EKSPLORASI FUNGI INDIGENUS PENGHASIL ENZIM LAKASE PADA LIMBAH BATIK PEKALONGAN

Uun Rohmawati [1)], Rina Sri Kasiamdari[2)], Shaddiqah Munawarah Fauziah[3)]
Universitas Nahdlatul Ulama Pasuruan[1) 3)], Universitas Gadjah Mada[2)]
rohmawati@itsnupasuruan.ac.id [1)], rkasiamdari@ugm.ac.id [2)], fauziah@itsnupasuruan.ac.id[3)]

Abstrak

Pekalongan merupakan salah satu kota penghasil batik terbesar di Indonesia. Pada umumnya limbah industri batik langsung di buang ke lingkungan sehingga menyebabkan pencemaran serta berbahaya bagi kesehatan. Salah satu alternatif dapat memanfaatkan fungi lokal (indigenus) karena menghasilkan enzim lakase yang dapat menguraikan zat pewarna. Tujuan penelitian ini mengisolasi dan menseleksi fungi penghasil enzim lakase dari lingkungan yang tercemar limbah batik di Pekalongan. Metode yang digunakan yaitu skrining kualitatif menggunakan asam tanat, uji aktivitas enzim lakase dan pengamatan makroskopik dan mikroskopik. Hasil pada penelitian ini didapatkan 127 isolat fungi, namun hanya 27 isolat fungi yang membentuk zona kuning hingga coklat saat skrining kualitatif. Pada uji aktivitas enzim lakase didapatkan 21 isolat fungi yang dapat menghasilkan aktivitas enzim lakase. Diambil 5 fungi potensial penghasil aktivitas enzim lakase tertinggi yaitu isolat KBy_{T1}, $33By_{L1}$, B Br_{T1}, 58 J_{L2}, dan 13 B_{yL1} (aktivitas enzim lakase berurutan yaitu 19.82 U/ml, 6.08 U/mL, 5.98 U/mL, 3.89 U/mL dan 3.79 U/mL). Isolat KBy_{T1} dan B Br_{T1} termasuk ke dalam genus *Trichoderma*, isolat $33By_{L1}$ termasuk genus *Talaromyces*, isolat 58 J_{L2} termasuk genus *Fusarium* dan isolat 13 B_{yL1} genus *Aspergillus*.

Kata kunci: Fungi, enzim lakase, limbah batik, Pekalongan

Abstract

Pekalongan is one of the largest batik producing cities in Indonesia. In general, batik industry waste is directly disposed of into the environment, causing pollution and being hazardous to health. One alternative is to utilize local fungi (indigenous) because they produce laccase enzymes that can decompose dyes. The purpose of this study was to isolate and select fungi producing laccase enzymes from the environment contaminated with batik waste in Pekalongan. The methods used were qualitative screening using tannic acid, laccase enzyme activity testing, and macroscopic and microscopic observations. The results of this study obtained 127 fungal isolates, but only 27 fungal isolates formed yellow to brown zones during qualitative screening. In the laccase enzyme activity test, 21 fungal isolates were obtained that could produce laccase enzyme activity. Five potential fungi producing the highest laccase enzyme activity were taken, namely isolates KByT1, 33ByL1, B BrT1, 58 JL2, and 13 ByL1 (laccase enzyme activity in sequence, namely 19.82 U/ml, 6.08 U/mL, 5.98 U/mL, 3.89 U/mL and 3.79 U/mL). Isolates KByT1 and B BrT1 belong to the genus Trichoderma, isolate 33ByL1 belongs to the genus Talaromyces, isolate 58 JL2 belongs to the genus Fusarium and isolate 13 ByL1 belongs to the genus Aspergillus.

Keywords: fungi, laccase enzyme, batik waste, Pekalongan

Article Info

Received date:20 June Revised date: 25 June Accepted date:27 July 2024

PENDAHULUAN

Pekalongan merupakan salah satu kota penghasil batik terbesar di Indonesia, dimana produksinya tersebar ke seluruh Nusantara dan diekspor ke berbagai Negara sehingga kota Pekalongan dijuluki dengan "*The World City of Batik*". Berdasarkan data dari Badan Lingkungan Hidup Kota Pekalongan, pada tahun 2014 kota Pekalongan memiliki 917 industri batik yang tersebar di empat kecamatan yaitu 247 industri batik di Pekalongan Barat, 124 industri batik di Pekalongan Timur, 104 industri batik di Pekalongan Utara, dan 442 industri batik atau sekitar 48,2% industri batik berada di Pekalongan Selatan.

Industri batik di Pekalongan setiap bulannya memproduksi batik ± 501.900/bulan dan membuang air limbah sebanyak 73.878 m^3/bulan tanpa melalui pengolahan limbah terlebih dahulu (Budiyanto *et al.,* 2018). Berdasarkan *survey*, pembuangan air limbah dari setiap industri batik tersebut langsung di buang ke lingkungan tanpa pengolahan terlebih dahulu sehingga menyebabkan kondisi sungai di Pekalongan bewarna merah kehitaman, bau menyengat serta terdapat minyak. Kondisi tersebut menimbulkan dampak negatif yaitu pencemaran air, tanah serta berbahaya bagi kesehatan masyarakat sekitar (Bharagava, 2017; Chowdhary *et al.,* 2018). Limbah batik yang banyak mencemari lingkungan tersebut dapat dilakukan salah satunya menggunakan biodegradasi dan dekolorisasi dengan memanfaatkan fungi lokal (indigenus) (Rohmawati & Kasiamdari, 2022).

