



SKRIPSI

**BIOTRANSFORMASI METILEN BIRU OLEH
JAMUR PELAPUK PUTIH *Phlebia lindtneri***

**NABILA FAUZIAH FARDANI
NRP 0121144000048**

**Dosen Pembimbing:
Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D.**

**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS ILMU ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2018**



SCRIPT

**BIOTRANSFORMATION OF METHYLENE BLUE
BY WHITE ROT FUNGUS *Phlebia lindtneri***

**NABILA FAUZIAH FARDANI
NRP 0121144000048**

**Supervisor:
Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D.**

**DEPARTMENT OF CHEMISTRY
FACULTY OF SCIENCE
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2018**

**BIOTRANSFORMASI METILEN BIRU OLEH JAMUR
PELAPUK PUTIH *Phlebia lindtneri***

SKRIPSI

Disusun Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh
Gelar Sarjana Program Studi S-1
Departemen Kimia
Fakultas Ilmu Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya

Disusun Oleh:

NABILA FAUZIAH FARDANI
NRP 0121144000048

**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS ILMU ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2018**

LEMBAR PENGESAHAN

**BIOTRANSFORMASI METILEN BIRU OLEH JAMUR
PELAPUK PUTIH *Phlebia lindtneri***

SKRIPSI

Disusun oleh:

NABILA FAUZIAH FARDANI
NRP 01211440000048

Surabaya, 25 Januari 2018

Menyetujui,

Dosen Pembimbing


Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D.
NIP 19800724 200812 1 002

Mengetahui,
Kepala Departemen Kimia


Prof. Dr. Didik Prasetyoko, S.Si., M.Sc.
NIP 19710616 199703 1 002

BIOTRANSFORMASI METILEN BIRU OLEH JAMUR PELAPUK PUTIH *Phlebia lindtneri*

Nama : Nabila Fauziah Fardani
NRP : 01211440000048
Jurusan : Kimia FIA - ITS
Dosen Pembimbing : Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D.

Abstrak

Metilen biru merupakan pewarna sintetik yang sering digunakan di industri tekstil di Indonesia. Keberadaannya dalam limbah industri yang mencemari lingkungan perairan dan memberikan dampak buruk bagi kesehatan maupun ekosistem makhluk hidup di lingkungan itu sendiri karena sifatnya yang karsinogenik dan sulit terdegradasi secara alami, sehingga diperlukan proses degradasi yang efektif oleh mikroorganisme. Pada penelitian ini, kemampuan jamur pelapuk putih *Phlebia lindtneri* dalam menghilangkan warna dari metilen biru telah diteliti dalam media cair PDB selama 28 hari inkubasi. Analisa penghilangan warna (*decolorization*) dilakukan dengan menggunakan instrumen UV-Vis dan analisa metabolit produk biotransformasi menggunakan instrumen LC-MS/TOF. Prosentase *decolorization* metilen biru selama 28 hari sebesar $\pm 99\%$. Metabolit produk yang terbentuk dari proses biotransformasi metilen biru adalah $C_{16}H_{20}N_3S$; $C_{16}H_{21}N_3SO$; $C_{22}H_{31}N_3SO_5$.

Kata kunci: *Biotransformasi, Biodekolorisasi, Metilen Biru, Phlebia lindtneri*

BIOTRANSFORMATION OF METHYLENE BLUE BY WHITE ROT FUNGUS *Phlebia lindtneri*

Name : Nabila Fauziah Fardani
NRP : 01211440000048
Department : Kimia FIA - ITS
Supervisor : Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D.

Abstract

Methylene blue is a synthetic dye that is mostly used in textile industries. Its presence in industrial wastes causes pollute the aquatic environments. It also affect the health and ecosystem in the environment itself due to its carcinogenic and difficult to degrade. Therefore, an effective method is needed to degrade pollutants by microorganism. In this study, the ability of the white rot fungus *Phlebia lindtneri* was investigated on decoloring the methylene blue for 28 days incubation in the liquid medium of PDB. Analysis of decolorization was measured using UV-Vis and analysis of metabolite products using LC-MS/TOF instruments. The precentage of methylene blue decolorization after 28 days incubation was $\pm 99\%$. The metabolite products of methylene blue biotransformation are $C_{16}H_{20}N_3S$; $C_{16}H_{21}N_3SO$; $C_{22}H_{31}N_3SO_5$.

Keywords: *Biotransformation, Biodecolorization, Methylene Blue, Phlebia lindtneri*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga naskah skripsi yang berjudul “Biodekolorisasi Metilen Biru oleh Jamur Pelapuk Putih *Phlebia lindtneri*” dapat terselesaikan. Ucapan terima kasih terutama disampaikan kepada :

1. Prof. Dr. Didik Prasetyoko, S.Si., M.Sc. selaku Ketua Departemen Kimia FIA ITS atas fasilitas dan pengarahan yang diberikan selama ini
2. Dra. Ratna Ediati, MS., Ph.D. selaku Kepala Program Studi S1 Departemen Kimia FIA ITS
3. Nurul Widiastuti, Ph.D selaku Dosen Wali yang selalu memberi pengarahan selama menjalankan proses perkuliahan
4. Adi Setyo Purnomo, M.Sc, Ph.D selaku Dosen Pembimbing yang memberi pengarahan dan bimbingan dalam menjalankan tugas akhir saya
5. Ayah, mama dan keluarga besar saya yang selalu memberikan semangat, dukungan dan doa untuk saya
6. Sahabat saya Yulinar, Suci, Afifah, teman-teman mahasiswa Kimia FIA-ITS, GALAXY, dan juga teman-teman Mikronian Kingdom.
7. Semua pihak yang telah membantu yang tidak mungkin saya sebutkan satu persatu

Semoga skripsi ini memberikan manfaat, baik bagi penulis maupun pembaca dalam upaya menambah wawasan tentang ilmu kimia.

Surabaya, 25 Januari 2018

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|--|------|
| LEMBAR PENGESAHAN..... | iv |
| Abstrak | v |
| Abstract | vi |
| KATA PENGANTAR..... | vii |
| DAFTAR ISI..... | viii |
| DAFTAR GAMBAR | x |
| DAFTAR TABEL | xi |
| BAB I | 1 |
| PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1 Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah..... | 4 |
| 1.3 Batasan Masalah | 4 |
| 1.4 Tujuan Penelitian | 4 |
| 1.5 Manfaat Penelitian | 4 |
| BAB II..... | 5 |
| TINJAUAN PUSTAKA..... | 5 |
| 2.1 Bioremediasi | 5 |
| 2.2 Degradasi Mikroba (Biodegradasi)..... | 5 |
| 2.3 Penghilangan Warna (<i>Biodecolorization</i>)..... | 7 |
| 2.4 Biotransformasi..... | 10 |
| 2.5 Jamur Pelapuk Putih | 10 |
| 2.6 <i>Phlebia lindtneri</i> | 12 |
| 2.7 Zat Pewarna Tekstil | 13 |
| 2.8 Zat Warna Thiazine..... | 14 |
| 2.9 Metilen Biru..... | 15 |
| 2.10 Jalur Degradasi Metilen Biru | 18 |
| 2.11 Metode Analisis | 19 |
| 2.11.1 Spektrofotometri UV-Vis..... | 19 |

| | | |
|--------------------------------------|--|----|
| 2.11.2 | <i>Liquid Chromatography-Time of Flight/Mass Spectrometer (LC-TOF/MS)</i> | 27 |
| BAB III..... | | 33 |
| METODOLOGI PENELITIAN | | 33 |
| 3.1 | Alat dan Bahan..... | 33 |
| 3.1.1 | Alat | 33 |
| 3.1.2 | Bahan | 33 |
| 3.2 | Prosedur Penelitian | 33 |
| 3.2.1 | Regenerasi Jamur <i>Phlebia lindtneri</i> | 33 |
| 3.2.2 | Persiapan Kultur Cair Jamur <i>Phlebia lindtneri</i> | 34 |
| 3.2.3 | Biotransformasi Metilen Biru oleh <i>Phlebia lindtneri</i> pada Media Cair..... | 34 |
| 3.2.4 | Analisa Biotransformasi Metilen Biru dan Metabolit Produk Menggunakan LC-MS/TOF | 35 |
| BAB IV | | 37 |
| HASIL DAN PEMBAHASAN | | 37 |
| 4.1 | Regenerasi Jamur <i>Phlebia lindtneri</i> | 37 |
| 4.2 | Proses dan Hasil Biotransformasi Metilen Biru oleh <i>P. lindtneri</i> pada Media Cair | 38 |
| 4.3 | Analisa Biotransformasi Metilen Biru dan Metabolit Produk Menggunakan LC-TOF/MS | 46 |
| BAB V | | 51 |
| KESIMPULAN | | 51 |
| 5.1 | Kesimpulan | 51 |
| 5.2 | Saran | 51 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | | 53 |
| LAMPIRAN | | 65 |
| Lampiran 1. Diagram Alir | | 65 |
| Lampiran 2. Perhitungan | | 66 |
| Lampiran 3. Data Analisa Sampel..... | | 67 |
| BIODATA PENULIS..... | | 69 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|---|----|
| Gambar 2.1 Miselium Jamur <i>Phlebia lindtneri</i> (Strid, 1975) | 13 |
| Gambar 2.2 Struktur Molekul Thiazine (Nietzki, 1888) | 15 |
| Gambar 2.3 Struktur Metilen Biru (Miclescu dkk., 2010) | 16 |
| Gambar 2.4 Jalur degradasi MB oleh <i>D. dickinsii</i> (Rizqi & Purnomo, 2017) | 19 |
| Gambar 2.5 Skema Alat Spektrofotometri UV-Vis (Mulja & Suharman, 1995)..... | 23 |
| Gambar 2.6 Skema Instrumen <i>High Performance Liquid Chromatography</i> (Ardrey, 2003)..... | 28 |
| Gambar 2.7 Skema alat TOF-MS (Lacorte, 2006)..... | 30 |
| | |
| Gambar 4.1 Regenerasi Jamur <i>P. lindtneri</i> . A: kultur hari ke 0; B: kultur hari ke 4; C: kultur hari ke 7..... | 38 |
| Gambar 4.2 Grafik profil absorbansi hasil <i>decolorization</i> MB oleh <i>P. lindtneri</i> pada hari ke 0, 7, 14, 21, 28..... | 40 |
| Gambar 4.3 Biotransformasi MB oleh <i>P. lindtneri</i> dalam media PDB. A: kontrol negatif; B: kultur hari ke 0; C: kultur hari ke 7; D: kultur hari ke 14; E: kultur hari ke 21; F: kultur hari ke 28; G: kontrol positif..... | 42 |
| Gambar 4.4 Biomassa kering jamur <i>P. lindtneri</i> . A: kontrol positif; B: hari ke 0; C: hari ke 7; D: hari ke 14; E: hari ke 21; F: hari ke 28..... | 45 |
| Gambar 4.5 Kromatogram LC hasil biotransformasi MB oleh <i>P. lindtneri</i> setelah diinkubasi selama 28 hari. (a) kromatogram kontrol; (b) kromatogram treatment ... | 47 |
| Gambar 4.6 Spektra MS Metilen Biru..... | 48 |

DAFTAR TABEL

| | |
|--|----|
| Tabel 2.1 Hubungan dosis MB dengan Dampaknya terhadap tubuh (Miclescu, 2010) | 17 |
| Tabel 2.2 Panjang gelombang untuk setiap jenis warna (Day & Underwood, 2002) | 25 |
| Tabel 2.3 Panjang gelombang berbagai warna cahaya (Day & Underwood, 2002) | 25 |
| | |
| Tabel 4.1 Prosentase <i>decolorization</i> MB oleh <i>P. lindtneri</i> | 43 |
| Tabel 4.2 Data berat kering biomassa <i>P. lindtneri</i> | 44 |
| Tabel 4.3 Hasil analisa metabolit produk dengan LC-TOF/MS ... | 49 |

*Karya ini saya persembahkan untuk
Ayah, Mama, Kakak dan seluruh keluarga
yang selalu mendukung saya
Sahabatku Cabe-cabean terbaik, Sepupu terhebat
Keluarga besar GALAXY tercinta
Teman-teman laboratorium Kimia Mikroorganisme
Keluarga besar HIMKA ITS 2016/2017
Keluarga besar Kimia FIA ITS
Yang saya sayangi*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Aktivitas perindustrian di Indonesia merupakan salah satu sektor yang sedang berkembang, sehingga berbagai jenis limbah logam berat dan organik yang dihasilkan terus meningkat dan dapat menjadi permasalahan serius bagi kesehatan dan lingkungan. Industri tekstil dan produk tekstil merupakan salah satu industri yang cukup berkembang di Indonesia. Perkembangan ini berhubungan dengan peranan tekstil sebagai salah satu kebutuhan pokok manusia selain pangan dan papan. Hal tersebut mengakibatkan konsumsi produk tekstil sebagai sandang meningkat pesat seiring dengan laju pertumbuhan penduduk. Berdasarkan data dari Hermawan (2011) melaporkan bahwa perkembangan industri tekstil dan produk tekstil di Indonesia sejak tahun 2002-2010 semakin meningkat, data terakhir pada tahun 2010 menunjukkan bahwa jumlah konsumsi industri tekstil dan produk tekstil di Indonesia telah mencapai angka 4,4 Kg/Kapita (Hermawan & Iwan, 2011). Berdasarkan data tersebut telah terjadi peningkatan industri tekstil dan produk tekstil sehingga produksi limbah industri tekstil pun juga ikut meningkat. Salah satu jenis limbah yang dihasilkan dari industri tekstil adalah limbah senyawa organik berwarna yang sulit untuk diurai.

Pewarna organik merupakan pewarna sintetik yang sering digunakan untuk pewarnaan produk-produk industri dimana keberadaannya cukup dominan dalam limbah industri tekstil, yang terdiri atas padatan tersuspensi dan zat organik terlarut yang berbahaya (Benkli, Can, Turan, & Celik, 2005). Pembuangan limbah pewarna ke lingkungan merupakan sumber pencemaran dan dapat menimbulkan bahaya, efek toksik dan mengurangi

penetrasi cahaya di perairan yang tercemar (Prado, Bolzon, Pedroso, & Moura, 2008). Pewarna sintetik yang digunakan pada industri tekstil didesain memiliki sifat yang tahan terhadap cahaya, suhu dan zat pengoksidasi. Karena sifatnya yang sulit terdegradasi dan relatif stabil ini sehingga sulit untuk dihilangkan atau dibersihkan ketika sudah tersebar ke dalam sistem perairan (Nigam, Banat, Singh, & Marchant, 1996). Zat pewarna pada umumnya terdiri dari senyawa aromatik yang menyebabkan limbah pewarna tekstil tersebut sulit terdegradasi (Qodri, 2011). Selain berbahaya bagi lingkungan, sifatnya yang karsinogenik dan mutagenik menyebabkan limbah pewarna tekstil tersebut mampu memicu kanker dan sangat berbahaya bagi makhluk hidup (Sugiharto, 1987).

