

**UJI POTENSI *Trichoderma asperellum* SEBAGAI AGEN BIODEGRADASI
PEWARNA TEKSTIL SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI



**UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A**

Disusun Oleh:

**DELLA OCTA DYLIA
NIM: H71217027**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL
SURABAYA
2021**

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Della Octa Dylia

NIM : H71212027

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2017

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul: “**UJI POTENSI *Trichoderma asperellum* SEBAGAI AGEN BIODEGRADASI PEWARNA TEKSTIL SECARA *IN VITRO***”. Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 06 Juli 2021
Yang menyatakan,



Della Octa Dylia
NIM H71217027

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi

Uji Potensi *Trichoderma asperellum* sebagai Agen
Biodegradasi Pewarna Tekstil
secara *In Vitro*

Diajukan oleh:
Della Octa Dylia
NIM: H71217027

Telah diperiksa dan disetujui
di Surabaya, 20 Juni 2021

Dosen Pembimbing Utama



Nirmala Fitria Firdhausi, M.Si.
NIP 198506252011012010

Dosen Pembimbing Pendamping



Hanik Faizah, M. Si.
NUP 201409019

PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Della Octa Dylia ini telah dipertahankan
di depan tim penguji skripsi
di Surabaya, 06 Juli 2021

Mengesahkan,
Dewan Penguji

Penguji I



Nirmala Fitria Firdhausi, M.Si.
NIP 198506252011012010

Penguji II



Hanik Faizah, M. Si.
NUP 201409019

Penguji III



Dedy Suprayogi, S.KM, M.KL
NIP 198512112014031002

Penguji IV



Dr. Abdul Manan, M.Pd.I
NIP 197006101998031002

Mengetahui,

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Ampel Surabaya



Rusdiyah, M.Ag.
NIP 197512272005012003

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Della Octa Dylia

NIM : H71212027

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2017

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul: “**UJI POTENSI *Trichoderma asperellum* SEBAGAI AGEN BIODEGRADASI PEWARNA TEKSTIL SECARA *IN VITRO***”. Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 06 Juli 2021
Yang menyatakan,



Della Octa Dylia
NIM H71217027

asalnya, pewarna yang digunakan dalam industri tekstil ada dua macam yaitu pewarna alami dan pewarna sintesis. Pewarna alami cukup jarang digunakan dalam industri tekstil karena daya keawetan yang kurang di bawah paparan cahaya dan pencucian sehingga produsen lebih menggunakan pewarna sintesis. Pewarna tekstil sintetis umumnya dibuat dari sumber buatan seperti bahan kimia, produk sampingan minyak bumi, dan mineral bumi (Ghodsi *et al*, 2018). Adanya kandungan pewarna dalam limbah tekstil dapat mengakibatkan minimnya penetrasi cahaya ke dalam air yang menyebabkan terganggunya proses fotosintesis organisme autotrof, selain itu pada sebagian jenis pewarna juga bersifat toksik, mutagenik dan karsinogenik (Vikrant *et al.*, 2018).

Limbah pewarna tekstil telah banyak mencemari perairan daratan khususnya sungai. Berdasarkan penelitian Suhendra *et al.* (2013), air sungai Citarum yang berada di Kabupaten Bandung mengandung senyawa Kroanilin, dimana senyawa ini merupakan polutan toksik yang berasal dari limbah pewarna tekstil jenis azo. Pencemaran sungai yang lain juga terjadi di Sungai Cikijing yang juga berada di Kabupaten Bandung. Dari penelitian yang dilakukan oleh Komarawidjaja (2016) diketahui bahwa sungai Cikijing telah tercemar oleh pewarna tekstil jenis azo. Dari analisis yang dilakukan sungai tersebut ditemukan akumulasi beberapa jenis logam berat seperti Cr, Pb, As dan Zn.

Penumpukan limbah secara terus menerus terlebih tanpa pengolahan yang tepat dapat mengakibatkan akumulasi polutan dan zat yang berbahaya, baik bagi makhluk hidup maupun lingkungan. Islam telah melarang perusakan lingkungan secara tegas yang tersampaikan melalui hadis Nabi Muhammad saw, salah satu hadis yang melarang perusakan lingkungan adalah hadis yang di riwayatkan oleh Abu Hurairah ra.

