

SEMINAR DAN PERTEMUAN ILMIAH TAHUNAN PERHIMPUNAN MIKROBIOLOGI  
INDONESIA 1999

MAKALAH HASIL PENELITIAN

PENGURANGAN WARNA MORDANT YELLOW 3  
OLEH JAMUR PEMBUSUK PUTIH

DECOLORIZATION OF MORDANT YELLOW 3 DYE  
BY THE WHITE ROT FUNGI

Oleh:

Dra. Heffi Alberida, M.Si  
IKIP PADANG

20 - 3 - 2001  
Ho

K1  
235 / K / 2001. P 2 / 21

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ANDALAS PADANG  
Padang, PIT PERMI 1999

**PENGURANGAN WARNA MORDANT YELLOW 3 OLEH JAMUR PEMBUSUK PUTIH  
(DECOLORIZATION OF MORDANT YELLOW 3 DYE BY THE WHITE ROT FUNGI)**

Oleh: Dra. Hefli Alberida, M.Si. Staf Pengajar Jurusan Pend. Biologi IKIP Padang

**Abstrak**

Enam puluh isolat jamur yang tumbuh pada kayu berhasil diisolasi, dan 32 diantaranya bersifat lignolitik. Berdasarkan klasifikasi Rao, didapatkan 4 isolat yang memiliki kemampuan lignolitik tertinggi. Ke-4 isolat selanjutnya diukur kemampuan mendegradasi lignin di medium cair, dan kemampuan menghilangkan warna MY3. Selain itu juga ditentukan suhu pertumbuhan optimum jamur.

Isolat C, L, dan P memiliki suhu pertumbuhan optimum 27°C, sedangkan isolat Y 37°C. Uji kemampuan mendegradasi lignin di medium cair menunjukkan isolat C, L, dan Y mampu menurunkan konsentrasi lignin sebesar 59 %, 63 %, dan 72 %. Kemampuan terendah dimiliki isolat P, yaitu sebesar 17 %.

Uji ketahanan terhadap pewarna MY3, menunjukkan keempat isolat jamur memiliki ketahanan yang berbeda. Isolat L dan Y tahan pada 200 ppm, isolat C pada 100 ppm, dan isolat P pada 50 ppm. Hasil uji kemampuan menghilangkan warna MY3 menunjukkan kemampuan menghilangkan warna dipengaruhi pH medium. Isolat Y paling cepat menghilangkan warna MY3 pada pH 4, diikuti oleh isolat P pada pH 4,5. Isolat C dan L tidak mampu menghilangkan warna MY3 pada semua pH yang diuji. Uji penghilangan warna menunjukkan, MY3 hilang sempurna dari medium setelah 48 jam inkubasi.

Kata kunci: Lignolitik - MY3 - Degradasi.

**Abstract**

Sixty isolates of wood fungi were isolated. Thirty-two of them were found to be lignolytic. Based on Rao's classification, four isolates were found to have the highest lignolytic activity. These isolates were tested to measure their capacity to degrade lignin in a liquid medium, and their capacity for decolorization of MY3. In addition, the temperature of the fungi's optimum growth was observed.

The optimum growth of C, L, and P isolates was 27°C, whereas Y isolate was 37°C. The experiment on the capacity to degrade lignin in a liquid medium indicates that C, L, and Y isolates was capable of reducing lignin concentration as much as 57 %, 63 %, and 72 % respectively. P isolate has the lowest capacity, i.e., 17 %.

The experiment on MY3 indicates that the 4 isolates of fungi have different levels of resistance. L and Y isolates was resistant at 200 ppm, C isolate at 100 ppm, and P isolate at 50 ppm. The results of the experiment on the capacity to decolorize MY3 indicate that the capacity for decolorization was affected by pH of the medium. The highest in the decolorization of MY3 at pH 4 was Y isolate followed by P isolate at pH 4.5. C and L isolates did not decolorize MY3 at the pH tested. The experiment on decolorization indicates that MY3 was completely removed from the medium after 48 hours of incubation.

Key words: Lignolytic - MY3 - Degradation - Decolorization

**Pengantar**

Kebutuhan pangan, sandang, dan papan yang terus meningkat, baik secara kuantitas maupun kualitas memacu pertumbuhan berbagai industri. Akibatnya, pemakaian bahan-bahan kimia juga meningkat.