Salah satu pewarna sintetik yang dipakai dalam industri tekstil adalah metilen biru (MB). Zat warna MB merupakan zat warna thiazine yang menjadi dasar dalam pewarnaan kulit, kain mori, kain katun, dan tannin (Hamdaoui & Chiha, 2006). Penanganan yang dinilai cukup efisien dan cukup murah adalah penanganan dengan cara biologis. Metoda yang digunakan dalam cara biologis yaitu dengan metoda biodegradasi. Pada metoda ini penanganan limbah dilakukan dengan memanfaatkan aktifitas biologis dari mikroorganisme dalam mendegradasi limbah pewarna tekstil.

Lebih dari sepuluh tahun terakhir, pemanfaatan kemampuan degradasi dari beberapa jamur pelapuk putih telah dipelajari secara mendalam sehubungan dengan keterkaitannya dalam penghilangan warna (*decolorization*) pewarna sintetik. Jamur pelapuk putih tidak hanya mampu mendegradasi lignin secara signifikan (Kirk & Fenn, 1982), tapi juga mampu mendegradasi berbagai macam senyawa kimia berbahaya, termasuk pestisida, hidrokarbon poliaromatik, PCB, senyawa

aromatik terhalogenasi, pewarna sintetik, TNT dan bahan kimia beracun seperti sianida, azida, karbon tetrakorida dan pentaklorofenol (Higson 1991; Reddy 1995; Steffen dkk., 2002; Mori dkk., 2003). Kemampuan biodegradasi dari jamur pelapuk putih dikarenakan adanya aktivitas enzim ekstraseluler yang dihasilkannya (Barr dan Aust 1994; Sack dan Gunther 1993; Tien dan Kirk 1988). Secara khusus, mangan peroksidase (MnP), lakase dan beberapa enzim peroksidase yang lainnya telah dilaporkan memiliki kemampuan dalam mendegradasi pewarna sintetik (Levin dkk., 2004; Michniewicz dkk., 2008). Kebanyakan penelitian terkait kemampuan degradasi pewarna sintetik ini hanya terfokus pada penggunaan jamur pelapuk putih tertentu seperti *Phanerochaete chrysosporium* (Glenn dan Gold, 1983), *Trametes versicolor* (Kapdan dkk., 2000), *Dichomitus squalens* (Eichlerová dkk., 2006), *Bjerkandera adusta* (Eichlerová dkk., 2007), *Funalia trogii* (Park dkk., 2007), *Schizophyllum commune* (Asgher dkk., 2008), *Phanerochaete sordida* dan *Tyromyces lauteus* (Chen dkk., 2008).

Salah satu jenis jamur pelapuk putih yang mampu menghasilkan enzim ekstraseluler adalah *Phlebia lindtneri*. Jamur ini telah banyak dilaporkan mengenai kemampuannya dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon aromatik terklorinasi seperti dioksin dan DDT melalui reaksi hidroksilasi cincin aromatik (Mori dan Kondo 2002; Kamei dkk., 2005; Xiao dkk., 2011). Berdasarkan informasi tersebut terlihat bahwa *Phlebia lindtneri* memiliki kemampuan dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon aromatik termodifikasi dengan kemampuan pemecahan cincin aromatik melalui reaksi hidroksilasi. Hal ini menjadi dasar untuk menguji kemampuan degradasi dari *P.lindtneri* terhadap pewarna sintetik metilen biru (MB), dimana berdasarkan strukturnya MB termasuk dalam senyawa hidrokarbon aromatik termodifikasi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, permasalahan yang diangkat pada penelitian ini adalah dampak metilen biru yang berbahaya bagi lingkungan serta makhluk hidup, sehingga perlu dilakukan proses degradasi. Degradasi yang dilakukan pada penelitian ini adalah degradasi secara biologi melalui proses penghilangan warna (*decolorization*) dan transformasi dengan memanfaatkan mikroorganisme yaitu jamur pelapuk putih *P. lindtneri*. Jamur pelapuk putih *P. lindtneri* ini memiliki kemampuan dalam mendegradasi beberapa polutan, tetapi belum pernah digunakan untuk menghilangkan warna (*biodecolorization*) dari MB, sehingga perlu dilakukan penelitian.

1.3 Batasan Masalah

Permasalahan pada penelitian ini dibatasi pada penggunaan konsentrasi MB sebesar 100 mg/L. Degradasi MB dilakukan dengan variasi waktu inkubasi 7, 14, 21, dan 28 hari pada suhu 30°C.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan jamur *P. lindtneri* dalam mentransformasi MB dan mengidentifikasi metabolit produk yang dihasilkan.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini antara lain:

1. Memberikan data ilmiah mengenai kemampuan jamur *P. lindtneri* dalam mentransformasi MB
2. Memberikan referensi dan alternatif yang aktual mengenai penanganan limbah pewarna tekstil khususnya MB

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bioremediasi

Bioremediasi merupakan salah satu perluasan ilmu dari bioteknologi lingkungan yang merupakan aplikasi dari penanganan polutan secara biologis. Sebagian besar bioremediasi fokus pada penanganan polutan organik secara biologis. Metode yang dipakai adalah dengan mengubah senyawa polutan dari senyawa yang kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana dan mendetoksifikasi polutan dengan memanfaatkan mikroorganisme. Pada umumnya mikroorganisme yang digunakan dalam bioremediasi adalah bakteri dan jamur (Gadd & Geof, 2001). Beberapa metode yang merupakan bioremediasi antara lain: degradasi mikroba (biodegradasi), penghilangan warna (*biodecolorization*), biotransformasi, dan lain-lain.

2.2 Degradasi Mikroba (Biodegradasi)

Biodegradasi merupakan salah satu cabang dari bioteknologi lingkungan dimana memanfaatkan aktivitas mikroorganisme dalam menguraikan senyawa-senyawa besar/kompleks menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana sehingga lebih ramah lingkungan (Yani, Fauzi, & Aribowo, 2003). Biodegradasi merupakan proses penguraian (degradasi) oleh aktivitas mikroba yang mengakibatkan transformasi struktur suatu senyawa sehingga terjadi perubahan integritas molekular. Biodegradasi juga dapat diartikan sebagai proses aktivitas enzimatis oleh mikroba untuk menyederhanakan substrat. Agar biodegradasi dapat berlangsung efektif, diperlukan kondisi lingkungan yang cocok untuk menunjang pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Secara umum terjadinya suatu proses

biodegradasi suatu senyawa oleh mikroba disebabkan oleh produk-produk enzim tertentu yang dihasilkan oleh mikroba itu sendiri. Biodegradasi oleh mikroorganisme, merupakan salah satu cara yang tepat, efektif dan hampir tidak ada pengaruh sampingan pada lingkungan karena tidak menghasilkan racun ataupun blooming (peledakan jumlah bakteri). Dalam beberapa kasus pencemaran lingkungan, biodegradasi dapat berlangsung secara alamiah. Hal tersebut disebabkan karena adanya mikroorganisme yang telah beradaptasi untuk mendegradasi polutan pada lingkungan tersebut. Adanya adaptasi tersebut ditandai dengan peningkatan laju biodegradasi polutan oleh mikroorganisme (Bollag & Bollag, 1992).

Dalam biodegradasi ada beberapa metode yang dapat dilakukan untuk meningkatkan kecepatan biodegradasi yaitu metode indigenous (biostimulasi) dan metode eksogenous (bioaugmentasi). Metode biostimulasi adalah penambahan nutrisi untuk menstimulasi mikroorganisme, biasanya dapat berupa penambahan bahan kimia yang bertindak sebagai akseptor elektron atau donor elektron untuk meningkatkan bioavailabilitas. Metode bioaugmentasi adalah penambahan mikroorganisme. Faktor-faktor yang mempengaruhi biodegradasi antara lain temperatur, oksigen, tekanan, kadar air, pH, tekstur tanah dan surfaktan (Nirmala, Asri, & Novianty, 2006).

Kadar air atau kelembaban sangat penting dalam proses biodegradasi, hal ini dikarenakan untuk mendegradasi mikroorganisme yang digunakan harus berada pada tingkat kelembaban tertentu. Kelembaban optimum untuk melakukan biodegradasi adalah 30-90%. Kelembaban yang terlalu rendah menyebabkan kekeringan dan apabila terlalu tinggi akan mengurangi penyediaan oksigen (Dibble & Bartha, 1979). Dalam proses biodegradasi suhu lingkungan juga mempengaruhi proses

dari biodegradasi, hal ini dikarenakan suhu lingkungan mempengaruhi kemampuan mikroorganisme dalam mendegradasi dimana suhu tersebut dapat mempengaruhi reaksi-reaksi biokimia yang terjadi (Atlas, 1981). Hal lain yang mempengaruhi proses biodegradasi yaitu pH tanah. pH tanah mempengaruhi laju biodegradasi baik secara langsung maupun tidak langsung, bakteri umumnya tumbuh dengan baik pada pH 6,0-8,0 (Udiharto, 1996). Kadar oksigen juga menjadi salah satu faktor yang berpengaruh pada biodegradasi dikarenakan dalam biodegradasi oksigen dibutuhkan sebagai akseptor elektron hal ini disebabkan dasar proses biodegradasi adalah oksidasi. Kekurangan oksigen dapat menyebabkan laju biodegradasi menurun tajam (Cooney, 1984).

2.3 Penghilangan Warna (*Biodecolorization*)

Biodecolorization merupakan proses biologi dari *decolorization*. Dengan kata lain *biodecolorization* dapat diartikan sebagai proses penghilangan warna suatu senyawa dengan memanfaatkan suatu organisme. Hilangnya warna pada *biodecolorization* terjadi karena adanya perubahan struktur dari zat pembawa warna (kromofor) yang diakibatkan oleh proses metabolisme dari organisme yang digunakan untuk biodekolorisasi. Dalam proses *biodecolorization* terdapat dua metode utama yaitu dengan metode absorpsi dan biodegradasi. Namun tak menutup kemungkinan dalam satu organisme mampu melakukan kedua metode *biodecolorization* tersebut (Gadd & Geof, 2001).

Dalam metode absorpsi penghilangan warna terjadi karena adanya penyerapan kromofor pewarna oleh miselium jamur. Kemampuan miselium menyerap kromofor didasarkan pada adanya perbedaan tegangan permukaan antara miselium dan kromofor sehingga kromofor akan terserap oleh miselium. Dalam

metode biodegradasi penghilangan warna terjadi karena adanya perubahan struktur molekul atau pemecahan molekul pewarna oleh metabolisme organisme yang digunakan. Perubahan struktur molekul atau pemecahan molekul yang terjadi pada metode biodegradasi dapat diakibatkan oleh interaksinya dengan enzim pendegradasi atau masuknya zat warna pada metabolisme organisme pendegradasinya. Adanya perubahan struktur maupun pemecahan molekul pewarna tersebut dapat mengakibatkan hilangnya warna pada zat warna yang didegradasi (Gadd, 2001).

Dalam *biodecolorization*, metode yang sering digunakan untuk mengukur terjadinya proses *decolorization* adalah dengan pengukuran absorbansi. Dalam pengukuran proses *decolorization* dilakukan dua kali pengukuran absorbansi. Pengukuran absorbansi pada λ_{\max} pertama dilakukan sebelum treatment. Pengukuran absorbansi pertama tersebut dijadikan sebagai kontrol. Selanjutnya setelah dilakukan treatment dilakukan pengukuran kedua pada λ_{\max} yang sama. Apabila terjadi penurunan nilai absorbansi maka hal tersebut mengindikasikan terjadinya proses penghilangan warna (*decolorization*) (Gadd, 2001). Dalam pengukuran *decolorization* menggunakan metode absorbansi, untuk senyawa yang telah diketahui konsentrasinya dapat dimungkinkan menggunakan absorbansi diatas satu. Hal tersebut dikarenakan pengukuran *decolorization* pada senyawa tersebut hanya melibatkan perbandingan antara absorbansi awal dengan absorbansi hasil treatment (Akdogan, 2014). Dalam penelitiannya, Akdogan (2014) mengukur prosentase *decolorization* pewarna *reactive blue 19* oleh *Coprinus plicatilis* dimana absorbansi awalnya mencapai 2,4. Dalam penelitian lain Papic (2009) melakukan penelitian *decolorization* pewarna *reactive yellow 3* (RY 3), *reactive blue 2* (RB 2) dan *reactive violet 2* (RV 2) oleh reaksi Fenton dimana dalam penelitian tersebut absorbansi awal RY 3 sebesar 1,847,

absorbansi awal RB2 sebesar 1,082, dan absorbansi awal RV2 sebesar 2,107 (Pacic, Vujevic, Koprivanac, & Sinko, 2009). Metode pengukuran absorbansi tersebut dapat digunakan untuk menentukan *decolorization* yang terjadi merupakan degradasi atau adsorpsi. Penghilangan warna (*decolorization*) merupakan degradasi apabila rasio absorbansinya berkurang dan apabila rasio absorbansinya cenderung konstan maka proses tersebut merupakan adsorpsi (Gadd, 2001).

Dalam *biodecolorization* terdapat beberapa kondisi yang mempengaruhi kinerja jamur dalam proses *decolorization*. Kondisi yang mempengaruhi antara lain: kondisi buffer/pH, nutrisi, dan temperatur. Setiap jamur memiliki pH optimal untuk dapat melakukan *decolorization*. Sebagian besar jamur dapat melakukan proses *decolorization* optimal pada suasana asam pada range 4-5,5. Apabila pH terlalu tinggi (> 7) *decolorization* tidak akan terjadi dan baru akan terjadi ketika pH tersebut berkurang hingga mencapai pH optimalnya. Hubungan antara pH optimum dengan kemampuan jamur mendegradasi berkaitan dengan keoptimalan kinerja enzim pendegradasi yang dimiliki oleh jamur tersebut. Sebagian besar enzim pendegradasi lebih optimal bekerja pada range pH 4-5,5. Apabila pH terlalu tinggi atau rendah enzim tersebut tidak stabil dan tidak mampu bekerja secara maksimal (Gadd, 2001). Faktor lain yang mempengaruhi kinerja jamur dalam melakukan degradasi adalah nutrien. Adanya sumber karbon, nitrogen, dan vitamin/mineral dalam kultur mempengaruhi perkebangsan jamur dan kemampuannya mendegradasi. Adanya sumber karbon berfungsi untuk menstimulasi pertumbuhan dan menyediakan suplai oksidan sebagai sumber tenaga untuk proses degradasi. Sumber nitrogen dalam nutrien berperan sebagai penstimulus pembentukan enzim pendegradasi pada jamur sehingga hasilnya lebih maksimal. Adanya sumber mineral dan

vitamin dalam nutrien berfungsi untuk menstimulasi kemampuan jamur untuk mendegradasi. Selain kondisi pH dan nutrien, kondisi temperatur kultur juga mempengaruhi kemampuan jamur dalam mendegradasi. Sebagian besar jamur mampu tumbuh optimal pada temperatur 27-30°C. Apabila suhu yang digunakan terlalu tinggi dapat mengakibatkan denaturasi enzim pendegradasi sehingga kinerjanya dapat berkurang (Gadd,2001).

2.4 Biotransformasi

Biotransformasi adalah bagian dari bioremediasi. Dimana biotransformasi merupakan suatu proses yang umumnya mengubah senyawa asal menjadi senyawa metabolitnya. Di dalam kasus tertentu metabolit dapat bersifat lebih toksik daripada senyawa asalnya. Reaksi semacam ini dikenal sebagai “bioaktivasi” (Frank, 1995). Sebagai contoh metabolit hasil reaksi sitokrom P-450, yakni epoksida, senyawa halogen dan nitro aromatik, serta senyawa alifatik tak jenuh (Mannervik & Danileson, 1988).