Fungi memiliki potensi yang sangat tinggi dalam mendegradasi limbah pewarna karena menghasilkan enzim intraseluler dan ekstraselular. Salah satu enzim yang berperan dalam mendegradasi pewarna tekstil yaitu lakase. Enzim lakase menunjukkan potensi yang besar dalam mendegradasi zat warna karena tidak memerlukan mediator atau co-substrat yang mahal, kecuali oksigen molekular (Singh *et al.,* 2020). Berdasarkan latar belakang di atas sehingga perlu dilakukan eksplorasi dan dikaji lebih lanjut dengan tujuan mengisolasi dan menseleksi fungi lokal (indigenus) penghasil enzim lakase dari lingkungan yang tercemar limbah pewarna batik di Pekalongan.

METODE

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada empat titik pembuangan limbak batik di Pekalongan yaitu meliputi IPAL Kauman, IPAL Banyuurip, IPAL Buaran dan IPAL Jenggot. Masing-masing titik diambil sampel tanah, air dan lumpur yang terpapar limbah batik sebanyak tiga ulangan.

Isolasi Fungi Dari Limbah Batik

Isolasi Fungi dilakukan dengan metode pengenceran bertingkat. Pada sampel tanah dan lumpur diambil 10 gram kemudian disuspensikan ke dalam 90 mL akuades steril. Sedangkan sampel air limbah batik diambil

sebanyak 1 mL di transfer ke dalam 9 mL akuades steril. Masing-masing pengenceran (10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}) diambil 0.1 mL diinokulasian ke medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang di lengkapi dengan 100 mg/L *chloramphenicol* untuk menekan pertumbuhan bakteri. Plat diinkubasi pada suhu ruang (25 ^{0}C ± 2 ^{0}C) selama 7 hari.

Skrining Fungi Penghasil Enzim Lakase

Skrining tahap awal yaitu uji kualitatif kemampuan fungi dalam memproduksi enzim lakase. Skrining ini dilakukan dengan menggunakan medium PDA yang mengandung asam tanat sebesar 5 g/L. Satu plug isolat fungi dengan diameter ± 0.5 cm^2 diletakkan di atas medium, kemudian diinkubasi selama 5 hari pada suhu ruang (28 ^{0}C ± 2 ^{0}C). Adanya kemampuan fungi dalam memproduksi enzim lakase dilihat dengan terbentuknya zona coklat di sekeliling koloni (Senthivelan *et al.*, 2019).

Uji Aktivitas Enzim Lakase

Isolat fungi hasil skrining tahap pertama diseleksi untuk produksi lakase di dalam media fermentasi cair. Masing-masing isolat fungi diambil tiga plug dengan diameter ± 0.5 cm2, kemudian di masukkan secara aseptik ke dalam labu Erlenmeyer (250 mL) yang berisi 100 mL media cair pH 5 yang mengandung 5 g/L glukosa, 5 g/L pepton, 1 g/L KH_2PO_4, 1 g/L amonium asetat ($NH_4CH_3CO_2$), 0.01 g/L $MgSO_4$, 0.01 g/L $CaCl_2$, 0.001 g/L $MnSO_4$, 0.001 g/L $FeSO_4.7H_2O$, 100 ppm asam galat dan 1 mM $CuSO_4$. Media yang sudah diinokulasi diinkubasi pada suhu ruang (28 ^{0}C ± 2 ^{0}C) dan dishaker selama 7 hari. Cairan yang terbentuk dituang ke dalam tabung sentrifus 15 mL kemudian di sentrifus dengan kecepatan 11000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 ^{0}C. Supernatan hasil sentrifus digunakan untuk menentukan aktivitas enzim lakase.

Uji aktivitas ezim lakase dilakukan menggunakan *syringaldazine* 0.5 mM dan larutan buffer sodium asetat pH 5,5. Kemudian diukur dengan menggunakan alat spetrofotometer UV VIS dengan panjang gelombang λ 525 nm. Indikator positif *syringaldazine* ditandai dengan warna ungu hingga merah muda (Falah *et al.*, 2018). Hasil absorbansi yang didapatkan kemudian dihitung menggunakan rumus berikut untuk mendapatkan data aktivitas enzim lakase :

$$Aktivitas\ enzim = \left(\frac{Abs}{\varepsilon_m}\right) x(V_{mixture}\mu L : 10^6)x10^6x\left(\frac{60}{t}\right) : (V_{enzyme}\mu L : 10^3)$$

Keterangan :

Abs : hasil absorbansi uji

Ɛm: *extinction coefficient* enzim lakase dengan substrat ssyringaldazine yaitu 65.000 M^{-1} cm^{-1} dengan λ : 525-530 *(Ramadhan et al.,* 2021)

$V_{larutan}$: volume total larutan dalam kuvet (µL)