Bahan kimia yang banyak dipakai diantaranya adalah bahan pewarna. Bahan pewarna terutama dipakai oleh pabrik tekstil, kertas, serat sintetis, cat, pengolahan minyak, dan lain-lain. Lebih dari  $7 \cdot 10^5$  ton pewarna sintetis telah diproduksi dan digunakan secara luas dan diperkirakan 10-15 % terbuang ke lingkungan selama proses pewarnaan (Spadaro *et al.*, 1992).

Bahan kimia yang digunakan harus memenuhi beberapa kriteria, antara lain stabil terhadap cahaya, gesekan, pencucian dan resisten terhadap serangan mikrobia (Cripps *et al.*, 1990). Sifat-sifat ini menyebabkan bahan pewarna sukar didegradasi (Paszczynsky *et al.*, 1992; Cripps *et al.*, 1990).

Pewarna dapat dikelompokkan atas beberapa golongan, salah satu diantaranya adalah pewarna azo (azo dyes). Pewarna azo merupakan pewarna yang sukar didegradasi pada kondisi aerob (Michaels and

Lewis, 1986; Cripps *et al.*, 1990). Pada kondisi anaerob pewarna azo dapat tereduksi membentuk aromatik amin yang tidak berwarna tetapi sangat toksik dan karsinogenik (Meyer, 1981; Grigsby *et al.*, 1992; Cripps *et al.*, 1990). Walaupun bahan pewarna tidak begitu toksik namun sifatnya yang sukar dirombak pada kondisi aerob dan menjadi sangat toksik pada kondisi anaerob, merupakan problem karena menyebabkan terjadinya pencemaran terutama di lingkungan perairan.

Pewarna azo tergolong bahan yang sukar didegradasi, namun penelitian terdahulu menunjukkan beberapa mikrobia baik fungi maupun bakteri ada yang mampu merombaknya secara aerob. Salah satu diantaranya mikrobia lignolitik.

Mikrobia lignolitik di samping mampu mendegradasi lignin, ternyata juga bisa merombak senyawa aromatik lainnya, termasuk pewarna azo (Paszczynsky *et al.*, 1992). Jamur dan bakteri lignolitik mempunyai kemampuan memutuskan ikatan C-C pada cincin aromatik. Oleh karena itu ia banyak dimanfaatkan sebagai bioremediator untuk perairan dan tanah yang tercemar oleh senyawa-senyawa hidrokarbon aromatik seperti fenol, benzen, naphtol, dan lain-lain (Schlegel, 1986).

Pewarna azo merupakan pewarna yang paling banyak dipakai dalam industri (Spadaro *et al.*, 1992). Pewarna ini memiliki variasi warna yang banyak, salah satu diantaranya adalah mordant yellow 3 (MY3). MY3 termasuk kelompok azo sulfonat. Dari penelitian yang dilakukan di Jerman, 5-10 % senyawa organik pencemar sungai adalah azo sulfonat (termasuk MY3). Salah satu pilihan untuk mengatasi pencemaran itu adalah menggunakan mikrobia.

Penelitian Haug *et al.* (1991) menemukan MY3 dapat terurai sempurna oleh aktivitas beberapa strain bakteri yang bekerja secara sinergis. Degradasi ini melalui dua tahap yaitu, tahap anaerob dan aerob.

Degradasi pewarna azo secara anaerob banyak dihindari karena membentuk aromatik amin yang sangat toksik, karena itu dicari mikrobia yang mampu merombak pewarna azo secara aerob berupa jamur atau bakteri aerob. Berbagai penelitian membuktikan jamur lignolitik mampu merombak sempurna pewarna azo. Jamur lignolitik banyak terdapat di Indonesia. Oleh karena itu perlu diteliti kemampuan jamur-jamur ini untuk mendegradasi senyawa-senyawa organik polutan seperti MY3.

## Cara Penelitian

### Isolasi Jamur Pembusuk Putih

Jamur pembusuk putih diisolasi dari badan buah jamur yang tumbuh di kayu. Untuk isolasi jamur tersebut dipakai medium yang dianjurkan Dietrich dan Lamar (1990), yaitu 2 % MEA (malt extract agar), 15 ppm benomyl, 550 ppm streptomycin sulfat, dan akuades sampai 1 liter.