وقال صلى الله عليه وسلم اتقوا الملاعن الثلاث قيل ما الملاعن الثلاث يا رسول

الله قال أن يقعد أحدكم في ظل يستظل به أو في طريق أو في نفع ماء

apabila manusia menaati petunjuk-Nya, maka keseluruhannya akan berjalan dengan baik, manusia baik dapat membangun bangsa dan negara yang baik.

Di akhir ayat dijelaskan mengenai etika dalam berdoa, yaitu hendaklah dengan sepenuh hati, khusyu, diiringi suara yang lembut dengan hati yang penuh harapan sekaligus perasaan takut. Berdoa yang baik dapat mempertebal keyakinan dan menjauhkan diri dari keputusan. Selain itu, berdoa merupakan perbuatan baik yang dapat mendekatkan diri dengan rahmat Allah dan akan selalu tercurah pada siapa saja yang berbuat baik. Perbuatan baik tidak hanya terbatas pada berdoa (hubungan pencipta dan makhluk-Nya), tetapi juga termasuk perbuatan baik antar sesama manusia, perbuatan baik dengan hewan dan perbuatan baik dengan lingkungan

Berdasarkan tafsir surah Al-A'raf ayat 56, maka permasalahan tentang pencemaran haruslah segera diselesaikan untuk memastikan kelestarian lingkungan untuk generasi mendatang. Berbagai metode penanganan limbah cair telah dilakukan untuk mengurangi dan menghilangkan efek toksik, baik secara kimia maupun secara fisik. Penanganan limbah secara kimiawi menggunakan koagulan sedangkan secara fisik menggunakan sedimentasi. Penanganan limbah dengan koagulasi dan sedimentasi nantinya akan menghasilkan lumpur. Lumpur tersebut tentunya akan menjadi permasalahan baru. Menurut Peraturan Pemerintah No. 19 tahun 1994, lumpur dari proses penanganan secara koagulasi dan sedimentasi dari limbah tekstil dikelompokkan sebagai limbah B3, sehingga memerlukan penanganan lanjut. Penanganan lanjutan tersebut tentunya akan menghabiskan banyak biaya dan waktu, oleh karena itu metode koagulan maupun sedimentasi dirasa kurang efektif (Yulita *et al.* 2013).

Metode pengelolaan limbah yang memungkinkan untuk menangani permasalahan lingkungan yang cukup efektif adalah dengan bioremediasi. Bioremediasi adalah proses alamiah dimana terjadi penguraian, detoksifikasi ataupun penghilangan bahan pencemar yang terjadi pada berbagai tingkat ekosistem oleh agen hayati yang bertindak sebagai bioremediator. Penerapan bioremediasi dalam menanggulangi masalah limbah lebih ramah lingkungan karena dalam prosesnya menggunakan agen hayati dan juga

teknik bioremediasi membutuhkan biaya yang lebih sedikit dibandingkan dengan cara koagulasi secara fisik dan kimia. Prinsip dari bioremediasi yaitu memanfaatkan suatu organisme seperti dekomposer untuk memecah substrat yang berupa polutan. Organisme yang sering digunakan sebagai *decomposer*, yaitu mikroorganisme seperti bakteri, ganggang, dan jamur (Mohanakrishna *et al.*, 2016; Das dan Dash, 2017).

Dari banyaknya jenis mikroorganisme, jamur telah dianggap sebagai mikroba yang paling tepat untuk menghilangkan pewarna dari limbah industri. Miselium jamur memiliki keunggulan dibandingkan organisme uniseluler karena dapat melarutkan substrat yang tidak larut melalui enzim ekstraseluler. Jamur memiliki permukaan yang lebih besar, hal itu tentu menunjukkan interaksi fisik dan enzimatik yang lebih baik dengan lingkungan. Jamur juga memiliki kemampuan lebih besar untuk mendegradasi racun dalam konsentrasi tinggi (Sweety, 2018).

Salah satu jenis jamur yang berpotensi mendegradasi pewarna tekstil adalah jamur *Trichoderma* sp. Jamur ini memproduksi enzim seperti *Manganese Peroxidase* (MnP), dan *Lignin Peroxidase* (LiP) yang diketahui dapat mendegradasi pewarna sintetik (Sugoro *et al.* 2011). Menurut penelitian Singh dan Singh (2012), diketahui bahwa *Trichoderma harzianum* mampu mendegradasi pewarna jenis *basic* sebesar 51% dan pewarna jenis asam sebesar 70% dalam waktu 10 hari. Dari penelitian yang dilakukan oleh Saravanakumar and Kathiresan (2014) didapatkan hasil degradasi pewarna *Malacite green* oleh *Trichoderma* sp. sebanyak 89% selama 10 hari. Penelitian lain juga dilakukan oleh He *et al.*, (2018) dari penelitian tersebut didapatkan hasil degradasi yang dikatalis enzim MnP dan LiP yang terdapat pada *Trichoderma tomentosum* terhadap pewarna jenis *acid red* sebanyak 99.2% dalam waktu 72 jam.