V_{enzime}:volume enzim yang ditambahkan (µL)

t/60 : pengambilan data absorbansi dilakukan tiap 10 detik selama 1 menit

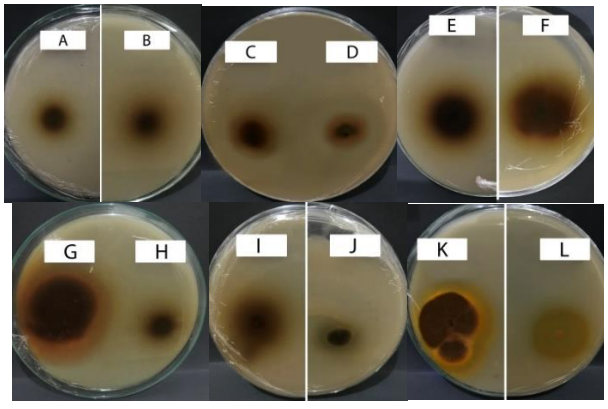
HASIL DAN PEMBAHASAN

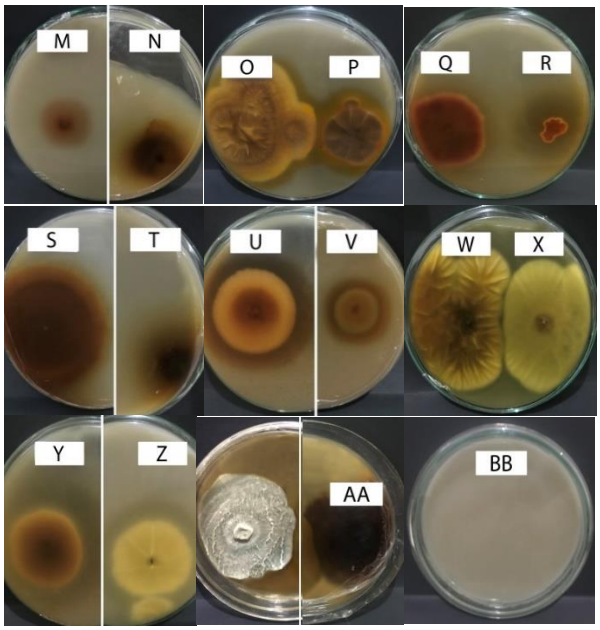
Sampel limbah batik yang digunakan untuk isolasi fungi indigenus yang dapat menghasilkan enzim lakase sebanyak 36 sampel. Jumlah isolat fungi hasil isolasi dari berbagai lokasi sampling yaitu 127 isolat fungi. Isolat fungi banyak ditemukan pada sampel tanah yaitu 59 isolat (12 isolat dari lokasi Banyuurip,15 isolat dari lokasi Buaran, 14 isolat dari lokasi Jenggot, 18 isolat dari lokasi Kauman), sampel lumpur sebanyak 49 isolat fungi (20 isolat dari lokasi Banyuurip, delapan isolat dari lokasi Buaran, 14 isolat dari lokasi Jenggot, tujuh isolat dari lokasi Kauman) dan sampel air sebanyak 19 isolat fungi (enam isolat dari air Banyuurip, tiga isolat dari lokasi Buaran, dua isolat dari lokasi Jenggot, delapan isolat dari lokasi Kauman).

Isolat fungi lebih banyak ditemukan pada sampel tanah dan lumpur karena kondisi lingkungan yang lembab dan pH yang mendukung fungi untuk pertumbuhannya. Salah satu faktor yang paling mempengaruhi komunitas mikroba dalam tanah dan lumpur adalah pH. Hal tersebut berkaitan dengan penelitian ini dimana isolat fungi lebih banyak ditemukan pada sampel tanah dan lumpur pada rentang pH antara 4,5 – 7,5. Menurut Rousk *et al.,* (2009) puncak peningkatan pertumbuhan fungi pada pH 4,5 dan pertumbuhan fungi cenderung menurun secara signifikan di bawah pH 4,5 karena adanya penurunan pertumbuhan tanaman sehingga memberhentikan reproduksi fungi.

Seluruh fungi hasil isolasi dari berbagai lokasi sampling pembuangan limbah batik di Pekalongan dilakukan skrining kualitatif untuk mengetahui fungi yang mampu menghasilkan enzim lakase. Hal tersebut dikarenakan enzim lakase merupakan salah satu enzim yang berpotensi sebagai biodekolorisator pewarna sintetik. Enzim lakase juga berperan dalam mengubah senyawa polutan toksik menjadi senyawa yang tidak beracun (Andriani *et al.*, 2016).

Skrining pada penelitian ini menggunakan asam tanat yang merupakan salah satu indikator dalam produksi lakase. Asam tanat ini banyak digunakan sebagai indikator produksi lakase dikarenakan murah, mudah dan cepat sehingga langsung dapat diketahui perubahan warna yang terlihat pada cawan petri. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya zona kuning hingga coklat disekitar koloni (Sharma *et al.,* 2017a). Hasil menunjukkan bahwa dari 127 isolat fungi yang ditemukan, terdapat 23 isolat fungi yang positif menghasilkan enzim lakase (Gambar 1).





