

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Industri tekstil merupakan salah satu sumber utama pencemaran lingkungan, baik dari segi kualitas maupun kuantitas limbah yang dihasilkan. Industri tekstil mengkonsumsi air dalam jumlah yang sangat besar yaitu sekitar 200 m^3 per ton produk dan sekitar 90% jumlah tersebut berakhir sebagai air limbah. Berdasarkan pendekatan estimasi dengan asumsi produksi tekstil nasional sebesar ± 10 juta ton per tahun, volume air limbah tekstil yang dihasilkan di Indonesia diperkirakan mencapai sekitar $1,8 \times 10^{12}$ liter per tahun (Astuti *et al.*, 2023). Secara global, diperkirakan sekitar 80.000 ton pewarna tekstil dilepaskan ke lingkungan perairan setiap tahun (Hassaan & Nemr, 2017). Pencemaran limbah tekstil menunjukkan potensi beban pencemaran yang sangat besar terhadap perairan terutama apabila limbah cair tersebut dibuang tanpa pengolahan yang memadai. Sebagian pengelolaan limbah tekstil dilakukan dengan menggunakan prinsip fisika-kimia yang justru menunjukkan efek toksisitas yang berlebihan bagi lingkungan terutama lingkungan akuatik (Azanaw *et al.*, 2022).

Pewarna sintetis merupakan jenis pewarna yang digunakan dalam berbagai industri termasuk tekstil, kertas, dan percetakan. Sekitar 10.000 jenis zat warna kimia di alam dengan produksi global tahunan mencapai 7×10^5 metrik ton. Permasalahan utama limbah tekstil dari aspek estetika adalah warna yang disebabkan oleh penggunaan berbagai senyawa organik sintetis sebagai zat warna

(Astuti *et al.*, 2023). Sifat pewarna berasal dari keberadaan gugus kromofor seperti ikatan pada golongan azo, *antraquinone*, dan *triarymethae* yang memiliki struktur aromatik kompleks dan sangat resisten terhadap degradasi biologis. Pewarna azo memiliki ikatan azo ($-N=N-$) yang menghubungkan senyawa cincin aromatik, menghasilkan stabilitas kimia yang tinggi, dan warna yang intens. Pewarna *antraquinone* memiliki tiga rangkai cincin aromatik yang terfusi dengan gugus karbonil yang menjadikannya sangat tahan terhadap oksidasi dan fotodegradasi. Sementara itu, pewarna *tryarymethane* memiliki inti karbon pusat yang terikat pada tiga cincin aromatik, untuk menghasilkan warna yang kuat tetapi sangat resisten dan bersifat toksik (Motamedi *et al.*, 2021). Struktur aromatik yang dimiliki oleh masing-masing pewarna sintesis dapat menimbulkan warna yang pekat yang dapat menghambat penetrasi cahaya dalam air, menghasilkan metabolit toksik, mutagenik, dan karsinogenik (Navas *et al.*, 2019). Ancaman yang ditimbulkan dari limbah pewarna sintesis menunjukkan perlunya pengembangan strategi dekolorisasi yang efektif, berkelanjutan, dan tidak menghasilkan residu berbahaya (Hassaan & Nemr 2017; Yadav *et al.*, 2021).

Lakase dengan *enzyme classification* (EC) 1.10.3.2 merupakan kandidat enzimatik yang menjanjikan dalam proses dekolorisasi. Lakase merupakan enzim multitembaga biru yang memiliki kemampuan untuk mengkatalis oksidasi substrat aromatik fenolik seperti pewarna sintesis dan substrat non-fenolik seperti 2,2'-*azino-bis*(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) dengan mereduksi molekul oksigen menjadi air. Mekanisme reaksi lakase dilakukan dengan

menggunakan molekul oksigen sebagai penerima elektron. Lakase mengoksidasi substrat melalui mekanisme transfer elektron yang menghasilkan perantara radikal bebas yang tidak stabil. Mekanisme katalitik lakase akan memicu terjadinya reaksi non-enzimatis yang menyebabkan penguraian molekul substrat. Dalam proses dekolorisasi, reaksi oksidatif lakase menginisiasi pembelahan struktur aromatik, membuka cincin aromatik, dan menyebabkan polimerisasi serta modifikasi struktur kimia yang menyebabkan hilangnya warna sintetis. Mekanisme radikal bebas lakase yang dihasilkan dari substrat mampu digunakan dalam mendekolorisasi berbagai kelas pewarna (Arregui *et al.*, 2019).