Meknisme biotransformasi dibagi ke dalam dua jenis utama :

- a. Reaksi Fase I, melibatkan reaksi oksidasi, reduksi, dan hidrosilasi
- b. Reaksi fase II, merupakan produksi suatu senyawa melalui konjugasi toksikan atau metabolitnya dengan suatu metabolit endogen

(Mannervik & Danileson, 1988)

2.5 Jamur Pelapuk Putih

Jamur pelapuk putih merupakan elemen penting dalam ekosistem hutan, berperan penting dalam sirkulasi karbon. Jamur

pelapuk putih merupakan kelompok *basidiomycetes* yang paling efektif mendegradasi lignin dari kayu (Perez, J M, Rubia, & Martinez, 2002). Referensi lain menyatakan bahwa jamur ini paling efektif dalam perlakuan pendahuluan secara biologis pada bahan-bahan lignoselulosa (Sun & Cheng, 2002). Jamur ini memproduksi serangkaian enzim yang terlibat langsung dalam perombakan lignin, sehingga sangat membantu proses delignifikasi pada biomassa lignoselulosa.

Pujirahayu dan Marsoem (2006) menyatakan bahwa jamur pelapuk putih dikenal paling potensial sebagai pendegradasi lignin dari kebanyakan mikroorganisme dan mampu memproduksi enzim ekstraseluler ligninolitik. Saat ini dikenal tiga tipe enzim ekstraseluler ligninolitik yaitu lignin peroksidase (LiP), manganese peroxidase (MnP), dan laccase (Lac). Secara umum LiP mendegradasi komponen non-fenolik sedangkan MnP mampu dalam mendegradasi komponen fenolik dari lignin. Proses degradasi lignin ini dimulai saat jamur pelapuk putih menembus dan membentuk koloni dalam sel kayu, lalu mengeluarkan enzim yang berdifusi melalui lumen dan dinding sel. Jamur ini menyerang komponen lignin dari kayu hingga menyisakan selulosa dan hemiselulosa yang tidak terlalu berpengaruh. Akibatnya, terjadi penurunan kekuatan fisik kayu dan pembengkakan jaringan kayu (Sigit, 2008).

Jamur pelapuk putih tidak hanya mampu mendegradasi lignin secara signifikan (Kirk & Farrell 1982), tapi juga mampu mendegradasi berbagai macam senyawa kimia berbahaya, termasuk pestisida, hidrokarbon poliaromatik, PCB, senyawa aromatik terhalogenasi, pewarna sintesis, TNT dan bahan kimia beracun seperti sianida, azida, karbon tetrakorida dan pentaklorofenol (Higson 1991; Mori dkk., 2003; Reddy 1995; Steffen dkk., 2002). Kemampuan biodegradasi dari jamur pelapuk

putih diakibatkan adanya aktivitas enzim ekstraseluler yang dihasilkannya (Tien dan Kirk 1988; Sack dan Gunther 1993; Barr dan Aust 1994). Secara khusus, mangan peroksidase (MnP), lakase dan beberapa enzim peroksidase yang lainnya telah dilaporkan memiliki kemampuan dalam menghilangkan warna dari pewarna sintesis (Levin dkk., 2004; Michniewicz dkk., 2008). Kebanyakan penelitian terkait kemampuan degradasi pewarna sintesis ini hanya terfokus pada penggunaan jamur pelapuk putih tertentu seperti *Phanerochaete chrysosporium* (Glenn dan Gold, 1983), *Trametes versicolor* (Kapdan dkk., 2000), *Dichomitus squalens* (Eichlerová dkk., 2006), *Bjerkandera adusta* (Eichlerová dkk., 2007), *Funalia trogii* (Park dkk., 2007), *Schizophyllum commune* (Asgher dkk., 2008), *Phanerochaete sordida* dan *Tyromyces lauteus* (Chen dkk., 2008).

2.6 *Phlebia lindtneri*

Phlebia lindtneri merupakan spesies jamur yang tergolong dalam white rot fungi / jamur pelapuk putih. Jamur ini merupakan organisme saprofit yang biasanya ditemukan di kayu keras dan sebagian besar ditemukan di pepohonan mengakibatkan pelapukan pada kayu dengan meninggalkan residu putih. Secara umum jamur ini memiliki spora berwarna putih. Pemeriksaan secara mikroskopis menunjukkan rincian spora yang halus, berbentuk seperti benang halus berukuran 3,5-7 x 1-3 μm seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.1 (Strid, 1975).

Telah banyak penelitian yang melaporkan bahwa jamur *P. lindtneri* memiliki kemampuan dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon aromatik termodifikasi dengan kemampuan pemecahan cincin aromatik melalui reaksi hidroksilasi. Salah satunya yaitu senyawa hidrokarbon aromatik terklorinasi seperti

dioksin, heptaklor dan DDT (Mori dan Kondo 2002; Kamei dkk., 2005; Xiao dkk., 2010).

Taksonomi dari jamur *P. lindtneri* adalah sebagai berikut :

| | |
|----------|--|
| Kerajaan | : Fungi |
| Filum | : Basidiomycota |
| Kelas | : Agaricomycetes |
| Bangsa | : Polyporales |
| Keluarga | : Meruliaceae |
| Marga | : <i>Phlebia</i> |
| Jenis | : <i>Phlebia lindtneri</i> (Strid, 1975) |



Gambar 2.1 Miselium Jamur *Phlebia lindtneri* (Strid, 1975)

2.7 Zat Pewarna Tekstil

Zat warna merupakan suatu senyawa yang mampu memberikan warna pada suatu objek tertentu. Kemampuan memberi warna tersebut berkaitan dengan proses terjadinya warna dimana senyawa tersebut mengabsorb energi dan mengemisikannya pada daerah panjang gelombang sinar tampak yaitu 400-700 nm. Pada umumnya senyawa yang mampu menimbulkan serapan pada panjang gelombang tersebut merupakan senyawa organik tak jenuh yang memiliki sistem konjugasi (Sugiharto, 1987).

Secara umum zat warna terdiri dari gabungan antara zat organik tak jenuh dengan gugus kromofor dan auksokrom. Zat organik tak jenuh yang digunakan dalam pembentukan zat warna dapat berupa senyawa hidrokarbon aromatik dan turunannya, senyawa fenol dan turunannya serta senyawa-senyawa hidrokarbon yang mengandung nitrogen. Dalam pembentukan zat warna, gugus kromofor berfungsi sebagai pembawa warna dan auksokrom sebagai pengikat warna. Beberapa contoh gugus kromofor antara lain gugus nitroso (NO), Nitro (NO₂ / NN-OOH), grup azo (R-N=N-R'), grup karbonil (-C=O), dsb. Gugus aksokrom dibagi menjadi dua golongan yaitu golongan kation (-NII₂; NIIR; j -NR₂) dan golongan anion (-SO₃H; -OH; -COOH) (Manurung, Renita, Rosdaneli, & Irvan, 2004).

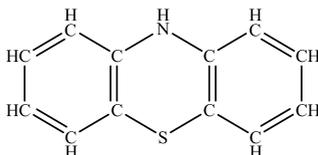
Zat warna dapat diklasifikasikan berdasarkan struktur kromofornya dan cara pengaplikasiannya pada substrat. Beberapa pengelompokan pewarna berdasarkan struktur kromofornya antara lain: pewarna azo, antrakuinon, heterosiklik, trifenil metan, thiazine dan sebagainya. Pengelompokan pewarna berdasarkan cara pengaplikasiannya pada substrat dibagi menjadi beberapa kelompok antara lain : pewarna *reactiv*, pewarna *direct*, pewarna *vat*, pewarna *sulfur*, pewarna *disperse*, pewarna *basic*, pewarna *solvent*, pewarna *mordant* dan pewarna *asam* (Gadd, 2001).

2.8 Zat Warna Thiazine

Pewarna thiazine merupakan pewarna dengan kromofor utama gugus thiazine. Pewarna jenis ini memiliki kesamaan struktur dengan indamin dan indophenol dimana ketiganya sama-sama memiliki struktur thiodipenilamine. Hal yang membuat berbeda adalah pewarna thiazine memiliki satu atom sulfur pada molekulnya, sedangkan indamin dan indophenol tidak memiliki atom sulfur. Atom sulfur pada molekul thiazine menghubungkan

dua cincin benzen pada molekul thiazine dengan posisi orto terhadap gugus imido dan posisi para terhadap atom N. Hal tersebut membuat gugus thiodipenilamine pada thiazine memiliki tiga cincin dimana struktur dari molekul thiazine digambarkan pada Gambar 2.2 (Nietzki, 1888).

Senyawa thiazine dapat dibuat melalui reaksi antara gugus amido dengan thiodiphenilamin dan oksidasi yang menghasilkan gugus leuco. Jika paradiamin dioksidasi dengan adanya hidrogen tersulfurasi dalam larutan asam maka satu atom nitrogen akan terlepas sebagai amonia dan dua molekul diamin akan bersatu. Selanjutnya atom sulfur akan masuk diantara duamolekul diamin yang bersatu sehingga menghasilkan senyawa thiazine (Nietzki, 1888).



Gambar 2.2 Struktur Molekul Thiazine (Nietzki, 1888)

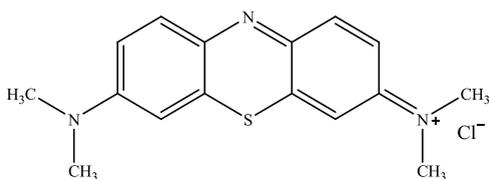
Pewarna thiazine memiliki kestabilan yang lebih tinggi dibandingkan indophenol. Hal tersebut dikarenakan senyawa ini tidak menghasilkan kuinon ketika direaksikan dengan asam. Secara umum senyawa thiazine ini mampu menghasilkan warna ungu dan biru. Pewarna thiazine yang sering digunakan antara lain metilen biru (MB), thionoline, oksithiodiphenilamide, thionol dan sebagainya (Nietzki, 1888).

2.9 Metilen Biru

Metilen Biru (MB) merupakan pewarna dengan rumus molekul ($C_{16}H_{18}ClN_3 \cdot 3H_2O$) dan memiliki nama kimia *[3,7-bis(dimetilamino)-phenazathionium chloride tetramethylthionine*

chloride]. Berdasar strukturnya MB merupakan pewarna thiazine kationik yang merupakan senyawa heterosiklik aromatik dimana struktur MB digambarkan pada Gambar 2.3 (Miclescu dkk., 2010).

MB memiliki warna biru gelap dalam keadaan teroksidasi dan tidak berwarna dalam bentuk reduksinya (leuco MB). MB dan leukometilen biru keduanya ada dalam larutan dan menjadi pasangan reaksi reduksi oksidasi reversibel atau pasangan pemberi dan penerima elektron (Chatwal & Gurdeep, 2009). MB pertama kali disintesis oleh Caro pada tahun 1876. Caro mensintesis MB dalam skala industri dengan cara mengoksidasi dimethylparaphenylenediamin dalam hidrogen tersulfurasi (Nietzki, 1888). Secara fisik MB memiliki warna biru gelap- hijau dalam keadaan teroksidasi dan tidak berwarna dalam keadaan tereduksi. MB memiliki berat molekul 319 g/mol dan titik leleh pada 180°C. MB larut dalam air dengan kelarutan sebesar 35,5 g/l (Miclescu, 2010).



Gambar 2.3 Struktur Metilen Biru (Miclescu dkk., 2010)

Secara farmakokinetik, MB memiliki volume distribusi dalam tubuh sebesar 20mg/kg. MB dapat terabsorb oleh mulut sebesar 53-97% dan mampu terionisasi sempurna pada pH lambung. Secara metabolisme, MB dapat tereduksi dalam jaringan tubuh menjadi leucoMB (65-85%). MB dapat disekresikan oleh tubuh dalam bentuk leucoMB yang terkandung dalam empedu, feses dan urine (Miclescu, 2010).

Tabel 2.1 Hubungan dosis MB dengan Dampaknya terhadap tubuh (Miclescu, 2010)

| Objek Pengamatan | Dosis MB | Dampak |
|------------------|------------------------------------|--|
| Tikus Got | 5-50 mg/kg 1250 mg/kg (LD50) | <ul style="list-style-type: none"> - Kerusakan neuron - Penguranganisofluran MAC |
| Tikus putih | 3500 mg/kg | |
| Kambing | 40 mg/kg | |
| Anjing | 10-20 mg/kg | <ul style="list-style-type: none"> - Hipotensi - Pengurangan SVR - Penyumbatanalirandarah - Hipertensi pulmonary |
| Manusia | 2-4 mg/kg | Hemolitik amonia, Kerusakan kulit pada bayi |
| | 7 mg/kg | Mual, Muntah, Gangguan pencernaan, nyeri pada dada, demam, perusakan hemoglobin |
| | 7,5 mg/kg | Hiperpyrexia, Pusing |
| | 20 mg/kg | Hipotensi |
| | 80 mg/kg | Sianosis, Pembiruan pada kulit |

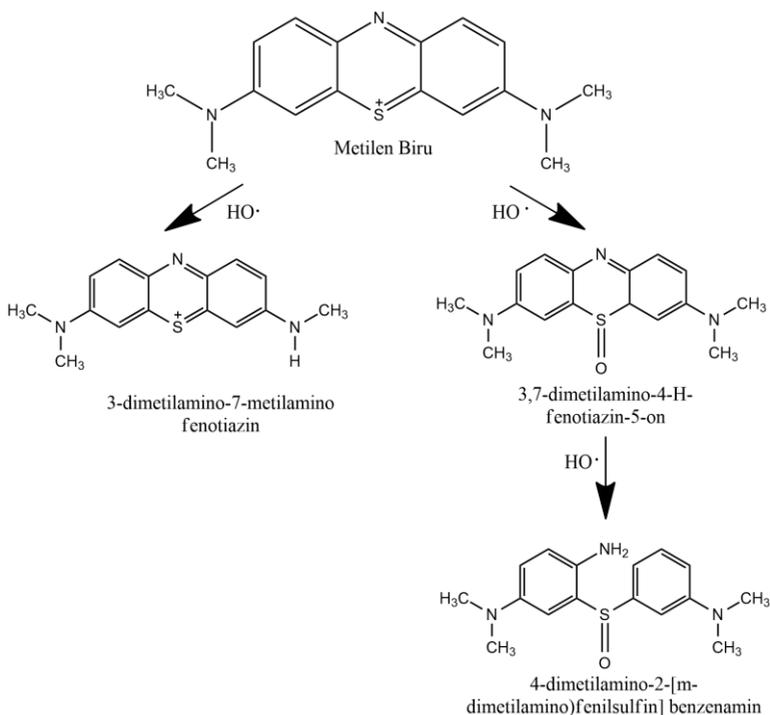
Pada awalnya MB ditemukan sebagai obat. Pada tahun 1891 aktivitas pelumuran MB diteliti oleh Paul Ehrlich sebagai dasar pengembangan kemoterapi modern. Selanjutnya pada abad 19-20, MB digunakan sebagai obat malaria pada manusia. Namun seiring berjalannya waktu penggunaan MB sebagai obat membawa

efek negatif bagi tubuh antara lain membuat urine menjadi berwarna hijau dan pembiruan pada sklera. Dalam dosis tertentu MB juga memberi dampak racun pada hewan dan manusia (Miclescu, 2010). Hubungan antara dosis MB terhadap dampaknya bagi tubuh digambarkan dalam Tabel 2.1.