Gambar 1. Hasil positif skrining kualitatif enzim lakase dengan asam tanat. (A). Isolat A By_{T1} (B).Isolat 13 B_{yL1} (C).Isolat B Br_{T1} (D) Isolat 113 K_{T3} (E) Isolat K By_{T1} (F) Isolat 33By_{L1} (G). Isolat 17 J_{L1} (H) Isolat 11 B_{yL1} (I) Isolat 57 J_{L2} (J) Isolat MM K_{T1} (K) Isolat 36 By $_{L1}$(L) Isolat 34 K_{L1} (M) Isolat 109 K_{T3} (N) Isolat 102 K_{A3} (O) Isolat 75 By_{T3} (P) Isolat 46 Br_{L2} (Q) Isolat 20 B_{rL1} (R) Isolat Z B_{yA1} (S) Isolat 100 Br_{T3} (T) Isolat 18 J_{L1} (U) Isolat 58 J_{L2} (V) Isolat 79 J_{T2} (W) Isolat 8 B_{rT1} (X) Isolat 7 B_{rT1} (Y) Isolat 10 K_{L1} (Z) Isolat 5 J_{L1} (AA) Isolat 37 By $_{L1}$ (BB) Kontrol (medium + asam tanat tanpa koloni).

Pada gambar 1 menunjukkan bahwa terdapat 23 isolat fungi yang berpotensi sebagai fungi lignolitik yang ditandai dengan adanya perubahan warna kuning hingga coklat pada sekitar koloni. Perubahan warna kuning hingga coklat pada sekitar koloni dengan tingkatan (+) hingga (++++) jika dibandingkan dengan media kontrol (media + asam tanat) (Tabel 2). Hasil positif menunjukkan produksi enzim lignolitik yang mengoksidasi asam tanat (Gao *et al.*, 2011). Senyawa asam tanat terbukti mampu meningkatkan aktivitas lak`ase pada beberapa Basidiomycetes dan Ascomycetes (Kim, 1995). Berdasarkan penelitian Dewi *et al.*, (2018) menyatakan bahwa adanya zona coklat belum tentu mengindikasikan memproduksi enzim lakase. Hal ini didukung oleh penelitian Sharma *et al.*, (2017) bahwa isolat fungi ANF185 menghasilkan hasil (-) pada asam tanat namun memiliki 2.66 U/mL untuk aktivitas lakase. Hal tersebut sehingga perlu dilakukan uji skrining selanjutnya untuk memperoleh data kuantitatif aktivitas lakase.

Pada uji aktivitas enzim lakase (23 isolat fungi) dilakukan dengan menambahkan induser berupa asam galat 100 ppm dan $CuSO_4$ dengan kosentrasi 1 mM untuk meningkatkan produksi lakase. Hal tersebut dikarenakan lakase dapat diproduksi dengan menggunakan glukosa sebagai sumber karbon utama dan beberapa induser diantaranya adaalah $CuSO_4$, asam galat, asam tanat, s*yringaldazine*, vanilin dan *xylidine (Bettin et al.*, 2014). Dua puluh tujuh isolat fungi dilakukan skrining kuantitatif pengukuran aktivitas enzim lakase, didapatkan hasil bahwa 21 isolat fungi menunjukkan aktivitas enzim lakase (Tabel 2).

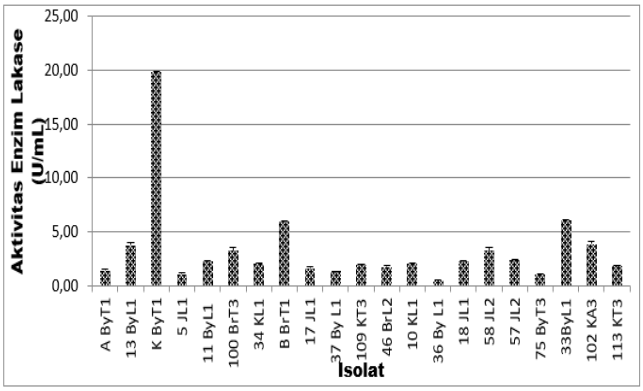
Tabel 2. Intensitas pembentukan zona coklat pada medium asam tanat (skrining kualitatif) dan uji aktivitas enzim lakase.

No	Kode Isolat	Skrining Kualitatif	Aktivitas lakase (U/mL±SD)
1.	A By_{T1}	+++	1,42 ± 0,09
2.	13 B_{yL1}	+++	3,79 ± 0,18
3.	K By_{T1}	++++	19,82 ± 0,09
4.	5 J_{L1}	+	1,09 ± 0,08
5.	Z B_{yA1}	*	-
6.	11 B_{yL1}	++	2,31 ± 0,03
7.	100 Br_{T3}	++++	3,24 ± 0,33
8.	34 K_{L1}	+	2,10 ± 0,04
9.	B Br_{T1}	++	5,98 ± 0,02
10.	17 J_{L1}	++++	1,63 ± 0,13
11.	37 By $_{L1}$	+++	1,34 ± 0,004
12.	MM K_{T1}	*	-
13.	109 K_{T3}	+	1,98 ± 0,05