Isolasi dilakukan dengan cara mengambil spora jamur. Selain itu, isolasi dilakukan dengan cara memotong badan buah sebesar 1 x 1 cm dengan pisau steril. Spora atau potongan badan buah segera dipindahkan ke dalam petri yang berisi medium pertumbuhan, dan diinkubasi pada suhu kamar. Miselium jamur yang tumbuh lalu dimurnikan. Untuk memastikan jamur yang tumbuh adalah basidiomisetes, dilakukan pengamatan secara mikroskopis terhadap benang hifa. Jamur basidiomisetes memiliki *clamp connection* pada hifa generatifnya.

Jamur yang berhasil diisolasi, diuji kemampuan lignolitiknya. Uji lignolitik dilakukan dua tahap. Uji lignolitik tahap pertama dimaksudkan untuk menseleksi jamur yang bersifat lignolitik dan yang tidak. Uji ini dilakukan dengan cara Rao (1982) yaitu, satu agar plug jamur 0,5 cm diletakkan di atas medium MEA yang mengandung asam tanat, diinkubasi pada suhu 27 °C selama 6 hari. Tiap liter MEA mengandung 5 g asam tanat. Kemampuan lignolitik dilihat dari luas zone coklat disekeliling koloni.

Uji lignolitik tahap kedua dilakukan untuk jamur yang terbukti memiliki kemampuan lignolitik tertinggi pada uji tahap pertama. Uji lignolitik ini dilakukan setelah suhu pertumbuhan optimum masing-masing isolat diketahui. Untuk uji lignolitik tahap kedua digunakan medium seperti yang dipakai Bonnarne dan Jeffries (1990). Medium tersebut terdiri dari: glukosa 10 g, D-diamonium tartrat 0,2 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0,5 g, CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0,1 g, Tiamin hidroklorida 1,0 mg, Tween-80 1,0 ml, larutan garam mineral 70 ml, akuades sampai 1 liter, Buffer dimetil suksinat (pH 4,5). Garam mineral terdiri dari EDTA 1,5 g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 3,0 g, NaCl 1,0 g, FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0,2 g, CoCO<sub>3</sub> 0,1 g, CaCl<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O 1 g, ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 1,0 g, CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 0,01 g, AlK(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 12H<sub>2</sub>O 0,1 g, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 0,01, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0,01 g, dan akuades sampai 1 liter. Dua agar plug jamur diinokulasikan pada 40 ml medium yang mengandung 500 mg/l lignin dalam Erlenmeyer 125 ml (untuk perlakuan), sedangkan kontrol tidak diinokulasi dengan jamur. Kultur diinkubasi pada suhu pertumbuhan optimum masing-masing isolat, digojog dengan kecepatan 200 rpm selama 14 hari. Sisa lignin diuji dengan reagen lignin dan dihitung berdasarkan kurva standar (Rao, 1982). Hasil degradasi diuji pada hari ke 0, 2, 4, 6, 8, sampai hari ke 14.

### Suhu Pertumbuhan Optimum

Suhu pertumbuhan optimum diukur dengan menumbuhkan masing-masing isolat pada medium MEA dan diinkubasi pada suhu 22°C, 27°C, 32°C, 37°C, dan 39°C. Parameter yang diukur adalah berat kering miselium yang ditentukan setiap 24 jam selama masa inkubasi 6 hari.

Miselium diperoleh dengan cara mencairkan medium dalam oven microwave. Miselium dibilas dua kali dengan air mendidih, lalu disaring dengan kertas saring Whatman nomor 2, selanjutnya dikeringkan pada suhu 80°C sampai mencapai berat konstan (Vares *et al.*, 1995).

### Ketahanan Jamur terhadap Pewarna

Ketahanan masing-masing isolat terhadap pewarna MY3 diuji dengan menumbuhkan jamur dalam medium MEA + MY3 pada konsentrasi yang makin meningkat. Konsentrasi MY3 yang diuji mulai dari 0 ppm (untuk kontrol), 5 ppm, 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, dan 300 ppm, serta diinkubasi pada suhu pertumbuhan optimum masing-masing isolat. Selain itu juga ditentukan persentase penghambatan terhadap koloni jamur dengan cara Bragulat *et al.* (1991).

### Uji Kemampuan Penghilangan Warna

Uji kemampuan penghilangan warna MY3 menggunakan medium cair Bonnarne dan Jeffries (1990), tetapi tanpa lignin. Tiga agar plug 0,5 cm diinokulasikan pada 40 ml medium dalam Erlenmeyer 125 ml. Kultur diinkubasi pada suhu optimum masing-masing dan digojog dengan kecepatan 200 rpm. Pewarna ditambahkan setelah kultur berumur 6 hari. Pewarna terlebih dahulu disterilkan dengan membran filter (millipore) ukuran 0,2 cm. pH medium dibuat bervariasi, yaitu 3,5; 4,0; 4,5; dan 5,0 dengan menambahkan buffer dimetil suksinat. Warna diukur setiap hari dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 490 nm selama masa inkubasi 4 hari.

