

PIGMENT MERAH DARI JAMUR YANG DIISOLASI DARI TANAH TEMPAT PEMBUANGAN LIMBAH SUSU

I D. K. Sastrawidana, Siti Maryam, dan I K. Sudiana

Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA Universitas Pendidikan Ganesha, Singaraja
Email : idewasastra@yahoo.com

ABSTRAK

Penggunaan zat warna sintetik dalam meningkatkan daya tarik konsumen terhadap produk semakin meningkat, padahal kebanyakan zat warna sintetik bersifat racun, karsinogenik dan sulit terombak sehingga menyebabkan pencemaran lingkungan. Tujuan penelitian ini menganalisis karakteristik pigmen merah yang dihasilkan oleh jamur yang diisolasi dari tanah tempat pembuangan limbah susu kambing. Tahapan penelitian meliputi produksi pigmen secara semipadat dan menggunakan media PDA berisikan susu kambing serta analisis karakteristik pigmen yang meliputi penentuan pola spektrum dan stabilitas warna terhadap pengaruh pH dan temperatur. Spektrum pigmen merah dari jamur hasil isolasi menunjukkan dua puncak pada 416 dan 493 nm, serta warnanya stabil pada suhu perlakuan 40-90°C dan rentang pH 5- 8.

Kata kunci : Pigmen, Jamur, Stabilitas warna

ABSTRACT

The use of synthetic dyes in enhancing the consumer appeal of the product is increasing, but most synthetic dyes are toxic, carcinogenic and difficult to degrade, causing environmental pollution. The purpose of this study is to analyze the characteristics of the red pigments produced by fungi isolated from soil contaminated with goat milk. Stages of research include semisolid fermentation using PDA and milk as a supporting medium for pigment production. Pigment analysis involves determining the characteristics of the spectrum as well as the stability of the colour upon pH and temperature treatments. The results showed that the spectrum of the red pigment from the fungus consisted of two peaks at 416 and 493 nm, the colour was stable at a temperature range of 40-90°C and at pH range of 5-8.

Keywords : Pigment, Fungus, Color stability

PENDAHULUAN

Zat warna banyak dibutuhkan dalam industri pangan, tekstil, obat-obatan dan industri kertas. Salah satu tujuan penambahan zat warna pada produk pangan maupun non pangan adalah untuk meningkatkan daya tarik konsumen yang pada akhirnya meningkatkan nilai jual produk. Perkembangan penggunaan zat warna sintetik tampaknya lebih dominan dibandingkan dengan zat warna alami karena zat warna sintetik lebih praktis penggunaannya lebih murah dan mudah diperoleh di pasaran. Padahal, penggunaan zat

warna sintetik pada industri seperti industri tekstil berdampak negatif terhadap lingkungan karena air limbahnya yang berwarna dan mengandung bahan pencemar pada konsentrasi di atas baku mutu yang ditetapkan dalam KepMen LH No. 51/MENLH/10/1995 tentang baku mutu limbah industri cair bagi kegiatan industri. Pada umumnya karakteristik limbah cair industri tekstil mempunyai nilai BOD, COD dan warna secara berturut-turut 80-6000 mg/L, 150-12.000 mg/L dan 50-2500 PtCo (Azbar, *et al.* 2004). Hasil kajian analisis tingkat toksisitas terhadap air limbah yang dihasilkan industri pencelupan kain di

daerah Bali juga menunjukkan ada pada katagori toksik (Sastrawidana dan Sukarta, 2011).

Untuk mensinergikan pembangunan industri dengan kelestarian lingkungan, maka sangat perlu untuk mengoptimalkan kembali penggunaan bahan pewarna yang *less toxic* di berbagai sektor industri. Untuk itu, penelitian tentang eksplorasi sumber-sumber pewarna alami yang berasal dari sumber daya alam lokalsangat urgen untuk dilakukan. Beberapa sumber daya alam lokal dari tumbuhan seperti daun pohon nila (*indofera*), kulit pohon soga (*Ceriops candolleana*), kayu tegeran (*Cudraina javanensis*), kunyit, akar mengkudu (*Morinda citrifelia*), kesumba (*Bixa orellana*), daun jambu biji (*Psidium guajava*) telah banyak dimanfaatkan baik untuk pewarnaan pangan maupun non pangan (Susanto, S. 1980). Namun, salah satu titik lemah terhadap penggunaan pewarna nabati tersebut adalah diperlukannya lahan yang luas serta pembudidayaannya dipengaruhi oleh musim. Untuk mengatasi masalah ini, akhir-akhir ini pengembangan sumber bahan pewarna alami diarahkan dari mikroorganism terutama bakteri dan jamur.