14.	46 Br_{L2}	++	1,76 ± 0,14
15.	10 K_{L1}	*	2,10 ± 0,04
16.	36 By_{L1}	+	0,48 ± 0,09
17.	20 B_{rL1}	*	-
18.	18 J_{L1}	+++	2,33 ± 0,05
19.	58 J_{L2}	+	3,89 ± 0,18
20.	57 J_{L2}	+++	2,45 ± 0,06
21.	75 By_{T3}	++	1,08 ± 0,05
22.	33By_{L1}	++++	6,08 ± 0,08
23.	102 K_{A3}	+++	3,02 ± 0,33
24.	113 K_{T3}	++	1,84 ± 0,11
25.	79 J_{T2}	+	-
26.	8 B_{rT1}	+	-
27.	7 B_{rT1}	+	-

Keterangan : SD (Standar Deviasi), (*) = koloni dengan zona jernih, (+) = koloni dengan zona kuning, (++) = koloni dengan zona kuning kecoklatan, (+++) = koloni dengan zona coklat yang lebih kecil ,(++++) = koloni dengan zona coklat tua

Berdasarkan data pada Tabel 2. menunjukkan bahwa aktivitas enzim lakase tertinggi dapat dilihat dengan tingginya aktivitas lakase yaitu 19.82 ± 0,09 U/mL pada isolat $KBy_{T1.}$ Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat 19.82 jumlah lakase yang dioksidasi oleh 1 µmol senyawa *syringaldazine* per menit. Semakin rendah aktivitas enzim lakase yang dihasilkan (U/mL) menunjukkan bahwa hanya terdapat sedikit jumlah lakase yang dioksidasi oleh 1 µmol senyawa *syringaldazine* per menit. Terdapat enam isolat fungi (Isolat Z $B_{yA1,}$ MM $K_{T1,}$ 79 $J_{T2,}$ 20 $B_{rL1,}$ 7 B_{rT1} dan 8 B_{rT1}) yang tidak terdeteksi oleh *syringaldazine*. Pada penelitian ini menggunakan *syringaldazine* karena *syringaldazine* merupakan reagen khusus untuk lakase (Gáspár *et al.*, 2020). Lakase tidak terdeteksi oleh *syringaldazine* karena asam tanat salah satu reagen skrining tradisional untuk lakase (El-Batal *et al.*, 2015). Aktivitas enzim lakase tertinggi sebesar 19,82 ± 0,09 U/mL yang dihasilkan isolat fungi K By_{T1} dan terendah yaitu 0,48 ± 0,09 U/mL yang dihasilkan isolat fungi 36 By_{L1}.

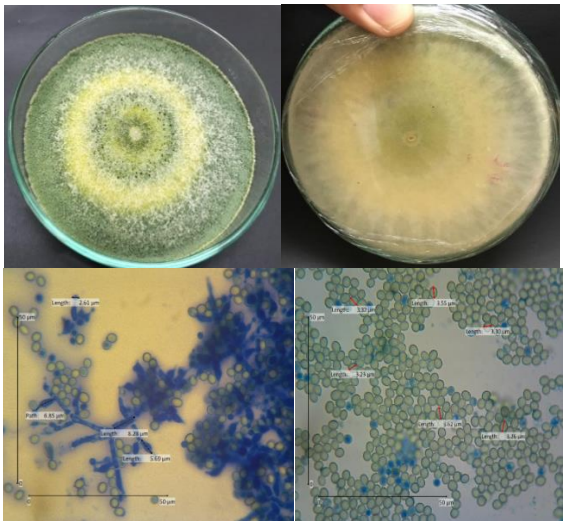


Gambar 2. Uji Aktivitas Enzim Lakase dengan *Syringaldazine*

Berdasarkan hasil uji aktivitas enzim lakase, lima fungi yang menghasilkan enzim lakase tertinggi akan dilakukan pengamatan makroskopik dan mikroskopik diantaranya yaitu isolat KBy_{T1}, $33By_{L1}$, B Br_{T1}, 58 J_{L2}, dan 13 B_{yL1}.

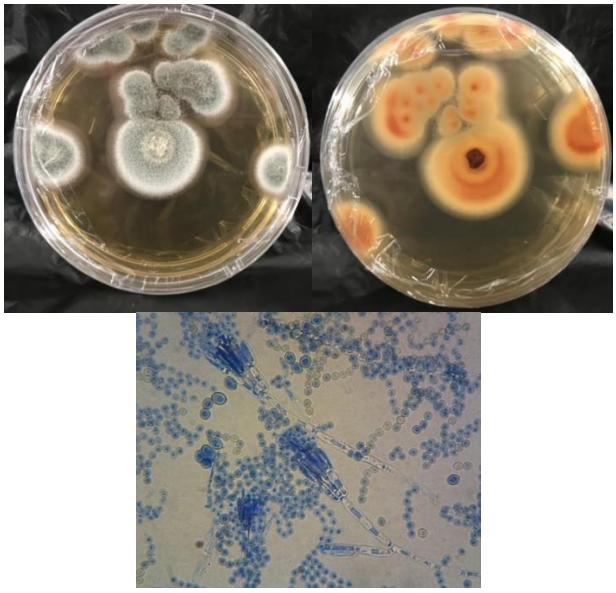
Isolat Fungi KBy_{T1} memiliki ciri morfologi yaitu warna koloni bewarna hijau kekuningan berbulu halus dan membentuk 4 cincin kosentris. Koloni pada awalnya bewarna putih kemudian menjadi hijau kekuningan, koloni bagian *reverse* tidak bewarna. Pertumbuhan isolat K ByT1 cepat, pada umur 3 hari miselium diameter koloni ± 5 cm. Ciri mikroskopik isolat K ByT1 yaitu hifa bersekat berdinding halus, diameter hifa 2-4 µm, konidiofor panjang dan bercabang (percabangan tidak teratur), bentuk konidia *globose* dan berdinding halus, konidia berukuran 3 - 4 x 2 - 4 µm, bentuk fialida menggembung dibagian tengah, fialida terdapat 4 fialida yang berkelompok (Gambar

