

Eliminasi Beban Polutan dalam Lindi Hitam oleh Kapang *Non-White Rot* Fungi, *Aspergillus awamori*

Jovita Triastuti dan Neni Sintawardani

Pusat Penelitian dan Pengembangan Fisika Terapan-LIPI, Bandung

ABSTRAK

Telah dilakukan percobaan penggunaan kapang bukan jenis pelapuk putih (*non-white rot fungi*) *Aspergillus awamori* untuk mengetahui kemampuan eliminasinya terhadap beban polutan dalam limbah cair proses pembuatan serat cara basa (lindi hitam). *Phanerochaete chrysosporium*, *Geastrum* sp., *Marasmius* sp., dan *Melanotus* sp. yang diketahui sebagai jenis kapang pengurai lignoselulosa digunakan sebagai pembanding. Substrat dibuat dari campuran lindi hitam dan media mineral (40:60% v/v), dengan dua macam pH yaitu pH asli substrat (9,78) dan pH 5,70. Sterilisasi dilakukan pada suhu 121°C selama 15 menit, dan inkubasi pada suhu kamar (25,9°C) selama tujuh hari. Hasil percobaan pada pH 5,70 menunjukkan nilai eliminasi COD tertinggi diperoleh dari *A. awamori* (55%), dibanding dengan *P. chrysosporium*, *Geastrum* sp., dan *Marasmius* sp. (44-47%), dan terendah adalah *Melanotus* sp. (26%). Terjadi penurunan nilai absorbansi substrat (λ 280 nm) pada semua jenis kapang sebesar 56-64%. Pada pH 5,70 *A. awamori* menunjukkan kemampuan adaptasi dan kecepatan pertumbuhan sebanding dengan *Geastrum* sp., dan diperoleh biomassa 1,60 g/100 ml substrat, lebih tinggi dari jenis kapang lainnya. Dapat disimpulkan bahwa *A. awamori* dapat memanfaatkan senyawa lignoselulosa dalam lindi hitam sebagai sumber nutrisi (karbon), dan penggunaan *A. awamori* dapat menjadi satu alternatif dalam penanganan limbah cair proses pembuatan serat.

Kata kunci: Lindi hitam, lignoselulosa, *non-white rot fungi*, *Aspergillus awamori*.

ABSTRACT

The research on the utilization of non-white rot fungi, *Aspergillus awamori* was conducted to find out the capability of the fungi in eliminating the pollutant load in the liquid waste of fibre processing (black leaching). The research used *Phanerochaete chrysosporium*, *Geastrum* sp., *Marasmius* sp., and *Melanotus* sp. which were known as lignocellulose decomposer as the control. The substrates were made of black leaching mixed with mineral media (40:60% v/v), with 2 levels of pH (pure substrate pH 9.78 and 5.7). Sterilization was conducted at the temperature of 121°C for 15 minutes, and incubation at room temperature (25.9°C) for seven days. The research results at pH 5.70 indicated that the highest COD elimination was found from *A. awamori* (55%), compared to *P. chrysosporium*, *Geastrum* sp., and *Marasmius* sp. (44-47%), and the lowest was from *Melanotus* sp. There was a decrease in substrate absorbance level (λ 280 nm) in all fungi as much as 56-64%. At pH 5.70, *A. awamori* had the adaptation capability and growth rate equal to *Geastrum* sp., and it produced biomass 1.60 g/100 ml substrate, higher than the other fungi. It can be concluded that *A. awamori* can utilize lignocellulose in black leaching as its nutrition source (carbon), and *A. awamori* can be used as an alternative in processing the liquid waste of fibre processing.

Key words: Black leaching, lignocellulose, non-white rot fungi, *Aspergillus awamori*.

PENDAHULUAN

Lindi hitam adalah limbah cair dari proses pembuatan serat cara basa yang ber-ciri pH tinggi (9-12), mengandung beban polutan tinggi antara lain ditunjukkan oleh kadar COD (*Chemical Oxygen Demand*) di atas 60.000 mg/l dan kadar padatan total (TS = *Total Solid*) di atas 6% b/v, dengan komponen utama berupa senyawa ligno-selulosa yang bersifat kompleks dan sulit didegradasi. Penanganan limbah secara tepat dan aman diperlukan agar memenuhi kriteria layak buang sesuai baku mutu limbah industri pulp dan kertas. Pengolahan secara biologis menjadi satu alternatif karena bersifat akrab lingkungan dan dinilai mampu mengurangi risiko timbulnya dampak negatif terhadap badan perairan dibanding dengan perlakuan kimia.