Beberapa bakteri dalam pertumbuhannya dilaporkan mampu menghasilkan pigmen merah, kuning, violet dan biru yang secara kimia teridentifikasi kelompok senyawa karotenoid, prodigiosin, violacein, pyocyanin. Flavin, quinine, dan indigo (Gupta, *et al.* 2011). Beberapa jenis jamur juga telah banyak dilaporkan potensial penghasil pigmen diantaranya *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium purpurogenum*, *Phoma herbarum* and *Rhizopus oryzae* (Geweely, 2011). Pigmen-pigmen dari jamur telah digunakan dalam industri pangan maupun non pangan seperti pigmen merah dari *Monascus* sp. untuk pewarna pangan (Dikshit dan Tallapragada, 2013), pigmen hijau dari jamur *Trichoderma* sp. untuk pewarna kain sutera dan wool (Gupta, *et al.* 2013).

Pada penelitian ini, dilakukan karakterisasi pigmen merah yang dihasilkan oleh jamur yang diisolasi dari tanah yang dijadikan tempat pembuangan limbah susu. Karakterisasi terhadap pigmen merah meliputi analisis spektrum menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dan

stabilitas warna pada perlakuan pH dan temperatur. Analisis terhadap karakteristik warna merah yang dihasilkan oleh jamur ini nantinya dijadikan sebagai informasi awal dalam pengembangan penggunaannya baik sebagai pewarna pangan maupun non pangan khususnya pewarnaan kain tekstil.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan media tumbuh jamur terdiri dari kentang, dektrosa dan bacto agar sedangkan bahan untuk mengekstraksi pigmen adalah methanol 70%.

Peralatan

Peralatan utama yang dipergunakan dalam penelitian ini meliputi Spektrofotometer UV-Vis double beam type 70A, sentrifuge rototfix 32A, Oven, Vortek, dan pH meter.

Cara Kerja

Isolasi jamur penghasil pigmen

Media untuk keperluan isolasi jamur adalah media PDA yang dalam 1 liternya terdiri dari 300 gram kentang, 2,5 gram dektrosa dan 15 gram agar. Media PDA disterilisasi dengan mengautoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sampel tanah untuk isolasi jamur diambil dari tanah yang sebagai tempat pembuangan limbah susu di peternakan kambing perah di Desa Sepang-Kecamatan Bususngbiu Kabupaten Buleleng. Sebanyak 1 gram sampel tanah ditambahkan 10 mL air steril dan divortek hingga homogen. Selanjutnya, diambil 1 mL dan ditransfer dalam cawan petri yang telah berisi media PDA steril. Campuran tersebut didiamkan selama 12-14 hari hingga dihasilkannya pigmen berwarna merah. Jamur penghasil warna merah dimurnikan dengan menumbuhkannya kembali pada media PDA dengan teknik agar miring menggunakan tabung reaksi.

Produksi pada media agar

Produksi pigmen menggunakan metode semi padat yang dibuat dengan cara sebagai berikut. Sebanyak 25 mL media PDA ditambahkan 2 mL susu kambing, kemudian disterilisasi dengan cara di autoklaf pada susu 121°C selama 15 menit.

Campuran didinginkan hingga hangat-hangat kuku (40°C), selanjutnya dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL suspensi jamur. Tabung reaksi dидiamkan pada posisi miring dan selanjutnya diinkubasi selama 14 hari hingga menghasilkan pigmen warna merah.

Ekstraksi Pigmen

Pigmen yang dihasilkan oleh jamur selama fase pertumbuhannya diekstraksi menggunakan pelarut methanol 70%. Pigmen hasil ekstraksi disaring menggunakan kertas Whartman No.1 kemudian disentrifugasi pada 4000 rpm selama 20 menit. Supernatan yang berupa pigmen merah diencerkan dengan air hingga volume 100 mL. *Water soluble pigment* yang dihasilkan kemudian dikarakterisasi pola spektrumnya dan diuji stabilitas terhadap perlakuan pH dan suhu pemanasan.

Karakterisasi pigmen

Analisis spektrum dengan UV-Vis

Sebanyak 3 mL pigmen diencerkan menjadi 25 mL, selanjutnya diambil 10 mL untuk dimasukkan dalam kuvet dan ditentukan pola spektrumnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 190-800 nm.