Isolat yang memiliki kemampuan penghilangan warna tertinggi, diuji lebih lanjut untuk menghilangkan warna MY3 dengan menggunakan fermentor. Fermentor yang dipakai memiliki kapasitas 1 liter dengan medium pertumbuhan Bonnarne and Jeffries (1990). Udara yang masuk ke fermentor adalah oksigen 100%, pH medium 4 dengan buffer dimetil suksinat. Medium diinokulasi dengan 100 ml starter yang dibuat dengan cara 3 agar plug 0,5 cm diinokulasikan pada 50 ml medium cair, inkubasi pada 37°C tanpa agitasi untuk mencegah terbentuknya pelet miselium. Setelah berumur 5 hari, 1 ml inokulum ini diinokulasikan pada 100 ml medium baru, lalu diinkubasi lagi selama 5 hari, yang selanjutnya dipakai sebagai starter.

Pengurangan warna diamati tiap 24 jam. Cara pengamatannya adalah: 10 ml sampel dari fermentor (medium + miselium) diambil lalu disentrifus dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit. Supernatan dan miselium dipisahkan. Untuk mengamati pengurangan warna di medium, warna supernatan ditera dengan spektrofotometer. Miselium dicuci lalu ditambahkan 10 ml metanol, vortek dan disentrifus kembali dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit, supernatannya ditera untuk mendapatkan data warna yang tertinggal di miselium.

### Hasil dan Pembahasan

#### Isolasi Jamur Lignolitik

Enam puluh jenis jamur yang tumbuh pada kayu berhasil diisolasi. Enam belas jenis dikumpulkan dari Lembah UGM, 36 jenis dari Kali Urang, dan 8 jenis dari kebun Biologi UGM Yogyakarta. Dari 60 isolat jamur yang diuji, 32 isolat diantaranya bersifat lignolitik. Empat isolat, yaitu C, L, P, dan Y memiliki kemampuan lignolitik tertinggi.

#### Suhu Pertumbuhan Optimum

Pengukuran berat kering miselium jamur yang ditumbuhkan pada suhu berbeda menunjukkan suhu pertumbuhan isolat C, L, dan P adalah 27°C. Suhu pertumbuhan optimum isolat Y 37°C.

#### Hasil Uji Kemampuan Lignolitik

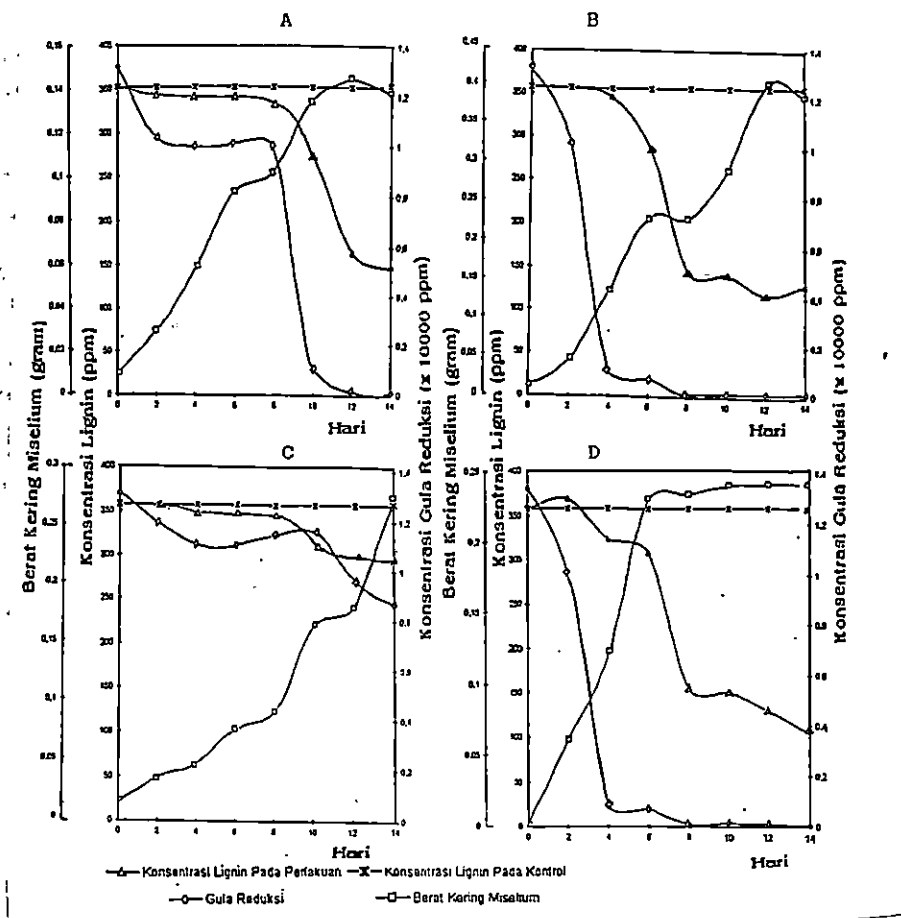
Kemampuan lignolitik tertinggi diperlihatkan oleh isolat Y. Isolat Y mampu menurunkan konsentrasi lignin sebanyak 72% selama masa inkubasi 14 hari. Kadar gula reduksi menurun tajam pada tiga hari pertama, dan terus berkembang sampai akhir masa inkubasi. Hasil uji lignolitik Y disajikan pada gambar 1D.

