

# BAB I PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Industri tekstil masih merupakan salah satu sektor industri andalan Indonesia. Indonesia telah masuk dalam jajaran 10 besar negara-negara penghasil tekstil di dunia, bahkan di tingkat ASEAN peringkat Indonesia berada di bawah Vietnam yang menjadi negara dengan industri tekstil terbesar. Menteri Perindustrian (Menperin) MS Hidayat dalam acara ASEAN *Economic Community* (AEC) 2015 menyatakan bahwa kontribusi industri tekstil Indonesia untuk memenuhi kebutuhan tekstil dunia saat ini baru 1,8 %, diharapkan dengan berbagai kebijakan dan kerjasama dengan investor asing akan mampu meningkatkan kontribusi kebutuhan tekstil dunia sebesar 5 % dalam waktu 10 tahun ke depan (Anonim, 2016). Pernyataan tersebut menyiratkan bahwa produksi bahan tekstil sebagai salah satu kebutuhan primer diperkirakan juga akan terus meningkat. Kondisi tersebut akan diiringi dengan peningkatan jumlah limbah industri tekstil khususnya berupa limbah cair.

Limbah cair industri tekstil memiliki karakteristik bervolume besar dengan kadar pewarna yang tinggi dan sulit didegradasi. Volume limbah cair yang dihasilkan dari industri tekstil diperkirakan minimal sebanyak satu ton air per meter persegi bahan tekstil (China Science & Technology Forum, 2005). Kandungan pewarna yang terdapat dalam limbah tersebut 10-200 mg/L (O'Neill dkk., 2000). Struktur molekul pewarna sulit terdegradasi karena sengaja didesain agar tahan terhadap kelembaban, cahaya dan air, tahan oksidator serta tahan degradasi oleh mikroba (Wesenberg dkk., 2003), sehingga sangat berpotensi untuk terakumulasi dalam jangka waktu yang lama. Sebagai contoh waktu paruh reaktif *blue 19* pada suhu 25 °C dan pH 7,0 adalah selama 46 tahun (Weber & Stickney, 1993).

Limbah industri tekstil yang tidak dikelola dengan baik dapat menimbulkan permasalahan bagi ekosistem di sekitarnya. Pembuangan limbah tersebut secara langsung menyebabkan perubahan karakteristik fisika-kimiawi yaitu pH, suhu, konduktivitas, TS (*total solids*), TDS (*total dissolved solids*), TSS (*total suspended solids*), DO (*dissolved oxygen*), COD (*chemical oxygen demand*), BOD (*biological oxygen demand*) dan alkalinitas (Chacko & Subramaniam, 2011 dan Ahmed dkk., 2012). Perairan menjadi berwarna yang menyebabkan turunya nilai estetika. Fitoplankton di perairan tercemar pewarna tekstil mengalami perubahan warna yang abnormal dan proses fotosintesis akan tereduksi karena cahaya yang memasuki perairan akan diserap oleh pewarna. Pewarna yang terakumulasi di dasar perairan, khususnya pewarna yang mengandung gugus azo,

mengalami degradasi secara anaerob menghasilkan senyawa amina aromatik yang lebih toksik dan dapat membahayakan organisme di perairan tersebut. Toksisitas akut pewarna tekstil pada organisme perairan tingkat rendah antara sedang hingga sangat toksik, dipengaruhi oleh ukuran dan struktur pewarna tekstil (Chacko & Subramaniam, 2011).