Melihat banyaknya dampak negatif MB, penggunaan MB sebagai obat mulai dikurangi dan cenderung digunakan sebagai pewarna tekstil. Hal tersebut dikarenakan MB mudah didapat dan harganya yang cukup murah (Hamdaoui dan Chiha, 2006). MB secara prinsip merupakan pewarna kain katun. MB sulit digunakan sebagai pewarna pada kain wol. Hal ini disebabkan MB memiliki afinitas yang rendah terhadap serat wol. Namun MB merupakan pewarna yang baik pada kain katun dan sutra karena seratnya yang halus (Nietzki, 1888). Dalam industri tekstil MB biasa digunakan sebagai pewarna kulit, kain mori, kain katun, sutra dan tanin (Hamdaoui dan Chiha, 2006).

2.10 Jalur Degradasi Metilen Biru

Senyawa metilen biru sudah pernah dilaporkan berhasil terdegradasi, salah satunya adalah penelitian yang dilakukan oleh Rizqi & Purnomo (2017) tentang biodegradasi MB oleh jamur pelapuk coklat *Daedalea dickinsii* dengan reaksi Fenton, dimana terjadi pemutusan ikatan pada gugus kromofor oleh adanya serangan hidroksi radikal bebas menghasilkan senyawa yang lebih sederhana. Hasil degradasi oleh jamur pelapuk coklat ini diketahui menghasilkan 2 jalur degradasi, dimana senyawa metabolit yang dihasilkan dari degradasi metilen biru adalah 3-(dimethylamino)-7-(methylamino) phenothiazine, 3,7-bis (dimethylamino)-4 α H-phenothiazin-5-one, 4-(dimethylamino)-2-[m-(dimethylamino) phenylsulfinyl] benzenamine (Rizqi & Purnomo, 2017). Jalur degradasi yang telah dilaporkan ditunjukkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Jalur degradasi MB oleh *D. dickinsii* (Rizqi & Purnomo, 2017)

Senyawa-senyawa hasil degradasi MB tersebut juga ditemukan pada penelitian degradasi MB dengan metode fotokatalitik oleh Rauf (2010) dan penelitian degradasi MB dengan metode tekanan dielektrik yang telah dilaporkan oleh Huang (2010).

2.11 Metode Analisis

2.11.1 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan instrumentasi yang digunakan untuk mengukur serapan yang dihasilkan dari interaksi

kimia antara radiasi elektromagnetik dengan molekul atau atom dari suatu zat kimia pada daerah sinar ultraviolet (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm). Jangkauan panjang gelombang yang tersedia untuk pengukuran membentang dari panjang gelombang pendek ultraviolet sampai ke garis inframerah (Skoog, Douglas, Holler, & Crouch, 1998).

Prinsip dari spektrofotometri UV-VIS adalah mengukur jumlah cahaya yang diabsorpsi atau ditransmisikan oleh molekul-molekul di dalam larutan, sebagian energi cahaya tersebut akan diserap (diabsorpsi). Besarnya kemampuan molekul-molekul zat terlarut untuk mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu dikenal dengan istilah absorbansi (A), yang setara dengan nilai konsentrasi larutan tersebut dan panjang berkas cahaya yang dilalui ke suatu titik dimana presentase jumlah cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi diukur dengan *phototube* (Harmita, 2006).

Munculnya spektra pada spektrofotometri UV-VIS erat kaitannya dengan eksitasi elektron pada tingkat energi elektronik. Suatu molekul yang sederhana apabila dikenakan radiasi elektromagnetik akan mengabsorpsi radiasi elektromagnetik yang energinya sesuai. Interaksi tersebut akan meningkatkan energi potensial elektron pada tingkat keadaan tereksitasi. Apabila pada molekul yang sederhana tersebut hanya terjadi transisi elektronik pada satu macam gugus, maka akan terjadi satu absorpsi yang merupakan garis spektrum.

Pada dasarnya spektrum UV-VIS merupakan korelasi antara absorbansi pada sumbu ordinat dan panjang gelombang sebagai sumbu absis. Spektrum yang dihasilkan akan berupa pita spektrum bukan dalam bentuk spektrum garis. Terbentuknya pita spektrum UV-VIS tersebut disebabkan adanya transisi energi yang tidak sejenis dan terjadinya eksitasi elektronik lebih dari satu

macam pada gugus molekul yang kompleks. Terjadinya beberapa jenis transisi pada sebuah gugus molekul yang tumpang tindih dengan energi elektronik akan memberikan satu spektrum UV-VIS (Mulja & Suharman, 1995).

Data yang diperoleh dengan spektrofotometri UV-VIS biasanya berupa panjang gelombang maksimum (λ maks). Panjang gelombang maksimum merupakan panjang gelombang dimana terjadinya eksitasi elektronik yang memberikan absorbansi yang terbesar. Penentuan panjang gelombang maksimum yang pasti (tetap) dapat dipakai untuk identifikasi molekul yang bersifat karakteristik sebagai data sekunder. Dengan demikian spektrum UV-VIS dapat dipakai untuk tujuan analisis kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif hanya dipakai sebagai data pendukung yang perhitungannya memakai kaidah Woodward dan kaidah Fisher-Kuhn. Pokok kegunaan analisis spektrofotometri UV-VIS adalah untuk analisis kuantitatif karena melibatkan energi eksitasi yang cukup besar (Mulja & Suharman, 1995).

Spektrofotometri sederhana terdiri dari beberapa bagian antara lain :

a. Sumber Cahaya

Beberapa sumber cahaya yang dipakai pada spektrofotometer UV-VIS antara lain lampu deuterium, lampu tungsten dan lampu merkuri. Lampu deuterium dapat dipakai pada daerah panjang gelombang 190 nm sampai 380 nm (daerah ultraviolet dekat), karena pada rentang panjang gelombang tersebut sumber cahaya deuterium memberikan spektrum energi radiasi yang lurus. Sumber cahaya tungsten merupakan campuran dari filamen tungsten dan gas iodin (halogen). Sumber cahaya tungsten ini dipakai pada spektrofotometer UV-VIS sebagai sumber radiasi pada daerah pengukuran sinar tampak dengan rentang panjang gelombang 380-900nm. Sumber Cahaya merkuri merupakan

sumber cahaya yang mengandung uap merkuri bertekanan rendah dan biasanya sumber radiasi merkuri ini dipakai untuk mengecek atau kalibrasi panjang gelombang pada spektrofotometer UV-VIS pada daerah ultraviolet khususnya di sekitar panjang gelombang 365nm (Mulja & Suharman, 1995).

b. Monokromator

Monokromator merupakan alat yang berfungsi sebagai penyeleksi cahaya dengan panjang gelombang tertentu. Monokromator akan memisahkan radiasi cahaya putih yang polikromatis menjadi cahaya monokromatis (Harmita, 2006).

Bagian lain yang juga cukup penting dalam monokromator yaitu prisma dan kisi. Prisma dan kisi pada prinsipnya akan mendispersi radiasi elektromagnetik sebesar mungkin supaya didapatkan resolusi yang baik dari radiasi polikromatis. Pada umumnya prisma terbuat dari leburan silika sedangkan kisi terbuat dari lempengan kaca yang pada permukaannya dilapisi oleh resin sintesis dengan garis-garis (1200 garis tiap cm) yang kemudian dilapisi lagi dengan kaca alumunium (Mulja & Suharman, 1995).

c. Kuvet

Kuvet atau sel merupakan wadah sampel yang akan dianalisis. Ditinjau dari pemakaiannya kuvet terdiri dari dua macam yaitu kuvet yang permanen dan kuvet satu kali pemakaian. Kuvet yang terbuat dari leburan silika dapat dipakai untuk analisis kualitatif dan kuantitatif pada daerah pengukuran 190-1100nm dan kuvet dari bahan gelas dipakai pada daerah pengukuran 380-1100 nm. Hal ini dikarenakan bahan dari gelas mampu mengabsorpsi radiasi UV (Mulja & Suharman, 1995).

d. Detektor

Detektor merupakan salah satu bagian dari spektrofotometer UV-Vis yang cukup penting. Kualitas dari detektor akan menentukan kualitas spektrofotometer UV-VIS. Fungsi dari detektor pada spektrofotometer UV-VIS adalah untuk mengubah sinyal radiasi yang diterima menjadi sinyal elektronik (Mulja & Suharman, 1995).

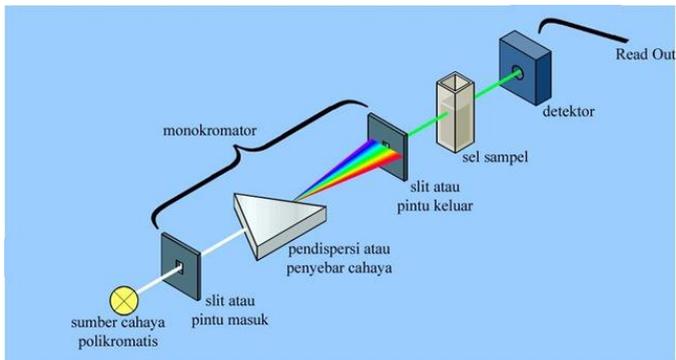
e. Amplifier

Dalam instrumen spektrofotometer UV-VIS amplifier berfungsi sebagai penguat sinyal listrik. Sinyal elektronik yang dihasilkan oleh detektor akan diamplifikasikan oleh amplifier ke detektor (Mulja & Suharman, 1995).

f. Recorder

Recorder berfungsi sebagai alat pencatat dengan keluaran dapat berupa gambar/angka-angka (Harmita, 2006). Bagian-bagian dari UV-Vis tersebut akan bekerja dalam satu kesatuan.

Secara umum skema alat spektrofotometer UV-Vis dijelaskan pada Gambar 2.5 berikut:



Gambar 2.5 Skema Alat Spektrofotometri UV-Vis (Mulja & Suharman, 1995)

Spektrofotometri visible disebut juga spektrofotometri sinar tampak. Cahaya yang dapat dilihat oleh mata manusia adalah cahaya dengan panjang gelombang 400-800 nm dan memiliki energi sebesar 299-149 kJ/mol. Energi yang dimiliki sinar tampak mampu membuat elektron tereksitasi dari keadaan dasar menuju kulit atom yang memiliki energi lebih tinggi atau menuju keadaan tereksitasi. Cahaya sinar tampak adalah radiasi elektromagnetik yang terdiri dari gelombang. Seperti semua gelombang, kecepatan cahaya, panjang gelombang dan frekuensi dapat didefinisikan sebagai:

$$C = V \cdot \lambda \quad (\text{Persamaan 2.1})$$

Dimana :

C = kecepatan cahaya

V = Frekuensi dalam gelombang per detik (Hertz)

λ = Panjang gelombang dalam meter

(Underwood & Day, 1986)

Cahaya sinar tampak terdiri dari bagian sempit kisaran panjang gelombang dari radiasi elektromagnetik dimana mata manusia sensitif. Sinar putih memiliki panjang gelombang mencakup 400-700 nm. Panjang gelombang dari berbagai warna dijelaskan pada Tabel 2.2 dan Tabel 2.3.

Dalam spektrometri molekul tidak berkaitan dengan warna dari suatu senyawa, yaitu warna yang dipancarkan atau dipantulkan, namun berkaitan dengan warna yang telah dipindahkan dari spektrum. Dimana panjang gelombang yang ditransmisikan merupakan panjang gelombang dari warna komplementernya.

Tabel 2.2 Panjang gelombang untuk setiap jenis warna (Day & Underwood, 2002)

| Jenis Sinar | Panjang Gelombang (nm) |
|-------------|------------------------|
| Ultraviolet | <400 |
| Violet | 400-450 |
| Biru | 450-500 |
| Hijau | 500-570 |
| Kuning | 570-590 |
| Oranye | 590-620 |
| Merah | 620-760 |
| Infra merah | >760 |

Tabel 2.3 Panjang gelombang berbagai warna cahaya (Day & Underwood, 2002)

| Panjang gelombang (nm) | Warna yang teradsorbsi | Warna tertransmisi (komplemen) |
|------------------------|------------------------|--------------------------------|
| 400-435 | Violet | Hijau-Kuning |
| 435-480 | Biru | Kuning |
| 480-490 | Biru-Hijau | Oranye |
| 490-500 | Hijau-Biru | Merah |
| 500-560 | Hijau | Ungu |
| 560-580 | Hijau-Kuning | Biru |
| 580-595 | Kuning | Biru |
| 595-650 | Oranye | Biru-Hijau |
| 650-760 | Merah | Hijau-Biru |

Menurut Hukum Lambert, serapan berbanding lurus terhadap ketebalan sel (b) yang disinari, dengan bertambahnya sel, maka serapan akan bertambah.

$$A = k \cdot b \quad (\text{Persamaan 2.2})$$

Meurut Beer, yang berlaku untuk radiasi monokromatis dalam larutan yang sangat encer, serapan berbanding lurus dengan konsentrasi.

$$A = k \cdot c \quad (\text{Persamaan 2.3})$$

Jika konsentrasi bertambah, jumlah molekul yang dilalui berkas sinar akan bertambah, sehingga serapan juga bertambah. Kedua persamaan ini digabungkan dalam Hukum Lambert-Beer, maka diperoleh bahwa serapan berbanding lurus dengan konsentrasi dan ketebalan sel yang dapat ditulis dengan persamaan:

$$A = k \cdot c \cdot b \quad (\text{Persamaan 2.4})$$

Nilai tetapan (k) dalam Hukum Lambert-Beer tergantung pada sistem konsentrasi yang digunakan. Bila (c) dalam gram/L, tetapan disebut dengan absorptivitas (a) dan jika dalam mol/L, tetapan tersebut adalah absorptivitas molar (ϵ). Jadi Hukum Lambert-Beer dapat dinyatakan dalam rumus berikut:

$$A = a \cdot b \cdot c \text{ (g/L)} \quad \text{atau} \quad A = \epsilon \cdot b \cdot c \text{ (mol/L)} \quad (\text{Persamaan 2.5})$$

Dimana:

- A = serapan
- a = absorptivitas
- b = ketebalan sel
- c = konsentrasi
- ϵ = absorptivitas molar

Hukum Lambert-Beer menjadi dasar aspek kuantitatif spektrometri dimana konsentrasi dapat dihitung berdasarkan rumus di atas. Absorptivitas (a) merupakan konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel. Absorptivitas tergantung pada suhu,

pelarut, struktur molekul dan panjang gelombang radiasi (Day & Underwood, 2002; Rohman, 2007).