Kemampuan lignolitik yang hampir sama tampak pada isolat L. Gambar 1B memperlihatkan L mampu menurunkan konsentrasi lignin sebesar 63%. Konsentrasi glukosa terus menurun sampai hari ke-14.

Pertumbuhan jamur yang digambarkan oleh berat kering miselium langsung memasuki fase stasioner pada hari ke-8. Fase stasioner tetap bertahan sampai akhir masa inkubasi 14 hari.

Isolat C mampu menurunkan konsentrasi lignin sebesar 59 % selama masa inkubasi 14 hari (gambar 1A). Konsentrasi lignin sampai hari ke-8 tidak mengalami penurunan berarti dan baru turun tajam pada hari ke-8 sampai 14. Pertumbuhan jamur C lebih lambat dan membutuhkan fase lag 48 jam. Fase stasioner baru tercapai pada hari ke-10. Kadar gula reduksi tetap tinggi sampai hari ke-8 dan baru menurun tajam pada hari ke-8 sampai 10.

Gambar 1C memperlihatkan isolat P hanya mampu menurunkan konsentrasi lignin sebesar 17 % dari konsentrasi awal. Penurunan konsentrasi lignin terjadi pada hari ke-12 sampai 14. Pertumbuhan P membutuhkan fase lag selama 4 hari dan sampai akhir masa inkubasi masih berada pada fase eksponensial. Konsentrasi gula reduksi sampai hari terakhir inkubasi masih tinggi.



Gambar 1. Penurunan konsentrasi lignin di medium cair oleh keempat isolat jamur dan hubungannya dengan penurunan konsentrasi glukosa dan berat kering miselium, A. Isolat C, B. Isolat L, C. Isolat P, dan D. Isolat Y

Uji aktifitas lignolitik menurut cara Rao, dilihat dari kemampuan jamur mendegradasi tannin. Organisme yang mampu merombak tannin dapat dijadikan petunjuk bahwa organisme itu juga mampu merombak lignin (Rao, 1982).

Kemampuan jamur merombak tannin terlihat dari perubahan warna medium pertumbuhan, tanpa membedakan apakah warna yang terbentuk coklat muda atau coklat tua. Perbedaan warna diperkirakan juga menggambarkan aktifitas enzim yang merombak tannin. Oleh karena itu jamur yang menurut klasifikasi Rao berada pada kelas yang sama, belum tentu memiliki aktifitas lignolitik yang sama pula.

Dari hasil yang ditampilkan pada gambar 1 terlihat ke-4 jamur memiliki aktifitas lignolitik yang berbeda. Aktifitas lignolitik terendah ada pada P. Rendahnya aktifitas lignolitik P kemungkinan disebabkan pertumbuhan yang lambat pada medium yang mengandung lignin.

Aktifitas lignolitik merupakan metabolisme sekunder. Aktifitas ini dipacu oleh lingkungan yang kekurangan C, N, dan S (Rothschild *et al.*, 1995; Jeffries *et al.*, 1981). Dari ketiga unsur ini, kekurangan unsur C paling berpengaruh. Begitu sumber C berkurang, metabolisme akan diarahkan pada metabolisme sekunder. Arah metabolisme sekunder tergantung pada substrat yang tersedia dan kemampuan jamur mengekspresikan gen-gen yang mengkode enzim yang diperlukan untuk mendegradasi substrat tersebut.