Kultur kapang pelapuk kayu putih lebih dipilih untuk proses dekolorisasi pewarna daripada kultur bakteri. Dekolorisasi pewarna oleh kultur umumnya karena proses adsorpsi pewarna pada biomassa mikroba bukan akibat biodegradasi (Pavko, 2011). Kultur bakteri tidak mampu melakukan dekolorisasi pewarna pada kondisi aerob. Dekolorisasi terjadi pada kondisi anaerob oleh enzim azoreduktase. Enzim azoreduktase mereduksi senyawa azo menjadi senyawa amina aromatik yang lebih toksik. Amina aromatik tersebut diduga mutagenik dan kemungkinan bersifat karsinogenik terhadap hewan perairan dan mamalia (Chacko & Subramaniam, 2011). Penggunaan kultur bakteri untuk proses dekolorisasi pewarna umumnya dilanjutkan dengan tahap aerob atau enzimatik untuk mendegradasi amina aromatik tersebut menjadi senyawa yang tidak berbahaya (Zille, 2005; Tripathi & Srivastava, 2011). Toksisitas pewarna azo reaktif *black 5* meningkat setelah dekolorisasi secara anaerob oleh kultur bakteri yang dilanjutkan secara aerob. Nilai  $EC_{50}$  reaktif *black 5* terhadap *Vibrio fischeri* sebesar 27,5 mg/L dan hasil degradasinya secara anaerob yang dilanjutkan aerob sebesar 0,2 mg/L, tetapi hasil degradasinya secara aerob tidak bersifat toksik (Gottlieb dkk., 2003). Kapang pelapuk kayu putih diketahui dapat mendegradasi lignin dalam kayu secara aerob hingga terurai menjadi  $CO_2$ ,  $H_2O$  dan  $H_2O_2$  (Ntwampe dkk., 2010). Pewarna tekstil merupakan senyawa aromatik yang memiliki kemiripan dengan struktur lignin, sehingga dalam kultur kapang pelapuk kayu putih pewarna azo akan didegradasi secara aerob (Wesenberg dkk., 2003; Abo-State dkk., 2011).

Penggunaan kultur mikroba (kapang) untuk proses dekolorisasi pewarna memiliki beberapa keterbatasan karena harus memenuhi kebutuhan tertentu untuk pertumbuhannya yaitu: sterilisasi peralatan dan media pertumbuhan, serta penambahan nutrisi dan pengaturan kondisi lingkungan seperti agitasi dan aerasi. Alasan lainnya adalah waktu inkubasi yang relatif lama (orde mingguan bahkan bulanan) dan terjadinya proses biosorpsi pada miselium fungi akan menurunkan kemampuan biodegradasi selanjutnya (Moreira dkk., 2001), sehingga tidak efektif untuk pewarna yang memiliki ukuran molekul sangat besar karena tidak dapat melewati membran sel (Nikhil dkk., 2012). Oleh sebab itu pengembangan dekolorisasi pewarna dilakukan secara enzimatik. Metode enzimatik dianggap dapat memperbaiki metode mikrobiologis karena: (1) reaksinya spesifik, (2) proses dapat dilakukan pada tekanan dan suhu ruang, (3) tidak menghasilkan produk limbah yang berbahaya karena enzim merupakan protein yang dapat didegradasi, (4) biaya

operasional sangat efisien karena dengan metode enzimatik tidak mengeluarkan biaya pengolahan limbah dan pemanasan reaktor, (5) efektivitasnya tinggi dan (6) metode enzimatik tidak memerlukan kondisi yang sangat ketat seperti pada metode mikrobiologis, sebab enzim memiliki aktivitas pada rentang kondisi yang lebih lebar dan relatif tetap aktif walaupun terjadi perubahan kondisi (Ruggaber & Talley, 2006). Menurut Abo-State dkk. (2011) metode enzimatik lebih baik daripada metode mikrobiologis. Penelitiannya menunjukkan bahwa penurunan intensitas warna metilen biru dalam jumlah yang sama oleh ekstrak kasar enzim dari *P. sajor-caju* hanya memerlukan waktu 12 jam, sedangkan menggunakan kultur *P. sajor-caju* memerlukan waktu 10 hari.

*Phanerochaete chrysosporium* merupakan kapang pelapuk kayu putih dari kelompok Basidiomycetes, diketahui memiliki kemampuan mendegradasi lignin dan berbagai polutan aromatik termasuk pewarna tekstil karena kapang tersebut menghasilkan enzim-enzim lignolitik diantaranya lignin peroksidase (LiP), mangan peroksidase (MnP) dan enzim-enzim penghasil H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ekstraselular (Shah & Nerud, 2002). Tien dan Kirk (1984) menyatakan bahwa LiP pertama kali berhasil diisolasi dari *Phanerochaete chrysosporium* Burdsall. Enzim LiP juga ditemukan pada beberapa kapang pelapuk kayu putih Basidiomycetes serta Actinomycetes, sedangkan MnP dijumpai pada hampir semua kapang pelapuk kayu putih (Maciel dkk., 2010).