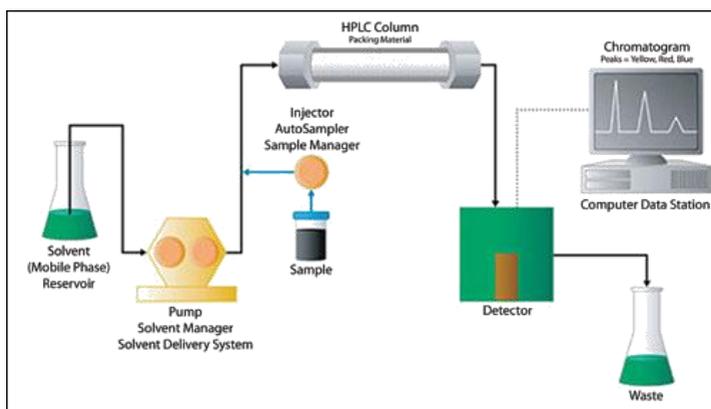
2.11.2 *Liquid Chromatography-Time of Flight/Mass Spectrometer (LC-TOF/MS)*

Liquid Chromatography-Time of Flight/Mass Spectrometer (LC-TOF MS) merupakan perpaduan antara instrumentasi *high performance liquid chromatography* (HPLC) dengan *time of flight mass spectrometer* (TOF/MS). Gabungan kedua alat tersebut sering digunakan untuk menskrining polutan mikro organik dalam air. Dalam instrumentasi ini HPLC berperan dalam metode pemisahan senyawa secara kromatografi berdasarkan interaksi antara sampel dengan fase diam dan fase geraknya, sedangkan TOF/MS berperan dalam memberikan informasi spektra hasil scan penuh dengan sensitifitas dan akurasi massa yang tinggi (Winefordner, 2009).

Kromatografi merupakan metoda pemisahan fisik dimana komponen yang dipisahkan terbagi menjadi dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fasa gerak digambarkan sebagai fasa yang mengalir disepanjang fase diam dengan arah yang pasti. Fase gerak dapat berupa gas maupun cair. Sedangkan fase diam merupakan fase dimana terjadi pemisahan sampel berdasarkan interaksinya dengan fase gerak. Fase diam pada umumnya berupa padatan atau gel. Dalam kromatografi kedua fasa tersebut sangat berpengaruh terhadap pemisahan sampel yang dilakukan. Pada HPLC fase gerak yang digunakan berupa cairan dengan diberi tekanan hingga 400 bar (4×10^7 Pa) untuk memastikan tingkat alirannya konstan. Untuk fase diamnya digunakan kolom yang mampu menahan tekanan tinggi yang diperlukan. Pemisahan kromatografi akan terjadi jika terjadi perbedaan interaksi diantara komponen-komponen fase gerak dengan fase diamnya sehingga

membutuhkan waktu yang berbeda untuk keluar dari kolom. Mayoritas pemisahan HPLC dilakukan dengan menggunakan kromatografi fase terbalik dimana fase geraknya lebih polar dibanding fase diam. Dalam sistemnya, analit lebih polar akan terelusi lebih cepat dibanding yang kurang polar (Ardrey, 2003).

Dalam proses analisisnya sampel yang di injeksikan dalam HPLC akan terbawa oleh fase gerak masuk kedalam kolom dan mengalami pemisahan sesuai sifatnya. Hasil pemisahan dari dalam kolom tersebut selanjutnya akan terbaca oleh detektor dan dikeluarkan dalam bentuk kromatogram. Secara umum skema alat HPLC dijelaskan pada Gambar 2.6 (Ardrey, 2003).



Gambar 2.6 Skema Instrumen *High Performance Liquid Chromatography* (Ardrey, 2003)

Dalam kromatografi terdapat dua metode elusi yaitu metode isokratik dan metode gradien. Metode elusi isokratik merupakan metode elusi dengan komposisi fase gerak yang konstan. Sedangkan metode elusi gradien merupakan metode elusi

dengan menggunakan komposisi fase gerak yang berubah-ubah (Ardrey, 2003).

Sebagian besar teknik ionisasi yang digunakan dalam HPLC merupakan teknik ionisasi lunak. Teknik ionisasi tersebut akan menghasilkan molekul ion utama dengan nilai rasio masa terhadap muatan (m/z) yang relatif lebih tinggi dibandingkan ion farmen yang memiliki nilai m/z yang relatif lebih rendah. Dalam analisis LC-TOF/MS, ion-ion hasil pemisahan dengan HPLC selanjutnya akan masuk ke instrumen TOF/MS (Ardrey, 2003).

Time of flight mass spectrometer (TOF/MS) merupakan instrumentasi pemisah massa. Prinsip dasar dari TOF/MS adalah semua ion yang diberi energi kinetik yang sama akan menghasilkan kecepatan yang berbanding terbalik dengan akar kuadrat massanya. Hal tersebut mengakibatkan waktu yang dibutuhkan oleh masing-masing ion untuk melewati tabung penerbangan dari spektrometer massa akan bergantung pada nilai m/z dari ion tersebut. Spektrum masa secara sempurna akan didapat ketika ion yang diterbangkan telah mencapai detektor. Dalam TOF MS hal yang terpenting adalah ion dari semua rasio m/z pada sumber di transfer secara bersamaan kedalam *mass analyzer* dengan waktu yang telah diketahui sehingga waktu terbang dan rasio m/z mereka dapat ditentukan dengan akurat (Ardrey, 2013). Skema alat TOF MS dijelaskan pada Gambar 2.7.

TOF/MS memiliki akuisisi dan kecepatan yang tinggi dalam menyediakan pengukuran massa yang akurat. TOF/MS memiliki kemungkinan untuk menghasilkan akurasi massa <2 ppm dengan rentang kalibrasi yang cukup memadai. Pengukuran massa yang akurat mampu memberikan komposisi unsur ion utama maupun ion hasil fragmentasi yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi spesies yang tidak diketahui (Lacorte, 2006).

Berdasarkan tingkat polaritasnya teknik ionisasi terbagi menjadi tiga, antara lain:

1. *Atmospheric Pressure Photoionization (APPI)*

Metode APPI digunakan dengan kromatografi fase normal untuk senyawa yang sangat nonpolar dan tingkat aliran rendah (<100 mL/menit)

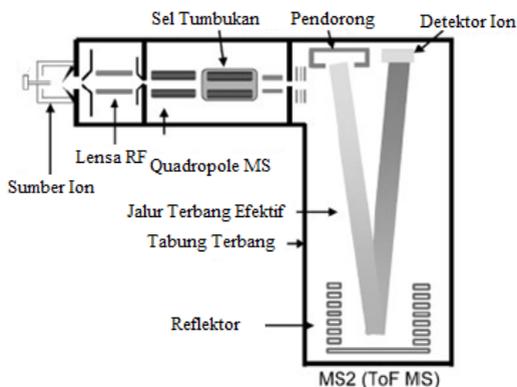
2. *Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI)*

Metode APCI lebih sering digunakan dengan kromatografi fase normal karena analit biasanya nonpolar

3. *Electrospray Ionization (ESI)*

ESI merupakan metode ionisasi menggunakan kromatografi terbalik yang sangat berguna untuk menganalisis molekul dari ukuran kecil sampai ukuran besar yang bersifat polar maupun sangat polar

(Ardrey, 2003)



Gambar 2.7 Skema alat TOF-MS (Lacorte, 2006)

TOF/MS memiliki beberapa keunggulan dalam pengukuran massa, antara lain :

1. Mampu mengumpulkan data dengan range massa yang cukup lebar tanpa adanya penurunan sensitifitas
2. Mampu mengatasi interferensi
3. Mampu mencapai pengukuran massa yang akurat untuk memperkirakan komposisi unsur

(Lacorte, 2006)

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: gelas beker, erlenmeyer berpenutup spons, neraca digital, pengaduk kaca, kaca arloji, jarum ose, cawan petri steril, gelas ukur, pipet volume, propipet, *autoclave*, pembakar spirtus, tabung falcon, *sentrifuge* (Thermo IEC CL40R), spektrofotometer UV-Vis (Genesys-10S) dan instrumen LC-TOF/MS.

3.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Jamur *Phlebia lindtneri* diambil dari koleksi laboratorium Kimia Mikroorganisme FIA ITS, pewarna tekstil metilen biru (SAP Chemicals), *potato dextrose agar* (PDA)(Merck), *potato dextrose broth* (PDB) (Difco), aqua DM, alkohol teknis, dan filter Wattman diameter 90 mm.

3.2 Prosedur Penelitian

3.2.1 Regenerasi Jamur *Phlebia lindtneri*

Mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian ini berupa jamur pelapuk putih jenis *P. lindtneri* sebagai agen pendegradasi. Jamur *P. lindtneri* diperoleh dari koleksi jamur di Laboratorium Kimia Mikroorganisme, Departemen Kimia FIA, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya. Jamur *P. lindtneri* dari koleksi induk diinokulasikan ke dalam cawan petri steril yang berisikan media agar (PDA) kemudian diinkubasi pada 30°C selama kurang lebih 7 hari sampai seluruh miselium menutupi permukaan agar.

3.2.2 Persiapan Kultur Cair Jamur *Phlebia lindtneri*

Kultur jamur hasil regenerasi dihomogenasi dengan blender yang telah disterilisasi dengan 25 mL aqua DM selama 30 detik. Kultur jamur sebanyak 1 mL diinokulasikan ke dalam erlenmeyer yang berisi 20 mL potato dextrose broth (PDB). Selanjutnya dilakukan pre-inkubasi pada temperatur 30°C selama 7 hari

3.2.3 Biotransformasi Metilen Biru oleh *Phlebia lindtneri* pada Media Cair

Dalam penelitian ini dibuat pre-kultur jamur pada media cair terlebih dahulu seperti yang sudah dijelaskan pada subbab 3.2.2. Setelah pre-inkubasi 7 hari ditambahkan metilen biru (MB) ke dalam kultur hingga mencapai konsentrasi akhir sebesar 100 mg/L. Kultur cair yang telah ditambahkan MB selanjutnya diinkubasi pada 30°C dengan variasi waktu inkubasi yaitu: 0, 7, 14, 21, dan 28 hari. Pada setiap akhir variasi waktu inkubasi kultur cair tersebut disentrifugasi dan diambil supernatannya untuk kemudian diukur absorbansinya menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis. Media cair PDB dibuat sebanyak 20 ml ditambahkan dengan MB hingga tercapai konsentrasi 100 mg/L sebagai kontrol negatif dalam pengukuran besar *decolorization*. Perhitungan prosentase *decolorization* pewarna MB mengikuti persamaan 3.1.

$$\% \text{ decolorization} = \frac{A_k - A_t}{A_k} \times 100\%$$

(Persamaan 3.1.)

A_k : Absorbansi kontrol (MB 100 mg/L)

A_t : Absorbansi treatment (pada sampel)

(Nezamzadeh & Shamsabadi, 2014)

3.2.4 Analisa Biotransformasi Metilen Biru dan Metabolit Produk Menggunakan LC-MS/TOF

Kultur hasil inkubasi pada setiap perlakuan variasi waktu 0, 7, 14, 21, 28 hari kemudian dipindahkan ke dalam tabung setrifugasi dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, kemudian dilakukan dekantasi untuk memisahkan supernatan dari endapan miselium jamur yang kemudian digunakan untuk beberapa analisa menggunakan instrumen. Endapan miselium jamur disaring menggunakan kertas saring Whatman 41 diameter 90 mm untuk kemudian dikeringkan dan ditimbang massanya.

Sebagian dari supernatan yang didapatkan dari pemisahan kultur kemudian dianalisa menggunakan instrumen LC-MS/TOF dengan elektrosprai ionisasi (ESI) pada range massa yang dipakai 50-500. Metode elusi yang dipakai adalah metode gradien dengan laju alir 0,2 ml/min pada tiga menit pertama dan tujuh menit selanjutnya menggunakan laju alir 0,4 ml/min. Fase gerak yang digunakan adalah metanol dan air dengan perbandingan 99:1 pada tiga menit awal dan 61:39 untuk tujuh menit sisanya. Kolom yang digunakan adalah kolom jenis Acclaim TM RSLC 120 C18 dengan ukuran 2,1x100 mm dan suhu kolom 33°C. Hasil spektra dari sampel tritmen kemudian dibandingkan dengan spektra dari kontrol.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

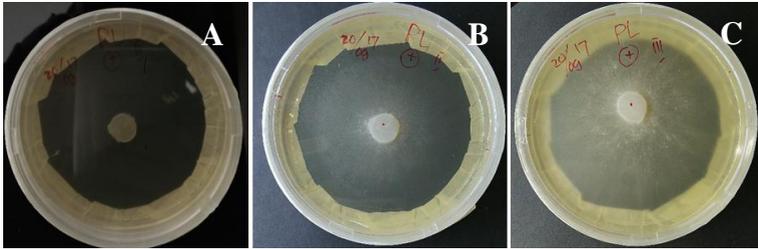
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Regenerasi Jamur *Phlebia lindtneri*

Jamur *P. lindtneri* diregenerasi dengan cara diinokulasikan ke dalam cawan petri steril yang berisi media padat *potato dextrose agar* (PDA) menggunakan jarum ose steril berdiameter 1 cm yang telah di-*autoclave* pada tekanan 1 atm dengan temperatur 121°C selama 15 menit. Penanaman kultur dilakukan pada media agar PDA dikarenakan dalam media agar tersebut terkandung nutrisi-nutrisi penting yang dibutuhkan oleh jamur untuk tumbuh. Di dalam PDA terdapat tiga komponen utama antara lain ekstrak kentang, dekstrosa, protein dan agar-agar. Ekstrak kentang dalam PDA berperan sebagai penyuplai karbohidrat dalam pertumbuhan jamur, pada setiap 100 g kentang memiliki kandungan energi (83 kalori), protein (2 g), lemak (0,10 g), karbohidrat (19,10 g), kalsium (11 mg), fosfor (56 g), besi (0,7 mg), vitamin B1 (0,11 mg), dan vitamin C (17 mg) (Direktorat Gizi Departemen Kesehatan, 1981). Dekstrosa berperan sebagai sumber karbon yang digunakan untuk mensintesis asam amino dan protein jamur yang selanjutnya digunakan untuk pembentukan protoplasma, struktur sel, dan enzim-enzim yang dibutuhkan untuk metabolisme (Djarajah & Djarajah, 2001). Agar-agar berfungsi sebagai pengental media yang dapat mempermudah proses pertumbuhan dan isolasi jamur (Prescott, 1959).

Hasil dari proses regenerasi jamur *Phlebia lindtneri* pada media padat agar selama 7 hari ditunjukkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Regenerasi Jamur *P. lindtneri*. A: kultur hari ke 0; B: kultur hari ke 4; C: kultur hari ke 7

Proses inokulasi kultur jamur *P. lindtneri* dilakukan dalam keadaan steril di dalam *Laminary Air Flow* untuk mencegah adanya mikroorganisme lain maupun pengotor yang dapat mengakibatkan kontaminasi terhadap kultur. Jamur yang telah diinokulasikan ke dalam cawan petri berisikan media padat PDA diinkubasi dalam lemari inkubator pada temperatur 30°C selama 7 hari dalam keadaan gelap. Dalam keadaan lingkungan yang gelap jamur dapat tumbuh secara optimal (Djarajah & Djarajah, 2001). Setelah 4 hari proses inkubasi miselium jamur *P. lindtneri* mulai tumbuh pada permukaan media padat. Setelah 7 hari miselium tumbuh menutupi seluruh permukaan media padat PDA dan siap digunakan untuk proses selanjutnya.