3). Berdasarkan ciri makroskopik dan mikroskopik diatas isolat K By_{T1} dapat diklasifikasikan ke dalam genus *Trichoderma* sp. Hal ini mengacu pada penelitian Gomez-Mendez *et al.*, (2020) bahwa ciri-ciri genus *Trichoderma* yaitu memiliki konidiofor panjang, terdapat fialida yang berjumlah 1-4, fialida berbentuk botol, konidia berbentuk *ovoid*, *globose*, *subglobose* maupun *ellipsoidal*.



Gambar 3. Makroskopis dan Mikroskopis Isolat K ByT1

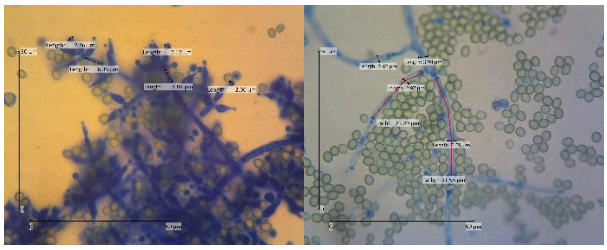
Isolat fungi 33 By_{L1} memiliki ciri yaitu koloni bewarna hijau dan dibagian tepi bewarna putih, menghasilkan eksudat bewarna merah pada bagian *reverse*. Isolat ini bewarna hijau tua dan tumbuh menyebar merata dengan cepat yang dapat memenuhi seluruh permukaan cawan petri. Pertumbuhan isolat 33 By_{L1} lambat, pada umur 7 hari miselium diameter koloni ± 2 cm. Berdasarkan ciri-ciri mikroskopis yaitu hifa bersekat, konidiofor soliter, konidia berbentuk elips (Gambar 4). Berdasarkan ciri-ciri tersebut isolat 33 By_{L1} dapat diklasifikasikan ke dalam genus *Talaromyces*. Hal ini sesuai dengan penelitian Achmad & Nurhayati (2004) bahwa genus *Talaromyces* memiliki askus yang bewarna kekuningan menyerupai *Penicillium* sp. sehingga menyebabkan pada bagian *reverse* bewarna orange hingga merah.



Gambar 4. Makroskopis dan Mikroskopis Isolat 33 By_{L1}

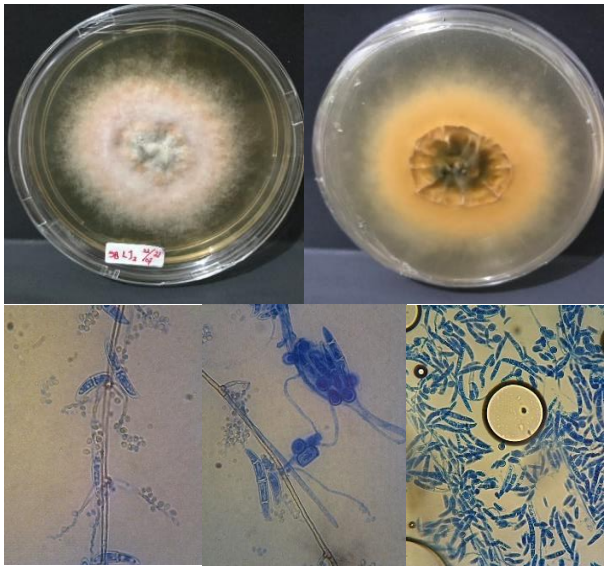
Isolat fungi B Br_{T1} memiliki ciri koloninya bewarna hijau dan koloni bagian *reverse* tidak bewarna. Ciri mikroskopik isolat B Br_{T1} hampir mirip dengan isolat K By_{T1} yaitu hifa bersekat berdinding halus, diameter hifa 2-4 µm, konidiofor panjang dan bercabang, bentuk konidia *globose* dan berdinding halus, konidia berukuran 3 - 4 x 2 - 4 µm (Gambar 5). Yang membedakan isolat K By_{T1} dengan B Br_{T1} adalah warna koloninya. Berdasarkan ciri yang telah diuraikan isolat B Br_{T1} diklasifikasikan ke dalam genus *Trichoderma* sp.