Mikroorganisme yang berperan dalam proses pelapukan kayu di alam terutama adalah jenis *Basidiomycetes* dan *Ascomycetes*. Kapang pelapuk putih (*white rot fungi*) dari *Basidiomycetes* diketahui mampu mendegradasi bukan saja selulosa dan hemiselulosa, tetapi juga lignin. Kapang jenis ini menyebabkan kayu berubah warna menjadi keputihan dan lunak, tetapi tidak mengkerut. Sedangkan kapang pelapuk coklat (*brown rot fungi*) lebih bersifat sebagai pemecah selulosa dan hemiselulosa, dan pada kayu menghasilkan remukan berbentuk kubus berwarna kemerahan atau kecoklatan (Troy, 1996). *P. chrysosporium* dan *Marasmius* sp. pada substrat lindi hitam (dari proses *pulping* jerami gandum) dengan suplemen Ammonium Nitrat menunjukkan nilai eliminasi TS sebesar 52:22%, dan eliminasi lignin sebesar 15:8% (Kuhn *et al.*, 1992).

Aspergillus sp. adalah jenis kapang yang mampu memanfaatkan berbagai macam substrat sebagai sumber nutrisi karena dari kapang tersebut dihasilkan berbagai jenis enzim. Jarang ditemukan suatu substrat yang mengandung senyawa organik dengan kelembaban cukup tanpa ditumbuhi oleh *Aspergillus* sp. Pertumbuhan kapang tersebut di daerah tropika berlangsung dengan cepat, menyebar dan bersifat dominan, sehingga banyak digunakan (Alexopoulos, 1981). Di dalam pengolahan limbah ligno-selulosa, penggunaan *A. awamori* (*fungi Imperfecti*) diharapkan bisa menjadi satu alternatif, karena kapang tersebut diperkirakan juga dapat mengurai senyawa ligno-selulosa (Haider, 1988). Biasanya kapang tersebut digunakan sebagai penghasil enzim glukamilase, dan pemanfaatan *A. awamori* dalam proses penguraian bahan ligno-selulosa masih jarang dilakukan (Goto *et al.*, 1995).

Percobaan penggunaan *A. awamori* pada substrat ekstrak kentang yang disubstitusi sebagian oleh lindi hitam (10-50%) menunjukkan penurunan kadar COD (Sintawardani dan Triastuti, 1996). Data tersebut belum menunjukkan secara nyata kemampuan kapang untuk mengurai senyawa lignoselulosa lindi hitam, karena adanya sumber nutrisi karbon lainnya (ekstrak kentang) yang relatif lebih mudah didegradasi.

Dalam percobaan ini dilihat kemampuan kapang *A. awamori* dalam memecah dan mengeliminasi beban polutan dalam lindi hitam, dibandingkan dengan kapang

jenis *white rot* fungi yaitu *P. chrysosporium*, *Geastrum* sp., *Marasmius* sp., dan *Melanotus* sp. Sebagai sumber karbon digunakan substrat lindi hitam, tanpa suplemen lain kecuali larutan mineral.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Lindi hitam yang digunakan berasal dari limbah proses *pulping* merang padi dengan cara basa, diperoleh dari pabrik kertas PT Padalarang. Sebelum digunakan, lindi hitam disaring dengan saringan ukuran 60 mesh untuk membuang plastik dan kotoran lain sehingga diperoleh kondisi awal bahan yang cukup seragam. Lindi hitam yang digunakan mempunyai karakteristik seperti tercantum dalam Tabel 1. Media mineral yang dipakai adalah modifikasi *Media Mandel* dengan komposisi seperti dalam Tabel 2. Substrat dibuat dari campuran lindi hitam dan media mineral dengan perbandingan 40:60% v/v.

Tabel 1. Karakteristik lindi hitam.

Parameter	Satuan	Konsentrasi
pH	-	9-12
COD total	mg/l	64.000
TS (Total Solid)	% b/b	6,12
OTS (Organic Total Solid)	% b/BK	54
Total C	% b/v	18,33
Total N	% b/v	0,061
Total P	% b/v	0,02

Tabel 2. Komposisi media mineral.