Beberapa penelitian tersebut membuktikan bahwa beberapa jenis jamur *Trichoderma* telah berhasil digunakan untuk mendegradasi berbagai jenis pewarna tekstil sintesis. Namun, pemanfaatan *Trichoderma* sebagai agen pendegradasi pewarna sintesis saat ini masih terbatas pada beberapa spesies. Sementara masih banyak spesies *Trichoderma* lain yang melimpah

dan potensial yang belum dimanfaatkan, salah satunya seperti *Trichoderma asperellum*.

Trichoderma asperellum merupakan salah satu spesies *Trichoderma* yang dapat ditemukan di daerah sekitar perakaran. *T. asperellum* mengandung enzim Lakase (Gustina *et al.* 2018), *Manganese Peroxidase* (MnP), dan *Lignin Peroxidase* (LiP) (Sugoro *et al.* 2011). Enzim tersebut diketahui mampu mendegradasi zat pewarna, selain itu mempunyai beberapa zat yang bermanfaat, salah satunya adalah asam sitrat yang dapat menghambat *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens* dan patogen akuatik lainnya (Wu *et al.*, 2017) sehingga jika digunakan sebagai bioremediator, *T. asperellum* tidak hanya mendegradasi zat pewarna tetapi juga menghambat adanya patogen.

Oleh karena itu, pada penelitian ini perlu dilakukan uji potensi *T. asperellum* terhadap degradasi pewarna tekstil untuk mengetahui sejauh mana kemampuan *T. asperellum* dalam mendegradasi pewarna tekstil sintesis. Dalam penelitian ini juga digunakan beberapa jenis pewarna sintesis yang umum dipakai untuk pewarna tekstil seperti *Acid*, *Direct*, *Fast*, *Reactive*, *Sulphur* dan *Vat*, tujuannya adalah untuk mengetahui jenis pewarna yang paling banyak didegradasi oleh *Trichoderma asperellum* berdasarkan nilai presentase degradasi yang terjadi.

1.2 RUMUSAN MASALAH

- a. Bagaimana kemampuan jamur *Trichoderma asperellum* dalam mendegradasi berbagai pewarna tekstil sintesis?
- b. Apa jenis pewarna yang paling optimum terdegradasi oleh *Trichoderma asperellum*?

1.3 TUJUAN PENELITIAN

- a. Mengetahui kemampuan jamur *Trichoderma asperellum* dalam mendegradasi berbagai pewarna tekstil sintesis.
- b. Mengetahui jenis pewarna yang paling optimal didegradasi oleh jamur *Trichoderma asperellum*.

kimia yang digunakan, teknologi yang digunakan, praktik operasi, dll. Polutan penting yang terdapat dalam limbah limbah tekstil adalah warna, *bio-chemical oxygen demand* (BOD), *chemical oxygen demand* (COD), logam berat beracun, residu klorin dan padatan terlarut (Tiwari and Babel, 2013)

Dalam proses produksinya, industri tekstil membutuhkan air dalam jumlah besar dan menghasilkan limbah yang lebih banyak dibandingkan dengan banyak industri lainnya. Air limbah yang dikeluarkan dari industri tekstil biasanya bersifat basa, memiliki kadar tinggi bahan organik yang dapat terbiodegradasi dan mengandung senyawa organik volatil atau volatile organic compounds (VOC). Kemungkinan polutan lain dari industri tekstil adalah logam berat yang berasal dari proses pencelupan. tembaga, kromium, nikel dan timbal adalah pigmen anorganik yang umum ditemukan dalam air limbah tekstil. Logam berat lainnya seperti kobalt dan seng, juga ditemukan dalam air yang digunakan dalam proses produksi tekstil. Bahan kimia pengawet seperti arsenik dan pestisida berbasis merkuri juga kemungkinan besar dihasilkan dari proses pencucian (Hagberg and Löfgren, 2007).

Limbah tekstil merupakan penyebab sejumlah besar degradasi lingkungan dan penyakit manusia. Sekitar 40% pewarna yang digunakan secara global mengandung klorin yang terikat secara organik dan karsinogen (Sivaram et al., 2019).