Enzim LiP dan MnP merupakan hemoprotein dan termasuk kelompok enzim oksidoreduktase. Aktivitas LiP bergantung pada H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan memiliki potensial reduksi yang tinggi pada pH asam. Enzim LiP memiliki spesifisitas yang rendah, dapat bereaksi dengan berbagai model senyawa lignin bahkan terhadap molekul yang memiliki struktur dasar seperti lignin tetapi tidak berhubungan dalam metabolisme degradasi lignin. Enzim LiP dapat mengoksidasi cincin aromatik nonfenolik yang termetilasi menghasilkan radikal kation yang dapat bereaksi lebih lanjut melalui berbagai jalur seperti pembukaan cincin, demetilasi dan dimerisasi fenol. Mangan peroksidase (MnP) mengoksidasi Mn<sup>2+</sup> menjadi Mn<sup>3+</sup>, Mn<sup>3+</sup> mampu mengoksidasi struktur fenolik menjadi radikal fenolik. Potensial redoks MnP lebih rendah daripada LiP dan mampu mengoksidasi substrat fenolik secara *in vitro* (Shah & Nerud, 2002; Wong, 2009; Maciel dkk., 2010). Enzim LiP memerlukan veratril alkohol atau senyawa aromatik lainnya untuk membentuk kation aromatik radikal yang mengoksidasi polimer lignin maupun pewarna yang memiliki nilai potensial reduksi tinggi (Ruiz-Duenas & Martinez, 2009). Enzim LiP dan MnP diduga mendegradasi pewarna azo melalui oksidasi gugus fenol membentuk senyawa radikal, oksidasi lebih lanjut memicu terjadinya hidrolisis di sekitar gugus azo. Melalui mekanisme tersebut tidak

dihasilkan senyawa amina aromatik sebagai produk utamanya (Chacko & Subramaniam, 2011).

Enzim-enzim ligninolitik merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *P. chrysosporium* pada idiofasa (fasa stationer), saat terbatasnya jumlah sumber N dan C dalam medium produksi. Ekspresinya sangat dipengaruhi oleh kondisi dan komposisi medium pertumbuhannya (Shim & Kawamoto, 2002), juga dipengaruhi oleh jenis strain dari *P. chrysosporium* (Wang dkk., 2008). Beberapa usaha untuk meningkatkan produksi peroksidase oleh *P. chrysosporium* dengan metode kultur *batch* yaitu penyediaan inokulum spora; kondisi pertumbuhan seperti pH, suhu, agitasi dan lama petumbuhan; komposisi media seperti sumber C, sumber N, surfaktan (Tween 80),  $Mn^{2+}$  dan veratril alkohol (Ferrara dkk., 2002; Gill & Arora 2003; Wang dkk., 2008; Ntwampe dkk., 2010). Berbagai studi menggunakan modifikasi medium Kirk dengan sumber N terbatas dan glukosa sebagai sumber karbon untuk produksi peroksidase dari *P. chrysosporium* dan beberapa kapang pelapuk kayu putih lainnya (Ferrara dkk., 2002; Ryu dkk., 2003; Rigas & Dritsa, 2006; Lee, 2007; Urek & Pazarlioglu, 2007; Xiong dkk., 2008; Wang dkk., 2008; Zeng dkk., 2013; Acevedo dkk., 2011; Li dkk., 2011; Coconi-Linares dkk., 2014). Sedikit sekali studi yang menggunakan limbah industri maupun limbah pertanian yang mengandung lignin sebagai sumber karbon (Ferrara dkk., 2002).