Komposisi	Satuan	Konsentrasi
(NH ₄) ₂ SO ₄	g/l	1,4
KH ₂ PO ₄	g/l	2,0
MgSO ₄ 7 H ₂ O	g/l	3,0
CaCl ₂	g/l	0,3
FeSO ₄ 7 H ₂ O	mg/l	5,0
MnSO ₄ H ₂ O	mg/l	16
ZnSO ₄ 7 H ₂ O	mg/l	14
CoCl ₂	mg/l	20
Yeast Extract	g/l	1,0

Biakan *A. awamori* diperoleh dari Puslitbang Bioteknologi-LIPI, Cibinong, dan *P. chrysosporium* dari Unit Penelitian Bioteknologi Perkebunan, Bogor. Sedangkan biakan *Geastrum* sp., *Marasmius* sp., dan *Melanotus* sp. berasal dari *fruit body* kapang yang diisolasi langsung dari alam di lokasi H6-H8 Kebun Raya Cibodas. Biakan miring inokulum kapang dibuat dengan 5 ml media padat PDA (*Potato Dextrose Agar*), dan inkubasi dilakukan pada suhu ruang (25,9°C) selama lima hari. Uji enzimatik sederhana berdasarkan perubahan warna dilakukan dengan *Bavendamm test* (uji phenoloxydase) dan uji laccase menggunakan larutan Syringaldazine (Troy, 1996).

Metode Percobaan

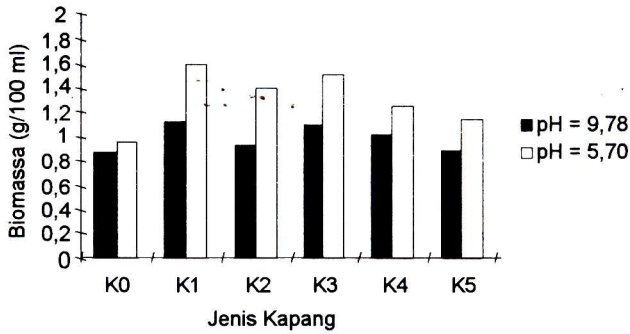
Perlakuan terdiri dari tingkat pH substrat dan jenis kapang. Terdapat dua macam pH substrat, yaitu pH 9,78 (pH substrat asli) dan pH 5,70 yang diatur dengan penambahan larutan *buffer* fosfat (KH_2PO_4 1 M). Gelas erlenmeyer kapasitas 250 ml diisi dengan 100 ml substrat, disterilkan (*Autoclave*) pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian diinokulasi pada suhu kamar dengan biakan miring kapang *A. awamori* (K1), *P. chrysosporium* (K2), *Geastrum* sp. (K3), *Marasmius* sp. (K4), dan *Melanotus* sp. (K5) serta tanpa biakan sebagai kontrol (K0). Inkubasi dilakukan pada suhu kamar selama tujuh hari tanpa pengadukan maupun aerasi. Percobaan diulang dua kali. Setelah masa inkubasi, substrat disaring dengan kertas saring Whatman 41 kemudian dianalisis. Pengamatan terutama dilakukan terhadap produksi biomassa, kadar COD, kadar TS, kadar lignin (*Klason*), serta nilai *absorbancy* pada λ 280 nm (indikator kualitatif konsentrasi lignin).

HASIL DAN PEMBAHASAN

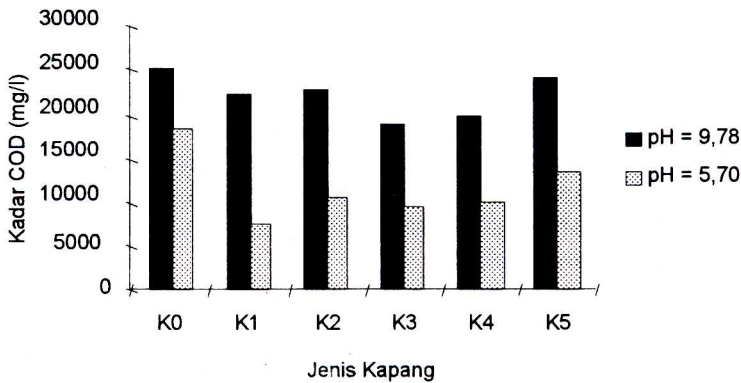
Produksi Biomassa

Secara visual dapat dilihat lapisan biomassa pada permukaan substrat yang menunjukkan adanya pertumbuhan kapang. Hasil pengamatan menunjukkan adanya perubahan kadar COD, kadar TS, nilai *absorbancy* dan kadar lignin substrat setelah masa inkubasi. Kapang *A. awamori* menunjukkan kemampuan adaptasi dan kecepatan pertumbuhan sebanding dengan *Geastrum* sp. Pembentukan biomassa kedua jenis kapang mulai tampak pada hari kedua, dan pada akhir masa inkubasi diperoleh lapisan biomassa yang tebal dan kompak. Sedangkan jenis kapang lainnya baru tampak pada hari ketiga sampai keempat, dan biomassa yang terbentuk tipis dan kurang kompak.