Lignin merupakan senyawa dengan molekul besar dan sangat kompleks. Karena itu lignin bukan merupakan sumber C yang utama. Jamur lignolitik harus tumbuh dan memanfaatkan sumber C lain yang lebih mudah sebelum mampu mensekresikan ligninase. Ligninase baru dipacu bila sumber C sudah berkurang.

Berdasarkan uraian di atas, ternyata aktifitas lignolitik baru dimulai pada akhir fase eksponensial dan mencapai optimum pada fase stasioner. Substrat yang kaya nutrisi akan menunda tercapainya idiofase dan memperlambat aktifitas lignolitik. Jadi rendahnya aktifitas lignolitik P disebabkan belum tercapainya fase stasioner.

#### **Hasil Uji Ketahanan terhadap Pewarna**

Hasil uji ketahanan masing-masing isolat terhadap pewarna MY3 menunjukkan isolat Y memiliki ketahanan tertinggi. Isolat Y masih mampu hidup pada konsentrasi MY3 200 ppm dan tingkat penghambatan yang ditimbulkan adalah 84 %. Isolat L bisa hidup pada konsentrasi MY3 200 ppm, dan tingkat penghambatan yang ditimbulkan 99 %. Isolat P dan C memiliki ketahanan lebih rendah. Isolat P bisa tumbuh pada konsentrasi MY3 50 ppm dan tingkat penghambatan 97 %. Sedangkan isolat C masih mampu tumbuh pada konsentrasi MY3 100 ppm dengan tingkat penghambatan 98 %.

Zat warna sebagaimana anti biotik memberikan pengaruh yang sama terhadap mikroorganisme. Senyawa ini menghambat pertumbuhan bakteri dan mengurangi diameter koloni jamur (Bragulat, 1991). Zat warna menghambat pertumbuhan jamur berarti bertindak sebagai antifungal. Pengaruh zat warna dengan konsentrasi yang sama terhadap masing-masing mikroorganisme berbeda-beda, tergantung pada kemampuan organisme mengenal pewarna tersebut. Oleh karena itu beberapa diantaranya dipakai untuk selektif medium.

#### **Hasil Uji Kemampuan Penghilangan Warna**

Hasil uji kecepatan penghilangan warna menunjukkan, isolat Y dan P mampu mengurangi warna MY3, sedangkan isolat L dan C tidak mampu. Isolat Y memiliki kecepatan penghilangan warna MY3 lebih tinggi dibandingkan isolat P. Isolat Y mampu menurunkan OD MY3 sampai setengahnya pada 24 jam pertama dan pengurangan warna paling cepat terjadi pada pH medium 4. Isolat P mampu menghilangkan warna MY3 setelah masa inkubasi tiga hari. Pada hari pertama dan kedua OD hampir tidak berubah. Pengurangan warna paling cepat terjadi pada pH 4,5.

Berdasarkan hasil uji kecepatan penghilangan warna ini, maka isolat yang digunakan untuk uji uji selanjutnya adalah Y dengan pH medium 4 dan konsentrasi MY3 200 ppm.

Kecepatan penghilangan warna tergantung pada aktifitas dan kemampuan enzim dalam memutuskan ikatan pada pewarna. Aktifitas enzim ini terkait langsung dengan pH.

Enzim yang dihasilkan jamur lignolitik dan terbukti berkaitan dengan degradasi pewarna azo adalah lignin peroksidase (LiP), mangan peroksidase (MnP) dan lakase. Enzim ini terdiri dari isoenzim-isoenzim yang bekerja optimum pada pH berbeda. Ollika *et al.*, (1993) berhasil mengisolasi LiP yang bekerja pada pH optimum 3,85, 4,5, dan 4,65. Kemampuan masing-masing isoenzim dalam menghilangkan warna berbeda-beda, dan yang paling tinggi dimiliki oleh LiP 3,85.

Chivukula (1995) meneliti kemampuan lakase mendegradasi berbagai model pewarna azo. Ternyata tidak semua pewarna azo bisa dirombak oleh lakase. Pewarna azo yang bisa dirombak adalah yang memiliki donor elektron berupa substituen CH<sub>3</sub> dan metoksi. Spadaro (1992) membuktikan bahwa pewarna azo yang

memiliki cincin aromatik dengan substituen OH, CH<sub>3</sub>, dan NH<sub>3</sub>, akan lebih cepat dimineralisasi oleh jamur lignolitik *P. crysosporium*.