Pewarna dan fenol adalah senyawa xenobiotik yang menumpuk di lingkungan setelahnya diproduksi dari berbagai operasi industri tekstil. Kedua zat tersebut termasuk ke dalam bahan kimia yang umum digunakan dalam industri tekstil (Kumar, 2016) Masalah yang ditimbulkan dari senyawa yang digunakan untuk pewarnaan adalah sifatnya yang beracun dan juga karsinogenik (Hagberg and Löfgren, 2007).

2.3 BIOREMEDIASI

Bioremediasi adalah penggunaan spesies mikroba untuk membersihkan tanah dan air yang telah terkontaminasi oleh bahan kimia. Proses bioremediasi merangsang pertumbuhan mikroba spesifik yang

enzim intraseluler dan ekstraseluler untuk medegradasi suatu substrat dengan baik. Biotransformasi senyawa, residu dan air limbah oleh jamur mencirikan *mycoremediation* Mekanisme utama yang terlibat adalah biosorpsi, bioakumulasi, dan biodegradasi (Kaushik and Malik, 2015).

Biodegradasi dianggap sebagai transformasi biologis senyawa organik oleh organisme hidup terutama mikroba. Biodegradasi dapat dibagi menjadi tiga kategori yaitu Mineralisasi, Biotransformasi dan Metabolisme. Mineralisasi adalah proses di mana bahan kimia organik dipecah menjadi senyawa anorganik. Ia juga dikenal sebagai "biodegradasi ultimat". Produk khas dari mineralisasi aerob adalah karbon dioksida, air dan amonia. Dalam biotransformasi, bahan kimia organik hanya mengalami perubahan struktural kecil. Metabolisme adalah transformasi substrat non-pertumbuhan dengan kehadiran substrat pertumbuhan atau senyawa yang dapat ditransformasikan lainnya (Kumar, 2016).

Biodegradasi digambarkan sebagai pemecahan senyawa kimia yang dimediasi oleh aksi enzim biologis. Biodegradasi total adalah pemecahan total molekul organik menjadi air, karbon dioksida dan / atau produk akhir anorganik lainnya yang dikenal sebagai mineralisasi. Jamur dapat mengeluarkan enzim lignolitik tertentu yang berikatan tidak khusus dengan substrat. Oleh karena itu, mereka mampu mendegradasi berbagai macam senyawa bandel dan campuran polutan yang kompleks, seperti pewarna (Kaushik and Malik, 2015).

2.5 MEKANISME BIODEGRADASI PEWARNA DENGAN JAMUR

Trichoderma asperellum merupakan salah satu jamur genus *Trichoderma* yang megandung enzim enzim lignolitik seperti Lakase (Gustina *et al.* 2018), Manganese Peroxidase (MnP) dan Lignin Peroxidase (LiP) (Sugoro *et al.* 2011). Enzim inilah yang berperan dalam mendegradasi zat warna. Mekanisme degradasi zat warna diawali dengan proses absorpsi dan dilanjutkan dengan degradasi secara enzimatik menggunakan enzim lignolitik (Blanzques *et al.*, 2004).

Pada awalnya, jamur akan menggunakan nutrisi yang ada di dalam media seperti glukosa untuk bermetabolisme karena pada awal pertumbuhannya jamur masih sulit dalam menggunakan pewarna sebagai sumber nutrisi sebelum nantinya beradaptasi dan sehingga nantinya mampu dapat mendegradasi zat pewarna.

Hifa dan miselium jamur mampu menyerap zat warna yang ada di lingkungan. Penyerapan ini terjadi akibat interaksi hidrofilik-hidrofobik antara hifa/miselium dengan zat pewarna. Proses penyerapan ini dinamakan absorpsi. Proses absorpsi zat warna ke dalam hifa/miselium jamur menjadi awal adanya transformasi zat. Setelah zat pewarna diabsorpsi, maka akan terjadi proses degradasi yang dikatalis oleh enzim lignolitik seperti enzim Lakase, Manganese Peroxidase (MnP) dan Lignin Peroxidase (LiP).