Pada Gambar 1 dapat dilihat produksi biomassa kapang pada pH 5,70 (pH optimum) lebih tinggi dibandingkan dengan pH 9,78. Pada pH 5,70 *A. awamori* mampu memproduksi biomassa 1,60 g/100 ml substrat, lebih tinggi dari jenis kapang lainnya yaitu *P. chrysosporium*, *Geastrum* sp., *Marasmius* sp., dan *Melanotus* sp. masing-masing sebesar 1,38 ; 1,51 ; 1,26 ; dan 1,15 g/100 ml substrat.



Gambar 1. Produksi biomassa kapang *A. awamori* (K1), *P. chrysosporium* (K2), *Geastrum* sp. (K3), *Marasmius* sp. (K4), dan *Melanotus* sp. (K5) dan Kontrol (K0) pada subbstrat pH 5,70 dan pH 9,78 (asli).



Gambar 2. Kadar COD setelah pertumbuhan *A. awamori* (K1), *P. chrysosporium* (K2), *Geastrum* sp. (K3), *Marasmius* sp. (K4), dan *Melanotus* sp. (K5), dan Kontrol (K0) pada subbstrat pH 5,70 dan pH 9,78 (asli).

Kadar COD

Pada Gambar 2 terlihat penurunan kadar COD substrat setelah ditumbuhi kapang pada pH 5,70 lebih tinggi dari pada pH 9,78. Pada substrat pH 9,78 eliminasi terbesar diperoleh dari kapang *Marasmius* sp. yaitu sebesar 31%, dibandingkan *Geastrum* sp., *A. awamori*, *P. chrysosporium*, dan *Melanotus* sp. sebesar 29, 23, 23, dan 14%.

Pada substrat pH 5,70 eliminasi COD oleh *A. awamori* meningkat secara tajam yaitu menjadi 55%, dibandingkan *Geastrum* sp., *Marasmius* sp., dan *P. chrysosporium* berkisar 44-47%, dan *Melanotus* sp. tetap menunjukkan kinerja terendah yaitu 26%. Dari percobaan terbukti bahwa kapang *A. awamori* (*non-white rot fungi*) mampu memanfaatkan bahan organik lignoselulosa lindi hitam. Kinerja *A. awamori* yang

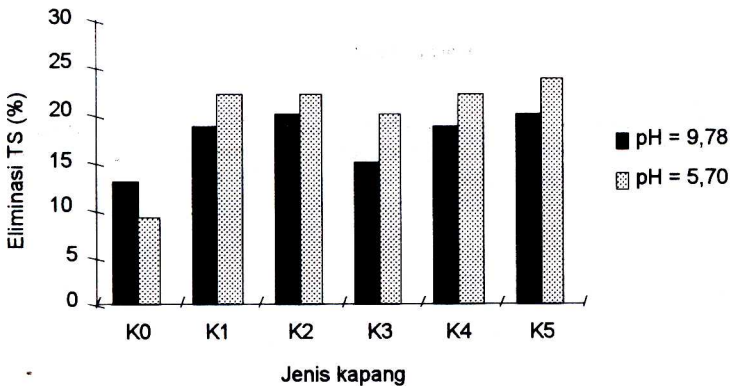
lebih rendah pada percobaan sebelumnya (substrat lindi hitam-ekstrak kentang, tanpa suplemen mineral), diduga karena ketersediaan mineral dalam substrat tersebut kurang mencukupi bagi pertumbuhan kapang. Suplementasi mineral yang dilakukan dalam percobaan ini mampu meningkatkan kinerja *A. awamori*.