Lakase dapat ditemui di berbagai jenis organisme dan mikroorganisme seperti bakteri, tumbuhan, dan jamur (Elsayed *et al.*, 2023). Beberapa lakase yang dihasilkan dari jamur diketahui memiliki stabilitas suhu yang lebih rendah dan membutuhkan waktu yang lama dalam produksi. Produksi lakase dari jamur *Ganoderma lucidum* memiliki suhu optimum pada 30°C dengan waktu yang dibutuhkan untuk produksi relatif lebih lama karena proses pertumbuhan isolat yang lambat (Shrestha *et al.*, 2016). Bakteri termofil penghasil lakase dari *Geobacillus yumthangensis* memiliki suhu optimum yang lebih tinggi pada suhu 60°C tetapi bakteri termofil memiliki kestabilan yang kurang baik pada pelarut organik yang umumnya mendominasi limbah tekstil. Pelarut organik seperti etanol, metanol, dan aseton dapat mengganggu interaksi ikatan hidrogen, yang dapat menyebabkan denaturasi protein (N. Sharma & Leung, 2021).

Beberapa tahun terakhir, penggunaan lakase dari bakteri berkembang pesat karena lakase yang dihasilkan dari bakteri memiliki rentang suhu dan pH yang luas dengan stabilitas yang sangat besar (Z. B. Guan *et al.*, 2015). Lakase bakteri memiliki beberapa keuntungan karena penggunaannya yang hemat biaya dalam aplikasi industri, spesifisitas substrat yang luas, produksi enzim yang singkat, dan kemudahan dalam mengkloning dan mengekspresikan dalam *host* yang sesuai (Fernandes *et al.*, 2014; Prins *et al.*, 2015). Produksi lakase dalam dunia industri masih dibatasi oleh berbagai hambatan, termasuk biaya produksi yang tinggi, stabilitas yang rendah, dan inaktivasi operasional. Penggunaan bakteri ektermofil untuk keperluan industri mampu menjawab kelemahan tersebut. Bakteri ekstremofil dapat beradaptasi baik pada lingkungan yang memiliki suhu tinggi/rendah, pH alkalin, salinitas yang tinggi, dan tekanan yang membuat bakteri lain tidak dapat beradaptasi dengan baik pada kondisi tersebut (Kochhar *et al.*, 2022).

Arthrobacter psychrolactophilus sebagai bakteri ekstremofil merupakan solusi alternatif untuk mengembangkan enzim yang memiliki ketahanan yang lebih baik terhadap kondisi lingkungan yang ekstrem, serta memiliki stabilitas dan efisiensi katalitik yang lebih tinggi. Bakteri *A. psychrolactophilus* sebagai penghasil enzim lakase digunakan karena memiliki gen pengode lakase yang potensial. Gen lakase dari *A. psychrolactophilus* diekspresikan secara rekombinan dalam *host Escherchia coli* BL21 Star DE3 agar dapat menghasilkan enzim lakase yang aktif dan stabil pada suhu tinggi. Strategi rekombinan dapat digunakan untuk

mengatasi keterbatasan enzim alami yang umumnya tidak stabil pada kondisi yang ekstrem. Penelitian yang telah dilakukan oleh Nirwantono *et al.*, (2024) telah berhasil melakukan karakterisasi enzim *L-arabinose isomerase* dari bakteri *Arthrobacter psychrolactophilus* (Ap L-AI) yang memiliki sifat termostabil. Ap L-AI sebagai protein rekombinan memiliki suhu dan pH optimum pada suhu 60°C dan pH 7,0 – 7,5 dengan adanya kofaktor ion logam Mn^{2+} .