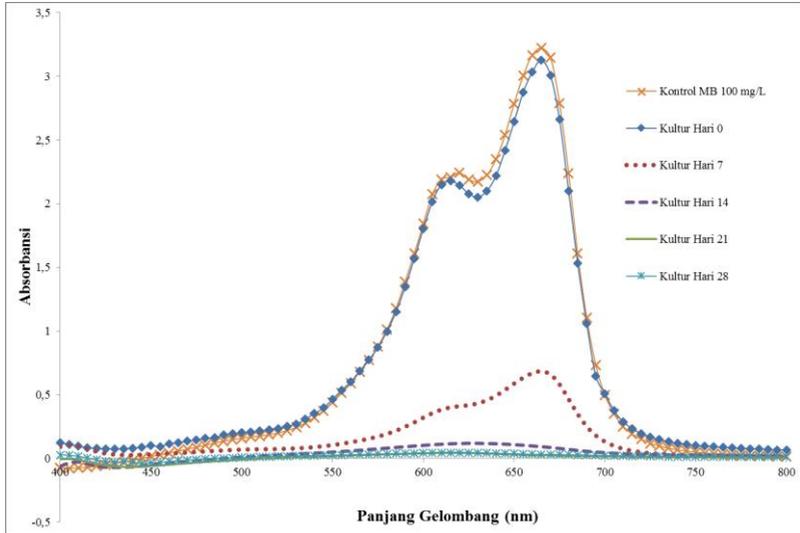
4.2 Proses dan Hasil Biotransformasi Metilen Biru oleh *P. lindtneri* pada Media Cair

Dalam penelitian ini, treatment jamur dilakukan pada media cair *Potato Dextrose Broth* (PDB) yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan jamur *P. lindtneri* dalam mentransformasi MB secara kuantitatif. Penggunaan media cair dipilih menggunakan PDB dikarenakan PDB merupakan media yang paling cocok untuk perkembangbiakan jamur apabila

dibandingkan dengan media *low nitrogen* (LN) dan *high nitrogen* (HN) (Purnomo dkk., 2008).

Jamur *P. lindtneri* hasil regenerasi yang telah dihomogenasi dengan blender diinokulasikan sebanyak 1 mL ke dalam erlenmeyer yang berisi 20 mL *Potato Dextrose Broth* (PDB). Selanjutnya, kultur jamur *P. lindtneri* di pre-inkubasi dalam inkubator pada suhu 30°C selama 7 hari. Pre-inkubasi ini dilakukan dengan tujuan agar jamur beradaptasi terlebih dahulu pada media PDB sehingga jamur siap saat digunakan untuk mendegradasi MB. Setelah di pre-inkubasi selama 7 hari kultur cair jamur *P. lindtneri* tersebut ditambahkan dengan 1 mL larutan MB 1000 mg/L sehingga konsentrasi akhir yang didapatkan dalam larutan kultur cair adalah sebesar 100 mg/L dan selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada temperatur 30°C selama 28 hari. Kemampuan *P. lindtneri* dalam mendegradasi (biotransformasi) MB diamati pada hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28.

Pada hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28 setelah penambahan MB dilakukan analisis dengan instrumen UV-Vis untuk mengetahui kemampuan dari *P. lindtneri* dalam mendegradasi MB, khususnya untuk mengetahui adanya penghilangan warna (*decolorization*) dari MB. Analisis dilakukan dengan memisahkan biomassa jamur dari larutan media kulturnya yang mengandung MB dengan menggunakan alat sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Filtrat yang diperoleh kemudian didekantasi untuk selanjutnya dianalisa menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Analisa UV-Vis dilakukan dengan metoda scanning pada panjang gelombang 400-800 nm. Panjang gelombang tersebut merupakan daerah panjang gelombang sinar tampak dimana MB akan menyerap gelombang pada daerah sinar tampak tersebut (Rahman, 2012).



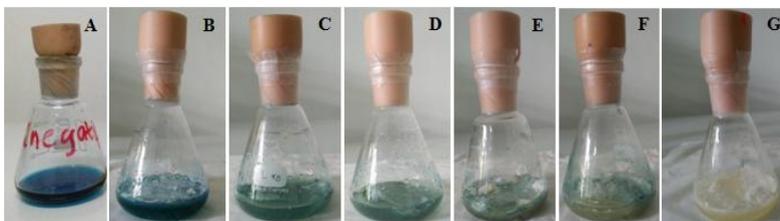
Gambar 4.2 Grafik profil absorbansi hasil *decolorization* MB oleh *P. lindneri* pada hari ke 0, 7, 14, 21, 28

Analisis spektrofotometri UV-Vis juga dilakukan pada kontrol negatif yang merupakan campuran antara MB dan PDB guna menentukan profil absorbansi awal sebelum MB terdegradasi. Dari hasil analisis tersebut diperoleh profil absorbansi seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.2.

Pada Gambar 4.2 di atas, hasil analisis profil absorbansi ke-enam sampel tersebut memunculkan absorbansi maksimal pada panjang gelombang yang sama yaitu 665 nm dimana panjang gelombang ini merupakan panjang gelombang maksimal dari MB (Rahman, 2012). Hal tersebut menunjukkan bahwa dalam semua sampel treatment tersebut telah terjadi penurunan konsentrasi MB dalam larutan kultur.

Berdasarkan data profil absorbansi dapat diketahui bahwa absorbansi *decolorization* MB hari ke 0 lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada hari ke 0, MB sudah mulai terdegradasi. Kemampuan *P. lindtneri* menghilangkan warna dari MB pada hari ke 0 dapat dikarenakan sudah adanya metabolit sekunder atau enzim yang diproduksi oleh *P. lindtneri* pada saat pre-inkubasi, serta terjadi biosorpsi oleh biomassa jamur. Pada hari ke 7, profil absorbansinya turun sangat drastis hal ini dapat dikarenakan kultur jamur telah dapat beradaptasi dan enzim pendegradasi yang diproduksi semakin banyak sehingga terjadi proses penguraian MB oleh aktivitas jamur sebagai sumber nutrisi yang digunakan oleh jamur untuk tetap hidup. Pada hari ke 14, profil absorbansi menunjukkan keberadaan MB yang semakin menurun, hal ini sebanding lurus dengan waktu inkubasi dimana semakin lama inkubasi kultur yang diberikan maka jumlah nutrisi dalam kultur akan semakin menurun, sehingga dimungkinkan MB semakin terurai untuk dirubah menjadi senyawa yang lebih sederhana untuk dapat dikonsumsi sebagai sumber nutrisi dan sumber karbon. Pada hari ke 21, profil absorbansi pada panjang gelombang MB menghasilkan nilai tidak lebih dari 0,05, hal ini menunjukkan bahwa keberadaan MB sangat sedikit, pada hari ke 28 sudah tidak terjadi penurunan profil absorbansi yang signifikan, hal ini juga dapat dikarenakan pada inkubasi 28 hari jamur sudah tidak lagi dalam masa pertumbuhan, dan keberadaan MB dalam kultur sudah dianggap habis. Semakin tingginya produksi enzim selama masa inkubasi dapat menyebabkan semakin tingginya kemampuan jamur dalam mentransformasi MB, dimana jamur *P. lindtneri* memiliki kemampuan untuk memutus gugus kromofor pada senyawa MB yang menyebabkan hilangnya warna (*biodecolorization*) dari MB tersebut.

Pada profil visualisasi hasil biotransformasi MB oleh *P. lindtneri* pada media PDB ditunjukkan pada Gambar 4.3. Terjadi perubahan warna biru yang berangsur-angsur memudar dari hari ke 0 sampai hari ke 28 dibandingkan dengan kontrol negatif.



Gambar 4.3 Biotransformasi MB oleh *P. lindtneri* dalam media PDB. A: kontrol negatif; B: kultur hari ke 0; C: kultur hari ke 7; D: kultur hari ke 14; E: kultur hari ke 21; F: kultur hari ke 28; G: kontrol positif

Kemampuan *P. lindtneri* dalam mentransformasi atau menghilangkan warna (*decolorization*) dari MB secara kuantitatif ditentukan dengan cara mengukur prosentase *decolorization*. Prosentase *decolorization* tersebut diperoleh dari mengurangkan absorbansi kontrol pada λ_{\max} dengan absorbansi treatment pada λ_{\max} dibagi dengan absorbansi kontrol pada λ_{\max} dan dikali dengan 100% (Gadd, 2001). Prosentase *decolorization* menunjukkan kemampuan *P. lindtneri* dalam mentransformasi, khususnya penghilangan warna pada MB. Dalam hal ini λ_{\max} yang digunakan yaitu pada panjang gelombang maksimal 665 nm. Dari data absorbansi yang diperoleh selanjutnya dilakukan perhitungan prosentase *decolorization* sesuai dengan persamaan 3.1 dan diperoleh hasil seperti pada Tabel 4.1.

Data prosentase *decolorization* tersebut dapat diketahui bahwa semakin lama waktu inkubasi maka persen *decolorization*

semakin tinggi. Prosentase *decolorization* MB oleh *P. lindtneri* selama 28 hari mencapai 99%. Kemampuan *P. lindtneri* dalam mendegradasi polutan organik ini berkaitan dengan kemampuan *P. lindtneri* sebagai jamur pelapuk putih dalam memproduksi enzim-enzim pengurai yang dihasilkan dan kemampuannya dalam memecah cincin aromatik melalui proses hidroksilasi (Mori dan Kondo 2002; Kamei dkk., 2005; Xiao dkk., 2010).

Tabel 4.1 Prosentase *decolorization* MB oleh *P. lindtneri*

| Waktu inkubasi (hari) | Rata-rata absorbansi kontrol | Rata-rata absorbansi akhir | % <i>Decolorization</i> |
|-----------------------|------------------------------|----------------------------|-------------------------|
| 0 | 3,221 | 3,128 | 2,887 |
| 7 | 3,221 | 0,685 | 78,733 |
| 14 | 3,221 | 0,094 | 97,082 |
| 21 | 3,221 | 0,024 | 99,255 |
| 28 | 3,221 | 0,033 | 98,975 |

*Pengukuran dilakukan triplo (n=3)

Terdapat tiga kultur jamur untuk setiap variasi waktu inkubasi. Pada waktu inkubasi hari ke 0 belum terlihat adanya pemudaran warna, namun secara pengukuran profil absorbansinya telah terjadi penurunan besar absorbansi secara signifikan pada panjang gelombang MB dibandingkan dengan nilai absorbansi MB pada kontrol, hal ini dimungkinkan telah terjadi degradasi oleh aktivitas enzim yang diproduksi jamur pada saat pre-inkubasi. Pada variasi waktu inkubasi ke 7 hingga 28 hari masih terdapat penurunan absorbansi MB yang signifikan.

Dalam penelitian ini berat kering biomassa jamur juga dianalisis. Data berat kering biomassa yang diperoleh digunakan

untuk mengetahui hubungan antara berat biomassa dengan kemampuan biotransformasi MB oleh *P. lindtneri*. Biomassa jamur hasil sentrifugasi dicuci terlebih dahulu dengan aqua DM untuk menghilangkan substrat-substrat MB dan media cair yang masih tersisa pada biomassa. Selanjutnya biomassa dikeringkan dengan tujuan untuk menghilangkan kadar air yang tersisa pada biomassa. Biomassa ditimbang untuk memperoleh berat kering *P. lindtneri*. Dari hasil analisa berat kering biomassa diperoleh hasil pada Tabel 4.2.

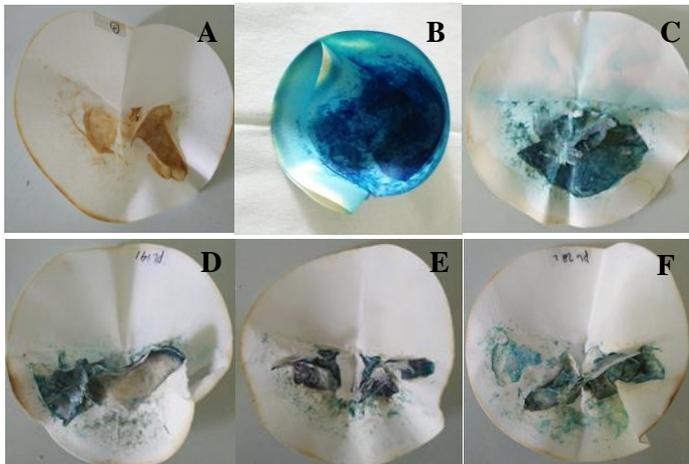
Tabel 4.2 Data berat kering biomassa *P. lindtneri*

| Waktu (hari) | Berat kering biomassa (g) | <i>Decolorization</i> (%) |
|--------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,178 | 2,887 |
| 7 | 0,186 | 78,733 |
| 14 | 0,176 | 97,082 |
| 21 | 0,171 | 99,255 |
| 28 | 0,175 | 98,975 |

Berdasarkan data hasil berat kering biomassa *P. lindtneri* dapat diketahui bahwa dalam penelitian ini semakin lama waktu inkubasi tidak terjadi kenaikan biomassa secara signifikan. Sehingga tidak ada hubungan secara langsung antara aktivitas *decolorization* terhadap kenaikan biomassa, hal ini dapat disebabkan pada waktu inkubasi treatment aktivitas jamur *P. lindtneri* dalam mentransformasi MB berada dalam fase stasioner, namun metabolit produk masih dihasilkan selama inkubasi. Fase stasioner adalah fase dimana laju pertumbuhan sebanding dengan laju kematian, sehingga jumlah biomassa hidup pada kultur terlihat konstan. Pada fase ini suplai nutrisi dan sumber energi yang dibutuhkan oleh sel mikroba mulai berkurang. Pada fase stasioner

ini biasanya terbentuk metabolit sekunder yang berpengaruh terhadap aktivitas metabolisme jamur tersebut, seperti enzim maupun antibiotik (Crueger, 1984). Sehingga dapat dimungkinkan selama fase stasioner jamur *P. lindtneri* mampu mentransformasi MB sebagai suplai nutrisi dan sumber energi.

Berdasarkan Gambar 4.4 terlihat bahwa biomassa kering dari jamur *P. lindtneri* pada hari ke 0 berwarna biru dibandingkan dengan biomassa kontrol positif, hal ini terjadi karena ada proses biosorpsi atau penyerapan MB oleh biomassa jamur tersebut. Pada biomassa kering hari ke 7 sampai hari ke 28 tidak lagi terlihat intensitas warna biru yang dominan, hal ini dimungkinkan bahwa proses biosorpsi tidak berlanjut serta MB telah mengalami biotransformasi oleh jamur *P. lindtneri*.