Kadar TS

Tingkat eliminasi total padatan oleh kapang pada substrat pH 5,70 lebih besar dibandingkan dengan substrat pH 9,78 (20-24%:10-20%). Tingkat eliminasi TS pada pH 9,78 sebanding dengan tingkat eliminasi COD, sedangkan pada pH 5,70 nilai eliminasi COD jauh lebih besar dari pada TS. Diduga pada pH optimal kapang (5,70) penurunan kadar TS diikuti oleh proses peruraian senyawa kompleks ligno-selulosa substrat secara lebih sempurna menghasilkan senyawa sederhana (rantai pendek) dengan nilai COD rendah.

Absorbancy (λ 280 nm)

Warna lindi hitam terutama ditentukan oleh konsentrasi lignin yang ada di dalamnya. Pada limbah *pulping* jerami gandum dengan cara basa, sekitar 77% dari total warna disebabkan oleh lignin yang terlarut dalam alkali (Terron *et al.*, 1992). Peruraian lignin oleh kapang ligninolitik menyebabkan penurunan konsentrasi lignin, di samping terjadinya proses dekolorisasi warna lindi hitam. Perubahan konsentrasi lignin tersebut secara kualitatif dapat dilihat dari perubahan nilai *absorbancy* pada λ 280 nm (Boettger *et al.*, 1978).



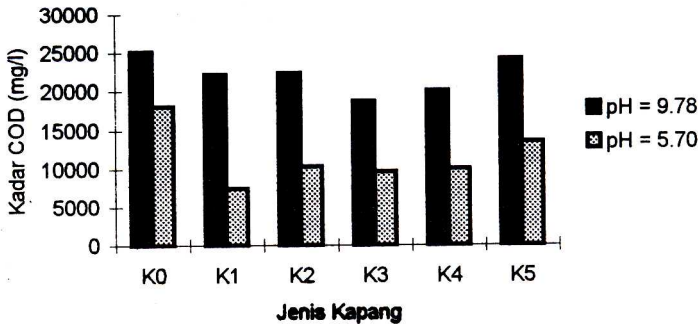
Gambar 3. Kadar TS setelah pertumbuhan *A. awamori* (K1), *P.chrysosporium* (K2), *Geastrum* sp. (K3), *Marasmius* sp. (K4), dan *Melanotus* sp. (K5), dan Kontrol (K0) pada substrat pH 5,70 dan pH 9,78 (asli).

Pada pH 5,70 terjadi penurunan nilai *absorbancy* substrat pada semua jenis kapang yaitu berkisar antara 56-64%, dibandingkan dengan substrat pH 9,78 yang hanya memberikan nilai penurunan 10-20% (Gambar 4).

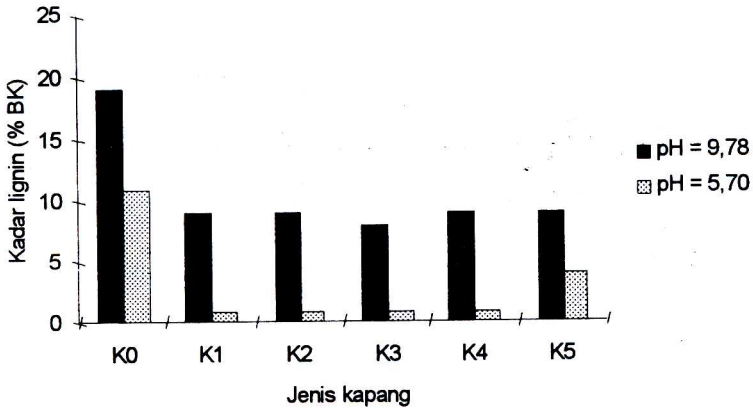
Kadar Lignin (Klason)

Dalam suasana asam lignin cenderung terkondensasi dan terjadi penggabungan antara gugus polimer lignin sehingga berat molekulnya bertambah. Lignin terkondensasi ini bersifat mengendap (Larrea *et al.*, 1989). Kadar lignin awal substrat (lindi hitam:media mineral = 40:60% v/v) pada pH 5,70 lebih rendah dibandingkan pada pH 9,78 (11 < 19%), karena adanya pengendapan sebagian lignin dalam keadaan asam. Pada Gambar 5 terlihat penurunan kadar lignin filtrat terjadi pada semua jenis kapang, dari 19% menjadi rata-rata 8-9% untuk substrat pH 9,78, dan dari 11% menjadi 1-4% pada substrat pH 5,70.

Hasil percobaan menunjukkan adanya hubungan linier antara penurunan kadar lignin dengan tingkat eliminasi COD, TS, dan *absorbancy* warna lindi hitam oleh kapang.