Dari uraian di atas terlihat bahwa kemampuan menghilangkan warna tergantung pada isoenzim yang dihasilkan dan struktur pewarna azo yang digunakan. Dari data penelitian sampai hari ke-4 masa inkubasi, jamur Y dan P mampu menghilangkan warna MY3, sedangkan C dan L tidak. Isolat Y mampu menghilangkan warna MY3 lebih cepat dari isolat lainnya pada pH medium 4. Berarti aktifitas enzim yang dihasilkan Y yang berperan dalam penghilangan warna bekerja pada pH optimum 4. Hal ini juga menunjukkan MY3 bisa dijadikan substrat oleh Y.

Isolat C dan L sampai hari ke-4 masa inkubasi tidak mampu mengurangi warna MY3 di medium. Sehubungan dengan itu, ada beberapa hal yang bisa dijelaskan. Pertama, enzim lignolitik yang dihasilkan C dan L tidak mampu menjadikan MY3 sebagai substratnya.

Kedua, enzim lignolitik yang dihasilkan C dan L mampu menjadikan MY3 sebagai substrat, tetapi aktifitasnya lebih lambat. Bogan *et al.* (1996) menunjukkan salah satu isoenzim MnP yang dihasilkan *P. crysosporium* aktifitas optimumnya berada pada hari ke-10 dan ke-11 masa inkubasi.

Ketiga, dari data penelitian ini ternyata aktifitas lignolitik tidak menggambarkan kemampuan jamur menghilangkan warna MY3. Aktifitas lignolitik tinggi belum tentu kemampuan menghilangkan warna azo khususnya MY3 juga tinggi.

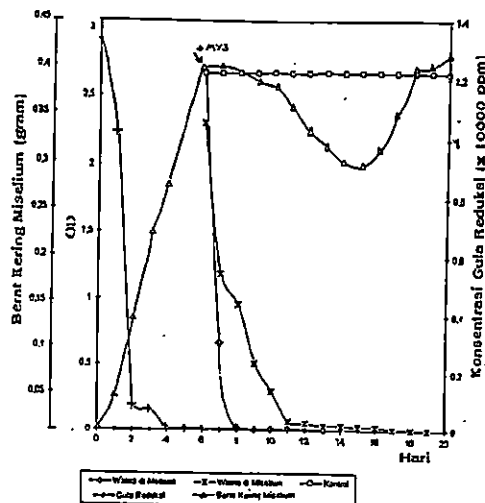
Hasil pengukuran penghilangan warna di medium menunjukkan warna lebih cepat hilang pada kultur di fermentor dibandingkan dengan warna pada kultur yang ditumbuhkan di Erlenmeyer. Dalam 24 jam penghilangan warna telah mencapai 96%. Pada hari ke-2 setelah penambahan pewarna, warna yang hilang telah mencapai 99%.

Pengurangan warna pada miselium sedikit lebih lambat daripada di medium. Sembilan hari setelah penambahan MY3, warna di miselium berkurang 99% dan tidak terdeteksi lagi pada hari ke-13.

Kadar gula reduksi di medium menurun pesat, sampai hari ke-6 terjadi penurunan 99%. Kadar gula reduksi terus berkurang sampai akhir masa inkubasi 14 hari.

Pertumbuhan jamur (diukur dari berat kering miselium) langsung memasuki fase eksponensial tanpa melalui fase lag. Hari ke-6 pertumbuhan memasuki fase stasioner. Mulai hari ke-10 sampai 16 terjadi pengurangan berat kering miselium. Selanjutnya dari hari ke-16 sampai akhir masa inkubasi berat kering miselium kembali meningkat.

Hubungan antara pengurangan warna, kadar gula reduksi dan berat kering miselium dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Kecepatan penghilangan warna MY3 dibandingkan dengan penurunan konsentrasi gula reduksi dan berat kering miselium

Degradasi pewarna azo oleh jamur lignolitik merupakan metabolisme sekunder. Degradasi pewarna dimulai setelah nutrisi C dan N berkurang.