Sebagai langkah awal dalam pengembangan lakase secara rekombinan, Badan Riset Inovasi nasional (BRIN) telah berhasil melakukan kloning, ekspresi, dan purifikasi enzim lakase dari bakteri *Arthrobacter psychrolactophilus*. Penelitian lebih lanjut mengenai karakterisasi enzim lakase dari bakteri ekstremofil *Arthrobacter psychrolactophilus* (Ap-Lac) belum pernah dilakukan, sehingga perlu dilakukan karakterisasi lakase dari bakteri *Arthrobacter psychrolactophilus* (Ap-Lac) dengan melibatkan beberapa parameter karakterisasi seperti suhu, pH, ion logam, parameter kinetik, dan beberapa uji terkait *organic solvent* dan dekolonisasi untuk mengetahui kondisi optimum aktivitas dan stabilitas enzim Ap-Lac serta mengetahui kemampuan Ap-Lac dalam mendekolorisasi pewarna sintesis dan ketahanan aktivitasnya dalam pelarut organik.

Karakterisasi enzim lakase dalam industri merupakan langkah penting dalam menentukan stabilitas dan efektivitasnya. Lakase dengan sifat *thermo-acidic* adalah lakase yang memiliki stabilitas baik pada pH yang asam (3,0 – 5,0) dan suhu tinggi (50-60°C), sehingga ideal untuk mendegradasi limbah industri tekstil yang sesuai dengan prinsip *green chemistry*. Ketergantungan lakase terhadap ion logam Cu^{2+}

merupakan salah satu karakteristik penting karena Cu^{2+} berperan sebagai aktivator (Jiang *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2020). Efisiensi katalitik enzim yang bereaksi dengan molekul substrat menjadi produk merupakan hal yang sangat krusial. Parameter kinetik enzim penting untuk menggambarkan keefisienan kinerja enzim yang dapat diukur menggunakan plot Lineweaver-Burk (Bisswanger *et al.*, 2011). Sejalan dengan peningkatan kebutuhan ramah lingkungan, pemanfaatan lakase sebagai agen dekolourisasi berbasis *green chemistry* menjadi sangat relevan. Lakase mampu merombak struktur kimia pewarna secara langsung tanpa menghasilkan residu toksik. Lakase sebagai enzim oksidatif mampu mendekolourisasi zat pewarna dengan merusak struktur molekul pewarna (A. Sharma *et al.*, 2021; Yadav *et al.*, 2021).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah dari penelitian dirumuskan sebagai berikut;

1. Bagaimana pengaruh aktivitas enzim Ap-Lac terhadap variasi nilai pH, suhu inkubasi, ion logam, dan parameter kinetik enzim Ap-Lac yang meliputi K_m , K_{cat} , dan K_{cat}/K_m , terhadap substrat ABTS?
2. Bagaimana pengaruh *organic solvent* terhadap aktivitas enzim Ap-Lac?
3. Bagaimana pengaruh enzim Ap-Lac dalam proses dekolourisasi terhadap efektivitas degradasi zat pewarna sintesis?

1.3 Tujuan

Tujuan pada penelitian adalah sebagai berikut;

1. Mengidentifikasi karakteristik pengaruh pH, suhu, ion logam, dan parameter kinetik enzim Ap-Lac yang meliputi K_m , K_{cat} , dan K_{cat}/K_m terhadap substrat ABTS.
2. Menganalisis pengaruh penambahan *organic solvent* terhadap aktivitas enzim Ap-Lac.
3. Menganalisis efektivitas enzim Ap-Lac dalam proses dekolorisasi terhadap degradasi zat pewarna sintesis.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian yaitu mengidentifikasi karakteristik enzim Ap-Lac dari bakteri *Arthrobacter psychrophilus* terhadap berbagai nilai pH, suhu, ion logam, karakteristik parameter kinetik, serta pengujian *organic solvent* dan dekolorisasi terhadap zat pewarna sintesis yang penting untuk memperoleh gambaran komprehensif mengenai potensi enzim dalam aplikasi bioteknologi khususnya dalam bidang industri.