Isoenzymes in the Ligninolytic Fungus *Pleurotus ostereatus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:920-924.
- Paszczynki A, Grigsby, Maria BP, Gaszczyнки S, Crawford RL, dan Crawford DL. 1992. Mineralization of Sulfonated Azo Dyes and Sulfanilic Acid by *Phanerochaete crhysosporium* and *Streptomyces chromofuscus*. *Appl. and Environ. Microbiol.* 58 (11):3598-3604.
- Stolz A. 2001. Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. *Appl. Microbiol. And Biotechnol.* 56:69-80
- Zille Aa, Gornacka B, Rehorek A, dan Cavaco-Paulo A. 2005. Degradation of Azo Dyes by *Trametes villosa* Laccase Over Long Periods of Oxidative Condition. *Appl. Environ. Microbiol.* 71 (11): 6711-6718.
- Zille Ab. 2005. Laccase Reactions for Textile Applications. Phd Dissertation. University of Minho. Portugal.