Uji stabilitas warna pada variasi pH

Ke dalam 9 buah tabung reaksi, masing-masing dimasukkan 10 mL pigmen warna merah yang dihasilkan oleh jamur hasil isolasi. Secara berturut-turut, pigmen warna pada masing-masing tabung dikondisikan pada pH 3, 4; 5; 6; 7; 8, 9 dan 10 kemudian didiamkan 4 jam. Setelah 4 jam, absorbansi masing-masing warna diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimumnya yaitu 493 nm. Dilakukan juga kontrol perlakuan yaitu sampel pigmen tanpa perlakuan pH. Stabilitas warna dianalisis dengan mengamati perubahan absorbansi pigmen pada masing-masing perlakuan pH yang kemudian dibandingkan terhadap absorbansi pigmen pada kontrol.

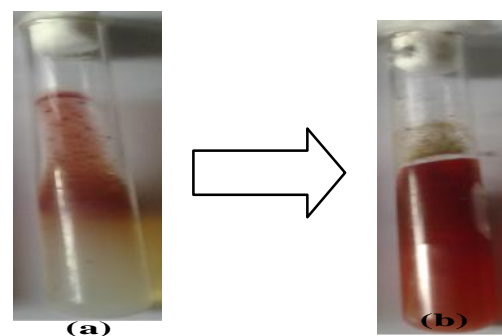
Uji stabilitas warna pada variasi suhu

Ke dalam 6 buah tabung reaksi, masing-masing dimasukkan 10 mL pigmen warna merah yang dihasilkan oleh jamur. Pigmen pada tabung reaksi secara berturut-turut dipanaskan pada suhu 40; 50; 60; 70; 80 dan 90° selama 4 jam. Selanjutnya, didinginkan sampai suhu kamar dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimumnya yaitu 493 nm menggunakan UV-

Vis. Dilakukan kontrol yaitu pigmen tanpa perlakuan pemanasan diukur absorbansinya pada kondisi yang sama. Stabilitas warna dianalisis dengan mengamati perubahan absorbansi pigmen pada masing-masing perlakuan pemanasan yang selanjutnya dibandingkan terhadap absorbansi pigmen pada control.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Beberapa jenis jamur dalam fase pertumbuhannya mampu menghasilkan metabolit sekunder berupa pigmen warna. Pada kondisi normal, jamur tumbuh dengan baik menghasilkan biomassa, namun, pada kondisi yang kurang menguntungkan terutama kekurangan nutrisi, maka jamur akan lebih dominan menghasilkan metabolit sekunder dibandingkan dengan pertumbuhan sel (Isaac, S. 1994). Pigmen warna dari jamur berfungsi untuk melindungi dinding hipa atau dinding spora jamur dari pengaruh radiasi (Isaac, S.1994). Pigmen yang dihasilkan oleh jamur umumnya termasuk golongan anthraquinone, karotenoid, flavonoid, kuinin dan rubramin (Sharma, *et al.*, 2012). Beberapa jenis jamur menghasilkan pigmen dengan warna yang sangat bervariasi seperti *monascus* menghasilkan pigmen berwarna kuning dan merah (Tseng, *et al.*, 2000), dan *Phoma herbarum* menghasilkan pigmen warna magenta (Chiba, *et al.*, 2006).



Gambar 1. Produksi pigmen oleh Jamur pada lama inkubasi (a) 7 hari inkubasi, (b) 14 hari inkubasi

Jamur yang diisolasi dari tanah tempat pembuangan susu kambing belum diidentifikasi jenis jamurnya. Jamur ini mampu menghasilkan

pigmen warna merah setelah ditumbuhkan pada media PDA berisikan susu kambing dengan teknik agar miring yang diinkubasi selama 14 hari (Gambar 1).

Aktivitas jamur dalam memproduksi pigmen sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan terutama pH, jenis jamur serta lama inkubasi. Tallapragada dan Dikshit, (2011), dalam penelitiannya mengkaji faktor lingkungan dalam produksi pigmen oleh jamur *Monascus purpureus* secara SmF. Hasilnya adalah jamur *Monascus purpureus* menghasilkan pigmen secara maksimal di media *Potato dextrose broth* (PDB) pada kondisi pH 5,5 dengan lama inkubasi 16 hari. Pada penelitian ini, jamur yang diisolasi dari tanah tercemar limbah susu menghasilkan pigmen merah setelah diinkubasi pada media PDA yang disuplementasi susu kambing selama 14 hari pada kondisi pH 6. Mendez, *et al.* (2011) juga melaporkan bahwa pigmen merah yang dihasilkan oleh jamur *Penicillium purpurogenum* berlangsung optimal pada pH 5 dengan suhu inkubasi 34°C. Bonyapranai, *et al.*, 2008 melaporkan pigmen naphthoquinone dihasilkan oleh jamur *Fusarium verticillioides* pada media cair yang terdiri dari 20% (b/v) kentang, 20 g/L glukosa, 2,5 g/L yeast dan 5 mg/L KH₂PO₄. kondisi pH 8 selama 7 hari. Perbedaan kondisi pH media tumbuh jamur akan mempengaruhi fungsi membran sel, morfologi dan struktur sel jamur itu sendiri sehingga sel akan tumbuh dan beraktivitas optimum pada pH tertentu pula untuk pembentukan metabolit (Palaniswamy *et al.*, 2012).