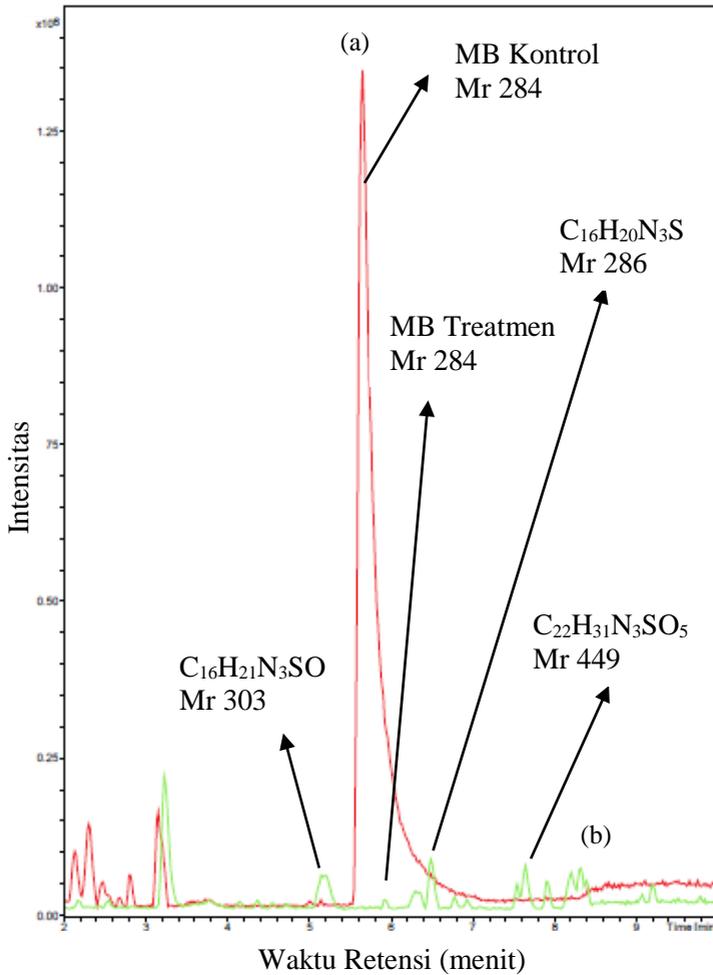
Gambar 4.4 Biomassa kering jamur *P. lindtneri*. A: kontrol positif; B: hari ke 0; C: hari ke 7; D: hari ke 14; E: hari ke 21; F: hari ke 28

4.3 Analisa Biotransformasi Metilen Biru dan Metabolit Produk Menggunakan LC-TOF/MS

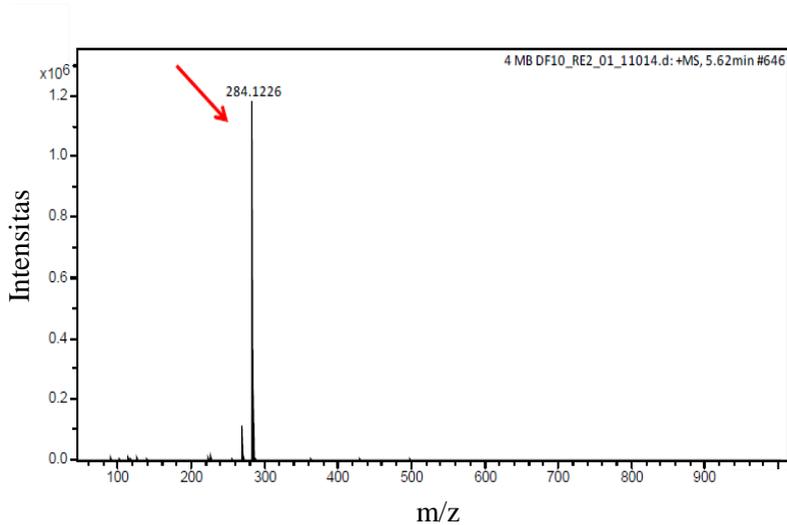
Analisa metabolit produk hasil biotransformasi MB dilakukan dengan menggunakan instrumentasi LC-TOF/MS. LC-TOF/MS merupakan gabungan dari instrumentasi HPLC dan TOF/MS dimana HPLC berperan dalam pemisahan secara kromatografi dan menghasilkan kromatogram sedangkan TOF/MS berperan dalam memberikan data m/z dari senyawa yang dideteksi (Winefordner, 2009).

Dalam penelitian ini analisa LC-TOF/MS dilakukan di PT. Angler Biochemical Lab dimana sumber ionisasi yang dipakai adalah elektrosprai ionisasi (ESI) dengan range massa yang dipakai 50-500. Metode elusi yang dipakai adalah metode gradien dengan laju alir tiga menit pertama 0,2 mL/min, tujuh menit selanjutnya menggunakan laju alir 0,4 mL/min. Fase gerak yang digunakan adalah metanol dan air dengan perbandingan 99:1 pada tiga menit awal dan 61:39 untuk tujuh menit sisanya. Kolom yang digunakan adalah kolom jenis Acclaim TM RSLC 120 C18 (polar) dengan ukuran 2,1x100 mm dan suhu kolom 33°C. Hasil analisa degradasi MB terlihat pada Gambar 4.5.

Pada kromatogram hasil analisis LC-TOF/MS didapatkan puncak dominan pada kromatogram kontrol di waktu retensi 5,57, sedangkan pada kromatogram treatment di waktu retensi yang sama tidak terlihat lagi adanya puncak tersebut. Berdasarkan data TOF/MSnya senyawa tersebut memiliki m/z 284,1226 yang merupakan senyawa MB yang telah kehilangan ion Cl akibat reaksi ionisasi pada larutan media cair. Hal ini didukung oleh data TOF-MS pada Gambar 4.6. Berdasarkan kromatogram di atas, puncak MB pada treatment intensitasnya tidak lagi terlihat dibandingkan dengan puncak MB pada kontrol. Hal tersebut menunjukkan bahwa MB telah mengalami biotransformasi.



Gambar 4.5 Kromatogram LC hasil biotransformasi MB oleh *P. lindtneri* setelah diinkubasi selama 28 hari. (a) kromatogram kontrol; (b) kromatogram treatment



Gambar 4.6 Spektra MS Metilen Biru

Selain hilangnya puncak MB pada treatmen, pada kromatogram treatmen juga muncul puncak-puncak baru yang belum ada pada kromatogram kontrol yang diduga sebagai metabolit produk yang dihasilkan dari proses biotransformasi selama proses inkubasi 28 hari. Puncak-puncak baru tersebut muncul di kromatogram treatmen pada waktu retensi 5,20; 6,49 dan 7,64 menit.

Berdasarkan data TOF-MS yang didapatkan dari analisa treatmen, puncak pada waktu retensi 6,49 memiliki m/z sebesar 286 dimana berdasarkan fragmentasinya senyawa tersebut adalah senyawa $C_{16}H_{20}N_3S$. Puncak pada waktu retensi 5,20 memiliki m/z 303, kemungkinan senyawa tersebut merupakan senyawa $C_{16}H_{21}N_3SO$. Hasil tersebut didukung oleh hasil penelitian dari Nezamzadeh (2014) yang menemukan senyawa tersebut dari degradasi MB dengan metode fotokatalitik dengan bantuan nanopartikel CuO dan Zeolit X, serta hasil dari penelitian Rizqi dan

Purnomo (2017) yang menemukan senyawa tersebut dari hasil degradasi MB oleh jamur pelapuk coklat *Daedalea dickinsii*. Puncak pada waktu retensi 7,64 memiliki m/z sebesar 449 dimana berdasarkan fragmentasinya senyawa tersebut adalah senyawa $C_{22}H_{31}N_3SO_5$. Hasil ini didukung oleh hasil penelitian dari Li dan Zhang dkk., (2014) yang menemukan senyawa tersebut dari hasil *decolorization Azure B* oleh *Bacillus sp.*

Tabel 4.3 Hasil analisa metabolit produk dengan LC-TOF/MS

| Waktu Retensi (menit) | Massa Molekul | Rumus Molekul | Struktur Molekul |
|-----------------------|---------------|-----------------------|------------------|
| 5,20 | 303 | $C_{16}H_{21}N_3SO$ | |
| 6,49 | 286 | $C_{16}H_{20}N_3S$ | |
| 7,64 | 449 | $C_{22}H_{31}N_3SO_5$ | |

Ketiga senyawa tersebut merupakan senyawa-senyawa metabolit produk yang dihasilkan dalam proses biotransformasi MB oleh *P. lindtneri* selama waktu inkubasi 28 hari.

Senyawa-senyawa tersebut masih memiliki struktur yang kompleks serta masih berpotensi bahaya bagi lingkungan, dikarenakan masih belum adanya laporan mengenai toksisitas dari ketiga senyawa tersebut. Ketiga senyawa tersebut masih mungkin dapat terdegradasi lebih lanjut menjadi senyawa yang lebih sederhana melalui proses pemecahan cincin aromatik oleh jamur *P. lindtneri* melalui reaksi hidroksilasi aromatik (Mori dan Kondo 2002; Kamei dkk., 2005; Xiao dkk., 2011).

BAB V

KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa jamur pelapuk putih *Phlebia lindtneri* mampu mentransformasi metilen biru (MB) selama 28 hari inkubasi pada media PDB. Kemampuan *decolorization* sebesar $\pm 99\%$ dan metabolit produk yang dihasilkan adalah $C_{16}H_{21}N_3SO$; $C_{16}H_{20}N_3S$ dan $C_{22}H_{31}N_3SO_5$.

5.2 Saran

Diharapkan pada penelitian selanjutnya dilakukan penelitian lebih jauh pada metabolit produk metilen biru, sehingga dapat menentukan jalur degradasi metilen biru oleh jamur pelapuk putih *Phlebia lindtneri* lebih detail. Disamping itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang faktor-faktor lain yang dapat mengoptimalkan proses degradasi seperti suhu, pH dan waktu inkubasi.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

- Akdogan, H. A. (2014). Studies on Decolorization of Reactive Blue 19 Textile Dye by *Corprinus plicatilis*. *Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 12:49.
- Ardrey, R. E. (2003). *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry : an Introduction*. England: Wiley Inc Publication.
- Asgher, M. K. (2008). Optimization of Medium for Decolourisation of Solar Golden Yellow R Direct Textile Dye by *Schizophyllum commune*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 61:189-193.
- Atlas, R. (1981). Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbons: an Environmental Perspective. *Microbiology Reviews*, 45(1):180-209.
- Barr, D. P., & Aust, S. D. (1994). Mechanism White-rot Fungi Use to Degrade Pollutants. *Environmental Science & Technology*, 28:78-87.
- Benkli, Y. E., Can, M. F., Turan, & Celik, M. S. (2005). Modification of Organo-zeolite Surface for Removal of Reactive Azo Dyes in Fixed-bed Reactors. *Journal of Water Research*, 39, 487.
- Bollag, W. B., & Bollag, J. M. (1992). *Biodegradation Encyclopedia of Microbiology*. New York: Academic Press Inc
- Chatwal, & Gurdeep, R. (2009). *Synthetics Dyes*. New Delhi: Himalaya Publishing House.

- Chen, C., Chen, J., Ni, W., Tian, X., & Huang, F. (2008). Biodegradation of Orange G by Wood-Rot Fungi *Phanerochaete sordida* TXJ-1302A and *Tyromyces lauteus* TXJ-1302B. *Bioresource Technology*, 99:3926-3929.
- Cooney, J. J. (1984). *The Fate of Petroleum Pollutants In Fresh Water Ecosystem*. New York: Macmillan Publishing Co.
- Crueger, W., & Crueger, A. (1984). *Biotechnology A Text Book of Industrial Microbiology*. Madison: Science Technology.
- Day, R. A., & Underwood, A. L. (2002). *Analisis Kimia Kuantitatif. Edisi Keenam*. Penerbit Erlangga.
- Dibble, J. T., & Bartha, R. (1979). Effect of Environmental Parameters on The Biodegradation of Oil Sludge. *Applied Environmental and Microbiology*, 37(4):729-739.
- Djarajah, N. M., & Djarajah, A. S. (2001). *Budidaya Jamur Tiram*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Eichlerová, I., Homolka, L., & Nerud, F. (2006). Synthetic Dye Decolourisation Capacity of White Rot Fungus *Dichomitus squalens*. *Bioresource Technology*, 97:2153-2159.
- Eichlerová, I., Homolka, L., & Nerud, F. (2007). Decolourisation of High Concentration of Synthetic Dyes by The White Rot Fungus *Bjerkandera adusta* strain CCBAS 232. *Dyes Pigments*, 75:38-44.

- Fatimah, I., Sugiharto, E., Wijaya, K., Tahir, I., & Kamalia. (2006). Titanium Oxide Dispered On Natural Zeolite (TiO₂/Zeolite) and Its Application for Congo Red Photodegradation. *Indonesian Journal of Chemistry*, 6(1):8-42.
- Fessenden, R. J., & Fessenden, J. S. (1982). *Kimia Organik Jilid 1* (3 ed.). (A. H. Pudjaatmakan, Trans.) Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Frank, C. L. (1995). Toksikologi Dasar Asas, Organ sasaran, dan Penilaian Resiko. Jakarta: UI-Press.
- Gadd, & Geof, M. (2001). *Fungi in Bioremediation*. New York: Cambridge University Press.
- Glenn, J. K., & Gold, M. H. (1983). Decolourisation of Several Polymeric Dyes by The Lignin Degrading Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmental Microbiology*, 45:1741-1747.
- Hamdaoui, O., & Chiha. (2006). Removal of Methylene Blue from Aqueous Solutions by Wheat Bran. *Acta Chimica*, 54:407-418.
- Harmita, A. P. (2006). *Analisa Fisiko Kimia*. Jakarta: UI Press.
- Hermawan, & Iwan. (2011). *Analisis Dampak Kebijakan Makroekonomi Terhadap Perkembangan Industri Tekstil*

dan Produk Tekstil Indonesia. Buletin Ekonomi dan Perbankan. 373-406.

- Higson, F. K. (1991). Degradation of Xenobiotics by White-rot Fungi. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 122:111-151.
- Huang, F., Chen, J., Wang, H., & Yan, Z. (2010). Analysis of the degradation mechanism of metilen biru by atmospheric pressure dielectric barrier discharge plasma. *Chemical Engineering Journal*, 162:250-256.
- Juliyanto, R., & Shabur, T. (2009). *Degradasi Senyawa Metilen Biru dengan Metode Elektrolisis Menggunakan Elektroda Platinum*. Yogyakarta: Jurnal Universitas Islam Indonesia. UII.
- Kamei, I., & Kondo, R. (2005). Biotransformation of dichloro-, trichloro-, and tetrachloro-dibenzo-p-dioxin by white-rot fungus *Phlebia lindtneri*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 68:560-366.
- Kamei, I., Takagi, K., & Kondo, R. (2011). Degradation of endosulfan and endosulfan sulfate by white rot fungus *Trametes hirsuta*. *Journal of Wood Science*, 57, 317-322.
- Kapdan, I. K., Kargi, F., McMullan, G., & Marchant, R. (2000). Effect of Environmental Conditions on Biological Decolourisation of Textile Dyestuff by *C. versicolor*. *Enzyme and Microbial Technology*, 26:381-387.