Reaksi yang dikatalisis Lakase ada dua jenis yaitu: oksidasi langsung dan oksidasi substrat tidak langsung. Oksidasi langsung mengandung oksidasi substrat ke radikal yang sama sebagai akibat dari kontak langsung yang terjadi dengan kluster tembaga. Pada oksidasi tidak langsung, enzim tidak secara langsung mengkatalisis substrat dan dilanjutkan dengan menggunakan beberapa mediator. Mediator adalah senyawa dengan berat molekul rendah yang mudah teroksidasi oleh Lakase, karena ukurannya yang kecil, Mediator bertindak sebagai pembawa elektron dari enzim ke substrat (Datta et al., 2017). proses utama oksidasi tidak langsung adalah: enzim pertama mengkatalisis mediator dan kemudian mediator mengoksidasi substrat (Kumar and Chandra, 2020).

Lignin Peroxidase adalah enzim glikosilasi yang mengandung protein heme dengan kelompok prostetik besi protoporphyrin yang memerlukan hidrogen peroksida (H_2O_2) untuk mengkatalisis oksidasi non unit lignin fenolik dan termineralisasi senyawa aromatik kuat. Oksidasi lignin terjadi melalui transfer elektron, pembelahan non-katalitik dari berbagai ikatan, dan pembukaan cincin aromatik (Datta et al., 2017)

Reaksi yang dikatalisis *Manganese Peroxidase* (MnP) dan *Lignin Peroxidase* (LiP). Adalah oksidasi senyawa fenolik maupun senyawa non fenolik melalui pembebasan satu electron dan menciptakan phenoxy radical

aminobenzoat) (Legerská *et al.*, 2016). Mekanisme reaksi degradasi pewarna vat dapat dilihat di gambar 2.11.

2.6 *Trichoderma asperellum*

Koloni *Trichoderma asperellum* rata-rata tumbuh sekitar 0,5 cm/hari. Koloni *T.asperellum* membentuk miselium pustula putih lebih sedikit dibandingkan dengan *T. harzianum* (Gambar 2.12A). Sebagian besar konidiofor *T. asperellum* terbentuk secara simetris berpasangan di sepanjang cabang utama (Gambar 2.12C). Pola percabangan konidiofor adalah sudut lebar, verticillate, dan hampir 90° (Gambar 2.12D). Satu verticillate yang bercabang biasanya memiliki dua hingga empat phialides (Gambar 2.12;B,C,D,I). Phialides secara khas memanjang lageniform (berbentuk seperti labu : melebar di bawah dan meruncing ke leher ramping di atas) (Gambar 2.12E). Terminal phialides biasanya lebih panjang (Gambar 2.1B) dari sisi lain phialides lain (Gambar 2.12D). Pada akhir phialides dari konidiofor, konidia dibentuk dengan bentuk globose hingga obovoid (Gambar 2.12F). Sementara itu, warna konidia menunjukkan hijau tua di bawah mikroskop cahaya. Formasi dari klamidospora diamati memiliki subglobose dan globose (Gambar 2.12G) yang sebagian besar ditemukan di tengah hifa (Gambar 2.12H) (Naheer *et al.* 2019).

panjang gelombang di pita sempit di sekitar panjang gelombang yang dipilih, dan untuk mengukur rasio intensitas sinar ketika memasuki dan meninggalkan kuvet yang ditempatkan di balok yang membatasi sampel ke jalur yang panjangnya diketahui secara akurat (De Lange, 2016).

Penyerapan cahaya dapat digunakan dalam karakterisasi dan penentuan kuantitatif zat. Spektroskopi UV/Vis adalah teknik yang didasarkan pada penyerapan cahaya oleh zat yang tidak diketahui atau sampel yang tidak diketahui. Di sini, sampel diterangi dengan sinar elektromagnetik dari berbagai panjang gelombang dalam cahaya tampak (*visible*) dan ultraviolet (UV) dari spektrum. Tergantung pada bahannya, cahaya sebagian diserap. Cahaya yang tersisa, yaitu cahaya yang ditransmisikan, dicatat sebagai fungsi panjang gelombang oleh detektor yang sesuai, memberikan spektrum UV/Vis sampel (De Caro, 2015).

Akibatnya, karena setiap zat menyerap cahaya dengan cara yang berbeda, ada hubungan yang spesifik antara zat dan spektrum UV/Vis-nya. Spektrum kemudian dapat digunakan untuk mengidentifikasi atau mengukur suatu zat. Spektra UV/Vis yang diperoleh sangat berguna untuk pengukuran kuantitatif suatu senyawa tertentu. Faktanya, konsentrasi analit dalam larutan dapat ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu (De Caro, 2015).