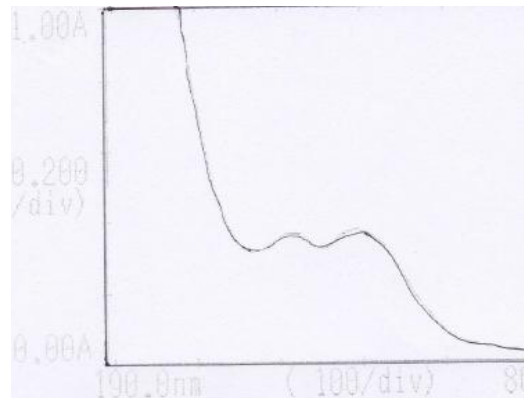
Karakteristik Pigmen Merah Dari jamur

Spektrum UV-Vis

Spektrum UV-Vis dari pigmen merah pada rentang 190-800 nm memunculkan dua puncak yaitu pada 416 nm dan 493 nm (Gambar 2).

Analisis stabilitas pigmen terhadap perlakuan pH dan susu pemanasan ditujukan untuk menganalisis potensinya sebagai *biocolourants*. Carvalho, J.C. *et al* (2005) menyebutkan pigmen yang stabil pada pH netral dan tidak toksik biasanya lebih ditujukan sebagai pewarna pangan. Pigmen yang stabil terhadap perlakuan panas dan pH pada umumnya potensial dikembangkan sebagai bahan pewarna tekstil. Hal ini disebabkan pada proses pewarnaan kain sering melibatkan pemakaian asam dan basa maupun suhu. Hasil

analisis stabilitas pigmen merah yang dihasilkan oleh jamur yang diisolasi dari tanah tercemar limbah susu terhadap perlakuan pH dan suhu disajikan seperti pada Tabel 1.



Gambar 2. Pola spektrum pigmen merah dari jamur

Tabel 1. Stabilitas warna dari pigmen merah pada perlakuan pH dan pemanasan

Perlakuan pH	Abs	Perlakuan Pemanasan	Abs
3	0,329	40°C	0,375
4	0,325	50°C	0,375
5	0,369	60°C	0,375
6	0,389	70°C	0,375
7	0,379	80°C	0,374
8	0,365	90°C	0,375
9	0,355	Kontrol	0,375
10	0,345		
Kontrol	0,373		

Stabilitas warna pigmen yang dihasilkan oleh mikroorganisme termasuk jamur umumnya lebih stabil terhadap panas, sinar dan pH dibandingkan dengan pigmen dari tumbuhan (Malik, *et al.* 2012). Namun, pigmen dari mikroba tidak stabil pada pH yang terlalu asam dan suhu yang tinggi. (Carvalho, J.C. *et al.* (2005), dalam analisis stabilitas biopigmen merah yang dihasilkan oleh jamur *Monascus* terhadap perlakuan pH dan suhu melaporkan bahwa perlakuan biopigmen pada kondisi pH 4-8 diperoleh informasi semakin kecil pH menyebabkan kerusakan pigmen semakin signifikan. Pigmen merah dari *Monascus* ini stabil pada perlakuan pH 7. Perlakuan biopigmen pada

variasi suhu 30-100°C dilaporkan bahwa pigmen merah *Monascus* hanya stabil pada perlakuan susu 30-40°C sedangkan telah mengalami kerusakan pada pemanasan 60°C sampai 100°C. Data yang diperoleh pada penelitian ini, menunjukkan bahwa pigmen merah yang merupakan metabolit sekunder dari jamur yang diisolasi dari tanah yang tercemar limbah susu kambing masih stabil terhadap perlakuan pH 5-8 sedangkan relatif mengalami sedikit perubahan pada perlakuan pH 9-10 yang ditunjukkan oleh terjadinya penurunan absorbansi dari pigmen tersebut. Pada perlakuan suhu pigmen ini cukup stabil pada pemanasan pada suhu 40-90°C yang diamati dari stabilnya nilai absorbansi pigmen. Hasil ini berbeda dengan temuan Cho, *et al.*, 2002 yang menyatakan bahwa stabilitas pigmen merah dari jamur *Paecilomyces sinclairii* berwarna merah pada kondisi pH 3-4, namun berubah menjadi violet pada pH 5-9 dan berwarna pink pada pH 10-12. Perbedaan stabilitas masing-masing pewarna terhadap pH dan temperatur tergantung dari jenis yang berhubungan dengan struktur zat warna tersebut. Namun dalam penelitian ini, zat warna merah yang dihasilkan dari jamur yang diisolasi dari tercemar limbah susu kambing belum dilakukan analisis struktur.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Pigmen merah yang dihasilkan oleh jamur yang diisolasi tanah tercemar susu kambing mempunyai pola spektrum pada rentang 190-800 nm dengan dua puncak yang muncul yaitu pada 416 nm dan 493 nm. Pigmen merah tersebut stabil terhadap suhu perlakuan 40-90°C dan stabil pada perlakuan pH 5-8.