Gambar 5. Makroskopis dan Mikroskopis Isolat B Br_{T1}

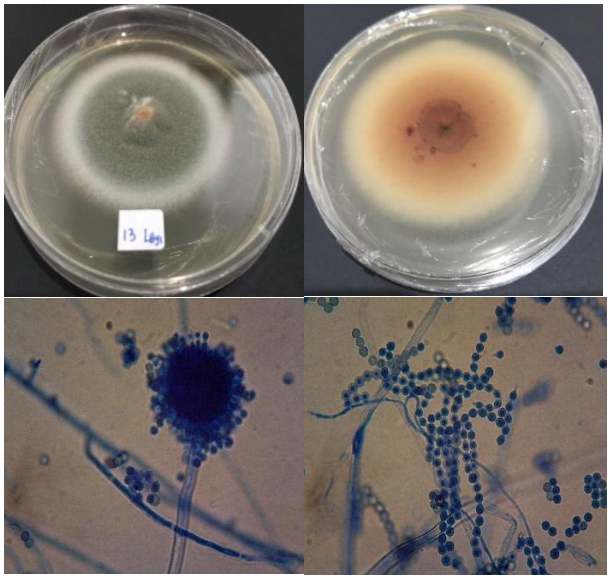
Isolat Fungi 58 J_{L2} memiliki ciri koloni bagian tengah bewarna *orange* dikelilingi bagian hifa bewarna putih dan bagian terluar berwarna orange. Bagian *reverse* pada bagian tengah bewarna coklat membentuk seperti karangan dan bagian luar bewarna orange. Miselium pada isolat 58 J_{L2} luas seperti kapas teksturnya (Gambar 6).



Gambar 6. Makroskopis dan Mikroskopis Isolat 58 J_{L2}

Pada pengamatan mikroskopis isolat 58 J_{L2} memiliki konidiofor ramping, tidak bercabang dan bersekat. Makrokonidia bersel banyak, sedikit melengkung seperti bulan sabit. Mikrokonidia berbentuk lonjong. Menurut Barnett & Hunter, (1987) menyatakan bahwa fungi dengan ciri miselium seperti kapas, konidia hialin, makrokonidia bersel banyak berbentuk kano, mikrokonidia bersel I bentuknya bulat telur atau lonjong merupakan fungi genus Fusarium. Sehingga dapat disimpulkan bahwa isolat 58 J_{L2} termasuk *Fusarium* sp.

Isolat fungi 13 B_{yL1} memiliki ciri pada bagian permukaan tengahnya bewarna orange, sampingnya hifa bewarna hijau tua yang membentuk gundukan, dibagian tepi bewarna putih. Pada bagian reverse, bagian tengah bewarna merah dan disampingnya bewarna putih. Berdasarkan mikroskopis isolat 13 B_{yL1} memiliki konidiofor halus, phialida tunggal. Ciri-ciri diatas selaras dengan pernyataan Latgé (1999) bahwa genus Aspergillus dicirikan dengan konidia ekinulat berdiameter 2.5 – 3 µm, konidiofor tegak, sederhana dimana ujungnya membulat membentuk vesikula, fialida berada diatasnya.



PENUTUP

Kesimpulan pada penelitian ini adalah ditemukan 127 isolat fungi dari lingkungan yang terkontaminasi limbah batik Pekalongan. Dari keseluruhan fungi terdapat 27 isolat fungi positif membentuk zona kuning hingga coklat

pada saat skrining kualitatif enzim lakase menggunakan asam tanat. Dari 27 fungi tersebut terdapat 21 isolat fungi yang dapat menghasilkan aktivitas enzim lakase. Diambil 5 fungi potensial penghasil aktivitas enzim lakase tertinggi yaitu isolat KBy_{T1}, $33By_{L1}$, B Br_{T1}, 58 J_{L2}, dan 13 B_{yL1}. Aktivitas enzim lakase pada isolat KBy_{T1}, $33By_{L1}$, B Br_{T1}, 58 J_{L2}, dan 13 B_{yL1} yaitu 19.82 U/ml, 6.08 U/mL, 5.98 U/mL, 3.89 U/mL dan 3.79 U/mL. Isolat KBy_{T1} dan B Br_{T1} termasuk ke dalam genus *Trichoderma*, isolat $33By_{L1}$ termasuk ke dalam genus *Talaromyces,* isolat 58 J_{L2} termasuk ke dalam genus *Fusarium* dan isolat 13 B_{yL1} termasuk genus *Aspergillus*.

DAFTAR PUSTAKA

Achmad, & Nurhayati, P. W. (2004). *Genus Fungi pada Tanah Hutan Mangrove Tercemar Logam Berat di Muara Angke DKI Jakarta*.

Andriani, A., Tachibana, S., & Itoh, K. (2016). Effects of saline-alkaline stress on benzo[a]pyrene biotransformation and ligninolytic enzyme expression by Bjerkandera adusta SM46. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *32*(3), 39. https://doi.org/10.1007/s11274-015-2001-4.

Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1987). *Illustrated genera of imperfect fungi* (4th ed). Macmillan.

Bettin, F., Montanari, Q., Calloni, R., Gaio, T. A., Silveira, M. M., & Dillon, A. J. P. (2014). Additive effects of CuSO4 and aromatic compounds on laccase production by Pleurotus sajor-caju PS-2001 using sucrose as a carbon source. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, *31*(2), 335–346. https://doi.org/10.1590/0104-6632.20140312s00002241.