- Kirk, T. K., & Fenn, P. (1982). Formation and Action of The Ligninolytic System in Basidiomycetes. In J. H. Frankland, *Decomposer Basidiomycetes : Their Biology and Ecology* (pp. 67-90). New York: Cambridge University Press.
- Lacorte, Silvia, Alba, & Amadeo, R. (2006). *Time of Flight Mass Spectrometry Applied to The Liquid Chromatographic Analysis of Pesticides in Water and Food*. Wiley Inter Science.
- Levin, L., Papinutti, L., & Forchiassin, F. (2004). Evaluation of Argentinean White Rot Fungi for Their Ability to Produce Lignin-modifying Enzymes and Decolourisation Industrial Dyes. *Bioresource Technology*, 94:169-176.
- Li, H., Zhang, R., Tang, L., Zhang, J., & Mao, Z. (2014). Evaluation of *Bacillus sp.* MZS10 for decoloring Azure B dye and its decolorization mechanism. *Journal of Environmental Sciences*, 1125-1134.
- Mannervik, B., & Danileson, V. H. (1988). Glutathione Transferase-Structure and Catalytic Activity. *Annual Review of Biochemistry*, 23, 283-337.
- Manurung, Renita, Rosdaneli, H., & Irvan. (2004). *Perombakan Zat Warna Azo Reaktif Secara Anaerob-Aerob*. Sumatera: Repository USU.
- Michniewicz, A., Ledakowicz, S., Ulrich, R., & Hofrichter, M. (2008). Kinetics of The Enzymatic Decolourisation of

- Textile Dyes by Laccase from *Cerrena unicolor*. *Dyes Pigments*, 22:1499-1503.
- Miclescu, Adriana, & Wiklund, L. (2010). Methylene Blue, an Old Drug with New Indications. *Jurnalul Român de Anestezie Terapie intensivă*, 1:35-41.
- Mori, T., & Kondo, R. (2002a). Degradation of 2,7-dichlorodibenzo-pdioxin by wood-rotting fungi, screened by dioxin degrading ability. *FEMS Microbiology Letters*, 213:127-132.
- Mori, T., & Kondo, R. (2002b). Oxidation of chlorinated dibenzo-pdioxin and dibenzofuran by white-rot fungus, *Phlebia lindtneri*. *FEMS Microbiology Letters*, 216:223-227.
- Mori, T., Kitano, S., & Kondo, R. (2003). Biodegradation of Chloronaphthalenes and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by The White-rot Fungus *Phlebia lindtneri*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61:380-383.
- Mulja, M., & Suharman. (1995). *Analisis Instrumental*. Airlangga University Press: Surabaya.
- Nezamzadeh, A., & Shamsabadi, M. (2014). Comparison of photocatalytic efficiency of Supported CuO onto micro and nano particles of Zeolite X in photo decolorization of metylene blue and methyl orange aqueous mixture. *Applied Catalyst, A* 477:83-92.

- Nietzki, R. (1888). *Chemistry of The Organic Dyestuff*. California: Gurney & Jackson Publishing.
- Nigam, P., Banat, I. M., Singh, D., & Marchant, R. (1996). Process for The Decolorisation of Textile Effluent Containing Azo, Diazo and Reactive Dyes. *Process Biochemistry*, 5:435-442.
- Nirmala, W., Asri, H. S., & Novianty, I. (2006). *Kinetika biodegradasi limbah minyak bumi menggunakan biokompos*. Makassar: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar.
- Papic, S., Vujevic, D., Koprivanac, N., & Sinko, D. (2009). Decolorization and Mineralization of Commercial Reactive Dyes by Using Homogeneous and Heterogeneous Fenton and UV/Fenton Processes. *Journal of Hazardous Materials*, 164:1137-1145.
- Park, C., Lim, J. S., Lee, B., Kim, S. W., Lee, J., & Kim, S. (2007). Optimization and Morphology for Decolourisation of Reactive Black 5 by *Funalia trogii*. *Enzyme and Microbial Technology*, 40:1758-1764.
- Perez, J., J M, D., Rubia, T., & Martinez, J. (2002). Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin : an overview *Int. Microbiology*, 5:53-63.
- Prado, A. G., Bolzon, L. B., Pedroso, C. P., & Moura, A. O. (2008). Nb₂O₅ as Efficient and Recyclable Photocatalyst for

- Indigo Carmine Degradation. *Applied Catalysis B : Environmental*, 82, 219-224.
- Prescott, S. C. (1959). *Industrial Microbiology* (3th ed.). New York: McGraw-Hill Book Company.
- Pujirahayu, N., & Marsoem, S. N. (2006). Efisiensi Pemasakan Bio-Kraft Pupl Kayu Sengon dengan Jamur *Phanerochaete chrysosporium*. *Agrosains*, 19 (2): 202-203.
- Purnomo, A. S., Kamei, I., & Kondo, R. (2008). Degradation of 1,1,1-Trichloro-2,2-Bis (4-Chlorophenyl) Ethane (DDT) by Brown-Rot Fungi. *Journal Of Bioscience And Bioengineering*, 105, 614–621.
- Purnomo, A. S., Mori, T., Takagi, K., & Kondo, R. (2011). Bioremediation of DDT contaminated soil using brown-rot fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 690-695.
- Qodri, A. A. (2011). *Fotodegradasi Zat Warna Remazol Yellow FG dengan Fotokatalis Komposit TiO₂/SiO₂*. Surakarta: Skripsi Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Rahman, M. A., Amin, S. M., Ruhul, Alam, & Shafiqul, A. M. (2012). Removal of Methylene Blue from Waste Water Using Activated Carbon Prepared from Rice Husk. *Dhaka University Journal of Science*, 60(2):185-189.

- Rauf, M. A., Meetani, M. A., Khaleel, A., & Ahmed, A. (2010). Photocatalytic degradation of Methylene blue using a mixed catalyst and product analysis by LC/MS. *Chemical Engineering Journal*, 157:373-378.
- Reddy, C. A. (1995). The Potential for White-rot Fungi in The Treatment of Pollutants. *Current Opinion in Biotechnology*, 6:321-328.
- RI, D. G. (1981). *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Jakarta: Direktorat Depkes RI.
- Rizqi, H. D., & Purnomo, A. S. (2017). The ability of brown-rot fungus *Daedalea dickinsii* to decolorize and transform methylene blue dye. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33:92.
- Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Sack, U., & Gunther, T. (1993). Metabolism of PAH by Fungi and Correlation with Extracellular Enzymatics Activities. *Journal of Basic Microbiology*, 33:269-277.
- Sigit, M. (2008). *Pola Aktivitas Enzim Ligninolitik Jamur Tiram (Pleorotus ostreatus) Pada Media Sludge Industri Kertas*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Skoog, Douglas, A., Holler, J. F., & Crouch, S. R. (1998). *Principles of Instrumental Analysis sixth Edition*. Canada: Thomson Brooks/Cole.

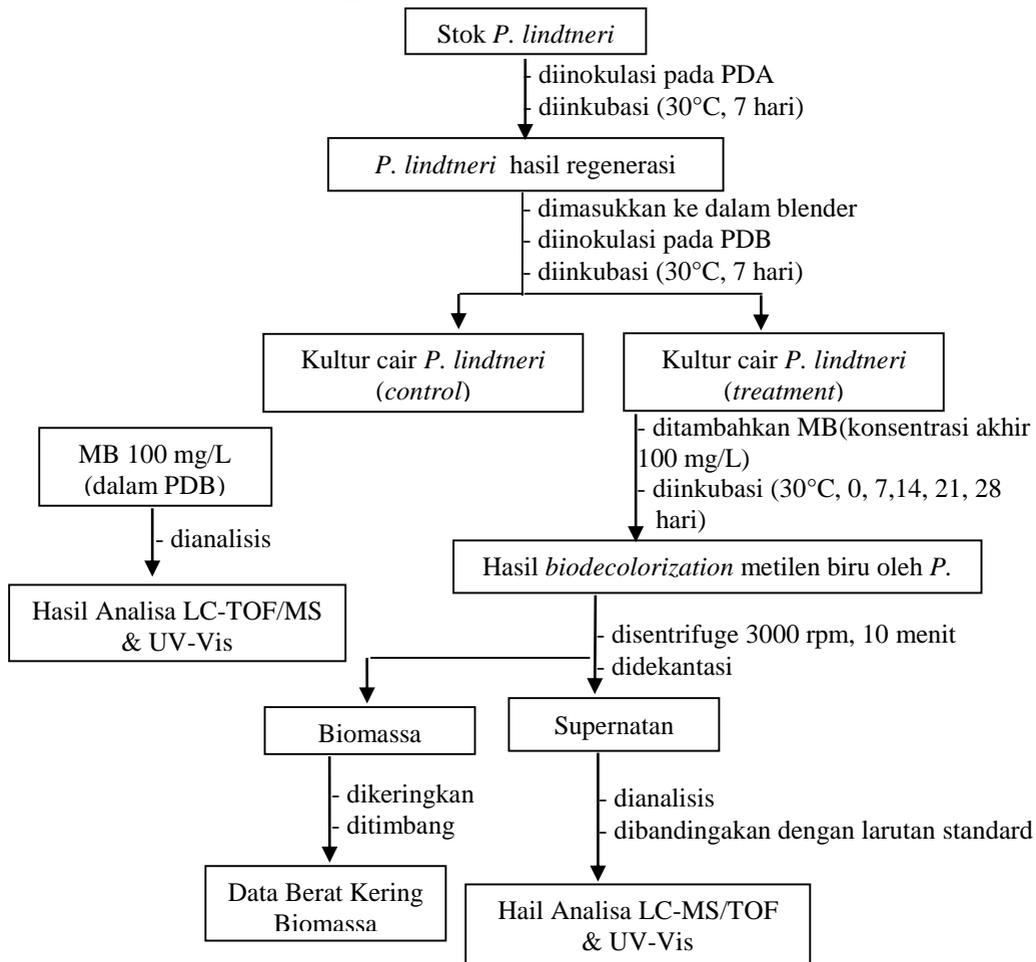
- Steffen, K., Hataka, A., & Hofrichter, M. (2002). Removal and Mineralization Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Litter-decomposing Basidiomycetous Fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 60:212-217.
- Strid, Å. (1975). Wood-inhabiting Fungi of Alder Forest in North Central Scandinavia. *Wahlenbergia*. 1:1-237.
- Sugiharto. (1987). *Dasar-dasar Pengolahan Air Limbah*. Bogor: IPAU Pangan dan Gizi. IPB.
- Sun, Y., & Cheng, J. (2002). Hidrolysis of Lignocellulose Material for Ethanol Production : a reviews. *Bioresource Technology*, 83:1-11.
- Svobodová, K. S. (2007). Mechanism of Reactive Orange 16 Degradation with The White Rot Fungus *Irpex lacteus*. *Process Biochemistry*, 42:1279-1284.
- Tien, M., & Kirk, T. K. (1988). Lignin Peroxidases of *Phanerochaete chrysosporium*. *Methods in Enzymology*, 161:229-238.
- Udiharto, M. (1996). Bioremediasi minyak bumi. *Prosiding Pelatihan dan Lokakarya Peranan Bioremediasi dalam pengelolaan Lingkungan* (pp. 24-39). Cibinong: 24-28 Juni 1996.
- Underwood, A. L., & Day, R. A. (1986). *Analisa Kimia Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga.

- Vidali, M. (2001). Bioremediation: An overview. *Pure and Applied Chemistry*, 73, 1163-1172.
- Winefordner, J. D. (2009). *Liquid Chromatography Time of Flight Mass Spectrometry*. New Jersey: Wiley Inc Publication.
- Xiao, P., Mori, T., Kamei, I., & Kondo, R. (2011). Metabolism of organochlorine pesticide heptachlor and its metabolite heptachlor epoxide by white rot fungi, belonging to genus *Phlebia*. *FEMS Microbiology Letters*, 314:140-146.
- Yani, M., Fauzi, A. M., & Aribowo, F. (2003). Bioremediasi lahan terkontaminasi senyawa hidrokarbon. *Seminar Bioremediasi dan Rehabilitasi Lahan Sekitar Perminyakan dan Pertambangan*. Bogor: Forum Bioremediasi IPB.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir



Lampiran 2. Perhitungan

1. Pembuatan Larutan Metilen Biru 1000 mg/L dalam 50 mL PDB

$$\text{Massa PDB} = \frac{50 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} \times 24 \text{ g}$$

$$= 1,2 \text{ g}$$

$$\text{Massa MB} = \frac{1000 \text{ mg}}{L} \times 50 \text{ mL}$$

$$= \frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} \times 50 \text{ mL}$$

$$= 50 \text{ mg}$$

2. Pembuatan Larutan PDB (350 mL) Sebagai Media Cair

$$\text{Massa PDB} = \frac{350 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} \times 24 \text{ g}$$

$$= 8,4 \text{ g}$$

3. Perhitungan % *decolorization*

Untuk menghitung persen degradasi pewarna MB sesuai persamaan:

$$\% \text{ decolorization} = \frac{Ak - At}{Ak} \times 100\%$$

dimana :

Ak : Absorbansi kontrol (MB 100 mg/L)

At : Absorbansi pada sampel

Lampiran 3. Data Analisa Sampel

Tabel 1. Data analisis Spektrofotometri UV-Vis dan %
decolorization

| Waktu inkubasi (hari) | Absorbansi pada $\lambda=665$ nm | Rata-rata absorbansi | <i>Decolorization</i> (%) |
|-----------------------|----------------------------------|----------------------|---------------------------|
| 0 | 2,958 | 3,1284 | 2,887 |
| | 3,369 | | |
| | 3,057 | | |
| 7 | 0,571 | 0,685 | 78,733 |
| | 0,839 | | |
| | 0,645 | | |
| 14 | 0,082 | 0,094 | 97,082 |
| | 0,094 | | |
| | 0,104 | | |
| 21 | 0,025 | 0,024 | 99,255 |
| | 0,025 | | |
| | 0,021 | | |
| 28 | 0,035 | 0,033 | 98,975 |
| | 0,029 | | |
| | 0,034 | | |

Tabel 2. Data berat kering biomassa *P. lindtneri*

| Waktu (hari) | Berat kering biomassa (g) | <i>Decolorization</i> (%) |
|--------------|---------------------------|---------------------------|
| 0 | 0,178 | 2,887 |
| 7 | 0,186 | 78,733 |
| 14 | 0,176 | 97,082 |
| 21 | 0,171 | 99,255 |
| 28 | 0,175 | 98,975 |

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BIODATA PENULIS



Penulis bernama Nabila Fauziah Fardani. Penulis ini dilahirkan di Mojokerto, 27 April 1995. Penulis telah menempuh pendidikan formal yaitu di TK Kuncup Melati kab. Mojokerto (2000-2002), SD Negeri 1 Wringinrejo Mojokerto (2002-2008), MTs. Al-Multazam Mojokerto (2008-2011), dan SMA Negeri 1 Puri Mojokerto (2011-2014). Penulis melanjutkan jenjang pendidikan S1 di Departemen Kimia FIA melalui jalur SNMPTN dan terdaftar dengan Nomor Registrasi Pokok (NRP) 01211440000048. Pada tahun kedua penulis pernah menjadi staff Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMKA) pada departemen Pengembangan Sumber Daya Mahasiswa (PSDM) 2015/2016. Pada tahun ketiga penulis pernah menjadi pengurus inti Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMKA) sebagai sekretaris departemen Minat dan Bakat (Minbat) 2016/2017. Penulis pernah menjalani kerja praktik di PT. Ajinomoto Mojokerto. Penulis menyelesaikan program Sarjana dengan mengambil tugas akhir di bidang Kimia Mikroorganisme dibawah bimbingan Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D. Penulis dapat dihubungi melalui fauziahnabila6@gmail.com