Penelitian mengenai pemanfaatan enzim-enzim peroksidase *P. Chrysosporium* isolat ITB pada proses dekolourisasi pewarna tekstil secara enzimatis belum pernah dilakukan. Pemanfaatan *P. chrysosporium* di Indonesia diantaranya sebagai pengolah limbah untuk menurunkan kadar COD dan TSS dari limbah pabrik PT MIWON dan limbah pabrik cat PT Putra Mataram (Trihadiningrum, 2008), biodelignifikasi batang jagung (Fadilah dkk., 2008), pencairan batu bara (Fadilah, 2009), peningkatan kualitas pulp dari kayu kapuk (Iskowati & Maksoem, 2012) dan peningkatan mutu pakan ternak dari limbah lignoselulosa (Imsya' dkk., 2014 dan Febrina, 2016). Kapang *P. Chrysosporium* isolat ITB tercatat merupakan salah satu koleksi biakan murni Laboratorium Mikrobiologi Institut Teknologi Bandung sejak 1999. Hubungan kekerabatan *P. Chrysosporium* isolat ITB dengan isolat *P. chrysosporium* lainnya secara molekular dan profil peroksidasinya juga belum diketahui. Oleh sebab itu eksplorasi potensi salah satu peroksidase dari *P. Chrysosporium* isolat ITB untuk proses dekolourisasi pewarna tekstil penting untuk dilakukan. Model pewarna yang digunakan adalah reaktif *black 5* karena pewarna ini mewakili pewarna azo, jenis pewarna yang paling banyak digunakan di industri tekstil, yang berukuran besar dan data-data pembandingnya pada proses dekolourisasi dengan metode mikrobiologis lebih lengkap. Oleh sebab itu telah dilakukan penelitian dengan judul **“Identifikasi molekular dan profil**

**peroksidase *Phanerochaete chrysosporium* isolat ITB, optimasi produksi, karakterisasi dan eksplorasi potensi lignin peroksidasinya untuk dekolonisasi reaktif *black 5*”**

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang tersebut, diajukan beberapa rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana hubungan kekerabatan *Phanerochaete chrysosporium* isolat ITB dengan strain *Phanerochaete chrysosporium* lain yang telah diketahui?
2. Bagaimana profil peroksidase yang dihasilkan oleh *Phanerochaete chrysosporium* isolat ITB?
3. Bagaimana kondisi optimum produksi peroksidase (lignin peroksidase) dari *Phanerochaete chrysosporium* isolat ITB?
4. Bagaimana karakteristik ekstrak kasar lignin peroksidase dari *Phanerochaete chrysosporium* isolat ITB?
5. Bagaimana kondisi optimum dekolonisasi reaktif *black 5* oleh lignin peroksidase dari *Phanerochaete chrysosporium* isolat ITB?
6. Apakah terjadi perubahan struktur reaktif *black 5* sebelum dan setelah dekolonisasi oleh lignin peroksidase dari *Phanerochaete chrysosporium* isolat ITB?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini sebagai berikut:

1. Menganalisis hubungan kekerabatan *Phanerochaete chrysosporium* isolat ITB dengan *Phanerochaete chrysosporium* lain yang telah diketahui.
2. Mengkarakterisasi profil peroksidase yang dihasilkan oleh *Phanerochaete chrysosporium* isolat ITB.
3. Mengevaluasi formula medium dan kondisi optimum untuk produksi lignin peroksidase dari *Phanerochaete chrysosporium* isolat ITB.
4. Menganalisis karakteristik ekstrak kasar lignin peroksidase meliputi: ukuran molekul, pH dan suhu reaksi enzimatis optimum, stabilitas suhu, pengaruh ion logam dan inhibitor, profil fraksinasinya dengan pengendapan etanol dan stabilitas penyimpanan.
5. Menganalisis kondisi optimum dekolonisasi reaktif *black 5* oleh lignin peroksidase dari *Phanerochaete chrysosporium* isolat ITB.
6. Menganalisis perubahan struktur reaktif *black 5* sebelum dan setelah dekolonisasi oleh lignin peroksidase dari *Phanerochaete chrysosporium* isolat ITB.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat hasil penelitian ini antara lain:

1. Menggali potensi *Phanerochaete chrysosporium* isolat ITB yang diduga merupakan strain baru sebagai sumber enzim peroksidase yang dapat diaplikasikan untuk dekolonisasi (degradasi) pewarna secara enzimatik.
2. Mendukung ketersediaan enzim pendegradasi pewarna tekstil.
3. Mendorong pengembangan pengolahan limbah tekstil yang efektif dan ramah lingkungan sehingga membantu pemerintah memecahkan permasalahan mengenai dampak negatif dari limbah industri tekstil.
4. Menunjukkan nilai tambah mikroba isolat lokal.