Gambar 4. *Absorbancy* setelah pertumbuhan *A. awamori* (K1), *P. chrysosporium* (K2), *Geastrum* sp. (K3), *Marasmius* sp. (K4), dan *Melanotus* sp. (K5) dan Kontrol (K0) pada substrat pH 5,70 dan pH 9,78 (asli)



Gambar 5. Kadar lignin filtrat setelah pertumbuhan kapang *A. awamori* (K1), *P. chrysosporium* (K2), *Geastrum* sp. (K3), *Marasmius* sp. (K4), *Melanotus* sp. (K5), dan Kontrol (K0) pada substrat pH 5,70 dan 9,78 (asli).

KESIMPULAN

Dapat disimpulkan bahwa kapang bukan pelapuk putih (*non-white rot fungi*) *A. awamori* (*fungi imperfecti*) mampu mengeliminasi beban polutan dalam lindi hitam seperti pada *P. chrysosporium*, *Geastrum* sp., *Marasmius* sp., dan *Melanotus* sp. Terjadinya penurunan nilai COD, TS *absorbancy* (280 nm), dan kadar lignin substrat menunjukkan kemampuan kapang *A. awamori* untuk memanfaatkan senyawa ligno-selulosa dalam lindi hitam (hemiselulosa dan lignin) sebagai sumber karbon. Pengaturan pH substrat (5,70) dan suplementasi mineral dapat meningkatkan pertumbuhan dan kinerja kapang. Penggunaan *A. awamori* dalam pengolahan lindi hitam perlu diuji lebih lanjut untuk melihat kinerja kapang dalam reaktor sistem kontinu. Perlu diuji pula kemampuan tumbuh kapang *A. awamori* pada substrat murni selulosa, hemiselulosa, dan lignin untuk mengetahui kemampuan degradasinya terhadap masing-masing komponen.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai dari Riset Unggulan Terpadu III (DRN). Ucapan terima kasih disampaikan kepada Sdri. Woro Artati yang telah membantu dalam penelitian ini. Terima kasih juga kepada Dr. Endang Sukara atas bantuan biakan, dan Dra. Ambar Susilorukmi atas sumbang saran dan kesediaannya untuk berdiskusi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulos, C.J. 1981.** Introduction mycology. Second Edition. John Wiley & Sons. New York: 271-278.
- Boettger, J., M.L. Schultz, and Krause. 1978.** Analyse wasserloeslicher holzschliff und zellstoffbestandteile. Das Papier 32: V39-V45.
- Goto, M., E. Kuwano, W. Kanlayakrit, and S. Hayashida. 1995.** Role of carbohydrate moiety of glucoamylase from *Aspergillus awamori* var. kawachi in the Digestion of Raw Starch. Biosci. biochem 59(1): 16-20.
- Haider, K. 1988.** Der mikrobielle abbau des lignins und seine bedeutung fuer den kreislauf des kohlenstoffs. Forum Mikrobiologie Volume 11(11): 477-480, 482-483.
- Larrea, L., C. Foster, and D. Mele. 1989.** Kraft lignin behaviour in diffused aeration of kraft effluents. Wat. Scie. Technol. 21: 241-253.
- Kuhn, S., S. Camarero, M. Valmaseda, and G. Almendros. 1992.** Straw biopulping: selective delignification with *Pleurotus eryngii*. In Proceedings of the Fifth International Conference on Biotechnology in Pulp and Paper Industry. Uni Publishers Co., Ltd. Tokyo-Japan: 15-20.
- Sintawardani, N. dan J. Triastuti. 1996.** Prospek penggunaan kapang *Aspergillus awamori* dalam pengolahan limbah cair proses pembuatan serat cara basa. Seminar Nasional Biologi Lingkungan VI.
- Terron, M.C., A.M. Calvo, M.L. Fidalco, and P. Manzanares. 1992.** Chemical characterization and fungal decolorization of straw soda pulping effluents. In Proceedings of the Fifth International Conference on Biotechnology in Pulp and Paper Industry. Uni Publishers Co., Ltd. Tokyo-Japan: 51-56.
- Troy, R. 1996.** Collecting and isolating saprobic basidiomycetes from natural habitats. Papers. In Workshop on Crop Residue Biodegradation Studies. International Mycological Institute - Research and Development of Biology LIPI.