Penghilangan warna MY3 di medium sedikit lebih cepat dibandingkan di miselium. Pada awal penambahan pewarna, warna dengan cepat diadsorpsi oleh miselium sehingga warna di medium berkurang dengan cepat. Kirkpatrick (1989) menyatakan ada dua proses yang berlangsung dalam penghilangan warna oleh jamur lignolitik. Pertama, proses fisik, pewarna disaring oleh miselium. Hal ini terjadi bila biomas cukup besar. Kedua, proses kimia, melalui reaksi enzimatis oleh ligninase yang terjadi bila sumber nutrisi terbatas.

Kecepatan penghilangan warna MY3 oleh jamur yang ditumbuhkan di fermentor, lebih cepat daripada penghilangan warna MY3 oleh jamur yang ditumbuhkan di Erlenmeyer. Perbedaan ini diperkirakan karena kadar oksigen terlarut di fermentor lebih tinggi.

Enzim ekstraseluler yang berperan dalam degradasi lignin dan pewarna seperti LiP, MnP dan lakase diproduksi pada kondisi  $O_2$  di medium tinggi. Sintesis LiP sangat tergantung pada  $O_2$ , demikian juga dengan MnP. Aktifitas MnP 50 % lebih tinggi bila dimasukkan  $O_2$  100 % dari pada udara biasa (Rothschild *et al.*, 1995). Chivukula dan Renganathan (1995) menyatakan aktifitas lakase juga tergantung pada  $O_2$ . Jadi konsentrasi  $O_2$  yang tinggi di medium dapat meningkatkan aktifitas enzim lignolitik yang berperan dalam penghilangan warna.

Ketersediaan  $O_2$  di medium harus dibarengi dengan kemampuan sel menyerap  $O_2$ . Untuk ini perlu peningkatan permeabilitas membran terhadap  $O_2$ . Permeabilitas membran sel jamur dapat ditingkatkan dengan menggunakan surfaktan. Lestan *et al.* (1994) membuktikan penambahan surfaktan tween 80 dan 20 dapat meningkatkan difusi  $O_2$  ke sel.

#### Kesimpulan

Empat isolat jamur basidiomisetes pembusuk putih telah diisolasi dan diseleksi sebagai jamur yang memiliki kemampuan lignolitik tertinggi. Isolat C, L, dan P tumbuh optimum pada suhu 27°C, sedang isolat Y pada suhu 37°C.

Jamur memiliki ketahanan berbeda terhadap pewarna MY3. Jamur Y dan L tahan sampai 200 ppm, C 100 ppm, dan P 50 ppm dengan persen penghambatan pertumbuhan berturut-turut 84 %, 99 %, 98 %, dan 97 %, untuk Y, L, C, dan P.

Kemampuan masing-masing isolat menghilangkan warna MY3 tidak sama. Salah satu faktor yang mempengaruhi adalah pH medium. Isolat Y dan P mampu menghilangkan warna MY3 di medium, dan pH yang paling tepat adalah 4 untuk Y dan 4,5 untuk P. Isolat Y menghilangkan warna MY3 lebih cepat dari P.

Penghilangan warna oleh jamur basidiomisetes pembusuk putih merupakan metabolisme sekunder dan terjadi setelah jumlah glukosa di medium tinggal sedikit. Kemampuan lignolitik yang tinggi tidak menjamin tingginya kemampuan menghilangkan warna MY3. Isolat Y mampu menghilangkan warna MY3.

#### Daftar Pustaka

- Bogan, B.W., Schoenike, B., Lamar, R.T. and Cullen, D. 1996. Manganese Peroxidase mRNA and Enzyme Activity Levels during Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Contaminated Soil with *Phanerochaete chrysosporium*. *App. Environ. Microbiol.* 62(7):2381-2386.
- Bonmarne, P. And Jeffries, T.W. 1990. Mn (II) Regulation of Lignin Peroxidases and Manganese-Dependent Peroxidases from Lignin-Degrading White Rot Fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 56 (1): 210-217.
- Bragulat, M.R., M.L. Abarca, M.T. Bruguera, and F.J. Cabanes. 1991. Dyes As Fungal Inhibitors: Effect on Colony Diameter. *Appl. Environ. Microbiol.* 57 (9): 2777-2780.
- Chivukula, M. And Renganathan, V. 1995. Phenolic Azo Dye Oxidation by Laccase from *Pyricularia oryzae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 61 (12): 4374-4377.
- Cripps, C., Blumpus, J.A. and Aust, S.D. 1990. Biodegradation of Azo and Heterocyclic Dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56 (4): 1114-1118.