Bharagava, R. N. (Ed.). (2017). *Environmental Pollutants and Their Bioremediation Approaches* (1st ed.). CRC Press. https://doi.org/10.1201/b22171.

Budiyanto, S., Anies, Purnaweni, H., & Rya Sunoko, H. (2018). Environmental Analysis of The Impacts of Batik Waste Water Polution on The Quality of Dug Well Water in The Batik Industrial Center of Jenggot Pekalongan City. *E3S Web of Conferences*, *31*, 09008. https://doi.org/10.1051/e3sconf/20183109008.

Chowdhary, P., Raj, A., & Bharagava, R. N. (2018). Environmental pollution and health hazards from distillery wastewater and treatment approaches to combat the environmental threats: A review. *Chemosphere*, *194*, 229–246. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.163.

Dewi, R. S., Kasiamdari, R. S., Martani, E., & Purwestri, Y. A. (2018). Decolorization and detoxification of batik dye effluent containing Indigosol Blue-04B using fungi isolated from contaminated dye effluent. *Indonesian Journal of Biotechnology*, *23*(2), 54. https://doi.org/10.22146/ijbiotech.3233.

El-Batal, A. I., ElKenawy, N. M., Yassin, A. S., & Amin, M. A. (2015). Laccase production by Pleurotus ostreatus and its application in synthesis of gold nanoparticles. *Biotechnology Reports*, *5*, 31–39. https://doi.org/10.1016/j.btre.2014.11.0.

Gao, H., Wang, Y., Zhang, W., Wang, W., & Mu, Z. (2011). *Isolation, identification and application in lignin degradation of an ascomycete GHJ-4*.

Gáspár, S., Brinduse, E., & Vasilescu, A. (2020). Electrochemical Evaluation of Laccase Activity in Must. *Chemosensors*, *8*(4), 126. https://doi.org/10.3390/chemosensors8040126.

Gomez-Mendez, E., Brito-Vega, H., de, U., Lopez-Ferrer, C., Salaya-Dominguez, J. M., Ma, R., Gomez-Vazquez, A., & Cruz, A. (2020). The Morphological and Molecular Characterization of Trichoderma spp. In Cocoa Agroforestry System. *Open Science Journal*.

Kim, D. H. (1995). A New Extracellular Laccase of Cryphonectha parasitica <i/>

Is Revealed by Deletion of Lac1. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *8*(2), 259. https://doi.org/10.1094/MPMI-8-0259.

Latgé, J.-P. (1999). *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis. *Clinical Microbiology Reviews*, *12*(2), 310–350. https://doi.org/10.1128/CMR.12.2.310.

Ramadhan, K. P., Anita, S. H., Oktaviani, M., Sari, F. P., Budi Laksana, R. P., Nurhayat, O. D., & Yuli Yanto, D. H. (2021). Biodecolorization of Anthraquinone and Azo Dyes by Newly Isolated Indonesian White-Rot Fungi. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, *13*(1), 16–25. https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v13i1.26148.

Rohmawati, U., & Kasiamdari, R. S. (2022). Morphological, Molecular Characterization, and Physico-chemical Analysis of Trichoderma yunnanense as Indigosol Golden Yellow Dye-decolorizing Fungus. *Philippine Journal of Science*, *151*(6B). https://doi.org/10.56899/151.6B.11.

Rousk, J., Brookes, P. C., & Bååth, E. (2009). Contrasting Soil pH Effects on Fungal and Bacterial Growth Suggest Functional Redundancy in Carbon Mineralization. *Applied and Environmental Microbiology*, *75*(6), 1589–1596. https://doi.org/10.1128/AEM.02775-08.

Senthivelan, T., Kanagaraj, J., Panda, R. C., & Narayani, T. (2019). Screening and production of a potential extracellular fungal laccase from Penicillium chrysogenum: Media optimization by response surface methodology (RSM) and central composite rotatable design (CCRD). *Biotechnology Reports*, *23*, e00344. https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00344.

Sharma, A., Aggarwal, N. K., & Yadav, A. (2017a). Isolation and Screening of Lignolytic Fungi from Various Ecological Niches. *Universal Journal of Microbiology Research*, *5*(2), 25–34. https://doi.org/10.13189/ujmr.2017.050202.

Singh, J., Das, A., & Yogalakshmi, K. N. (2020). Enhanced laccase expression and azo dye decolourization during co-interaction of Trametes versicolor and Phanerochaete chrysosporium. *SN Applied Sciences*, *2*(6), 1095. https://doi.org/10.1007/s42452-020-2832-y

PROFIL SINGKAT

Uun Rohmawati lahir di Pasuruan, 04 Januari 1998. Riwayat Pendidikan S1 menempuh di Universitas Negeri Malang Jurusan Biologi pada tahun 2015-2019, melanjutkan S2 di Biologi Universitas Gadjah Mada mulai tahun 2020-2022. Saat ini peneliti mengabdi di Universitas Nahdlatul Ulama' Pasuruan. Ruang lingkup penelitian yang dilakukan yaitu mikrobiologi, mikologi, biokimia dan molekular.