Saran

Berdasarkan hasil analisis stabilitas pigmen terhadap perlakuan pH dan suhu pemanasan, diperoleh informasi awal bahwa pigmen merah yang dihasilkan oleh jamur yang diisolasi dari tanah tercemar limbah susu memiliki potensi yang cukup baik untuk digunakan sebagai bahan pewarna tekstil. Namun, perlu dilakukan analisis lebih lanjut tentang daya serap pigmen terhadap kain tekstil dan analisis tahan luntur warna kain yang diberi pewarna pigmen.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada DP2M Dikti atas dukungan dana yang diberikan dalam pelaksanaan penelitian ini serta terima kasih kepada Universitas Pendidikan Ganesha melalui Jurusan Pendidikan Kimia atas bantuan fasilitas yang diberikan dalam pengambilan data penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Azbar, N., T. Yonar, and K. Kestioglu, 2004, Comparison of various advanced oxidation processes and chemical treatment methods for COD and colour removal from polyester and acetate fiber dyeing effluent, *Chemosphere*, 55: 81-86
- Carvalho, J.C., Oishi, B.O., Pandey, A., and Soccol, C.R., 2005, Biopigments from *Monascus* : Strain selection, citrinin production and color stability, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48 (6) : 885-894
- Cho, Y.J., Park, J.P., Hwang, H.J., Kim, S.W., Choi, J.W., and Yun, J.W., 2002, Production of red pigment by submerged culture of *Paecilomyces sinclairii*, *Journal of Applied Microbiology*, 35 : 195-202
- Dikshit, R. and P. Tallapragada, 2013, Comparative study of *Monascus sanguineus* and *Monascus purpureus* for red pigment production under stress condition, *International Food Research Journal*, 20 (3) : 1235-1238
- Geweely, N.S., 2011, Investigation of the optimum condition and antimicrobial activities of pigments from four potent pigment-producing fungal species, *Journal of Life Sciences*, 5 : 697-711
- Gupta, C., Garg, A.P., Prakash, D., Goyal, S., and Gupta, S., 2011, Microbes as Potential Source of Biocolours, *Pharmacologyonline*. 2: 1309-1318
- Gupta, C., D. Sharma, S. Aggarwa, and N. Nagpal, 2013, Pigment production from *Trichoderma* spp. For dyeing of silk and wool, *International Journal of Science and Nature*, 4 (2) : 351-355

- Isaac, S., 1994, *Many fungi are brightly coloured: Does pigmentation provide any advantage to those species?*, Mycology answer, Departement of Genetics & Microbiology, University of Liverpool, Liverpool
- Malik, K., Tokkas, J., and Goyal, S., 2012, Microbial pigments : Review, *International Journal of Microbial Resource Technology*, 1 (4) : 361-365
- Palaniswamy, M., Premalatha B., Pradeep, S. F., and Pradeep B. V., 2012, Production and characterization of naphthoquinone pigment from *Fusarium moniliforme* MTCC6985, *World Journal Pharmaceutical Research*, 1 (4) : 1126-1142
- Sastrawidana dan Sukarta, 2011, Uji Toksisitas Air Limbah tekstil Hasil Pengolahan pada Reaktor Biofilm Konsorsium Bakteri Anaerob-Aerob Menggunakan Ikan Nila, *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Sains & Humaniora, Lembaga Penelitian Undiskha*, 5 (3) : 271-282
- Sharma, D., Gupta, C., Aggarwal, S., and Nagpal, N., 2012, Pigmen extraction from fungus for textile dyeing, *Indian Journal of Fibre&Textile Research*, 37 : 68-73
- Susanto, S., 1980, *Perpaduan pewarnaan indigosol untuk warna khusus 1200 contoh warna*, Balai Penelitian Batik dan Kerajinan, Departemen Industri, Yogyakarta