3.2 TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian dilakukan pada bulan November 2020 – Juli 2021 di Laboratorium Integrasi Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya (UINSA). Jadwal penelitian dapat dilihat pada tabel 3.3.

Tabel 3.3 Jadwal penelitian

No	Kegiatan	Bulan															
		5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	
1.	Penyusunan proposal skripsi	■	■														
2.	Seminar proposal		■														
3.	Persiapan alat dan bahan									■							
4.	Pembuatan media dan subkultur jamur										■	■					
5.	Pengujian degradasi pewarna tekstil										■	■	■				
6.	Penghitungan indeks dekolorisasi										■						
7.	Analisis data											■					
8.	Pembuatan draft skripsi												■	■	■	■	■
9.	Ujian skripsi																■

3.3 ALAT DAN BAHAN PENELITIAN

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi neraca analitik, elenmeyer, kompor listrik, batang pengaduk, autoklaf, kapas, *plastic wrap*, cawan petri, Spektrofotometer Optima sp-300, penggaris, gelas ukur, bor gabus, kertas label, *syringe*, spatula dan scalpel.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi media padat PDA (*Potato Dextrose Agar*), sukrosa, NaNO_3 , K_2HPO_4 , MgSO_4 , KCl , FeSO_4 , akuades, isolat jamur *Trichoderma asperellum*, pewarna tekstil jenis *Acid*, *Direct*, *Fast Blue*, *Reactive*, *Sulphur* dan *Vat*.

3.4 VARIABEL PENELITIAN

Variabel-variabel dalam penelitian ini terdiri atas tiga variabel yaitu variabel bebas, variabel terikat dan variabel kontrol dengan masing-masing perincian sebagai berikut:

- a. Variabel bebas, yaitu jenis pewarna tekstil (*Acid*, *Direct*, *Fast Blue*, *Reactive*, *Sulphur* dan *Vat*.)
- b. Variabel terikat, nilai potensi degradasi yang dinyatakan dari presentase dekolonisasi dan zona dekolonisasi
- c. Variabel kontrol, jenis jamur, jenis media, intensitas cahaya, dan suhu

3.5 PROSEDUR PENELITIAN

3.5.1 Sterilisasi alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini harus steril oleh karena itu perlu dilakukan sterilisasi untuk menghindari kontaminasi. Pada penelitian ini, alat yang tahan panas disterilkan menggunakan autoklaf. Alat-alat yang akan disterilkan terlebih dahulu dibungkus dengan kertas untuk disterilkan dengan autoklaf dengan suhu 121°C selama kurang lebih 15-20 menit. Untuk alat-alat yang tidak tahan panas, proses sterilisasi dilakukan dengan menggunakan lampu UV.

3.5.2 Pembuatan Larutan Pewarna

Pewarna dibuat sesuai kebutuhan. Dari rancangan perlakuan baik media padat dan cair, setidaknya setiap pewarna dibutuhkan sebanyak 280 ml untuk digunakan di media cair 200 ml dan media padat 60 ml.

Konsentrasi larutan pewarna yang digunakan dalam penelitian ini adalah 100 ppm. Larutan pewarna dibuat dengan menimbang 26

autoklaf. Masing-masing media dengan pewarna yang berbeda ditandai dengan kertas label sesuai dengan zat pewarna yang ada didalamnya. Media yang telah disterilkan dengan autoklaf dituang ke cawan petri. Masing masing cawan berisi 20 ml media. Setelah itu media ditunggu sampai padat. Proses penuangan media ke cawan petri harus dilakukan di LAF.

C. Media cair CDB untuk uji potensi degradasi jamur

Media cair yang digunakan pada penelitian ini adalah media Czapeks Dox Broth. Pembuatan media dilakukan secara terpisah sesuai dengan jenis pewarna. Masing-masing media dibuat dengan menimbang 6 g sukrosa, 0.6 g NaNO_3 , 0.2 g K_2HPO_4 , 0.1 g MgSO_4 , 0.1 g KCl , 0.002 g FeSO_4 dan melarutkannya dalam 200 ml pewarna konsentrasi 100 ppm yang telah dibuat sebelumnya. Kedua bahan tersebut dihomogenkan. Apabila campuran tersebut telah homogen kemudian disterilkan menggunakan autoklaf. Media yang telah steril kemudian dituangkan ke dalam erlenmeyer ukuran 250 ml. dengan masing-masing erlenmeyer berisi 50 ml media.

3.5.4 Peremajaan jamur

Jamur yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Trichoderma asperellum* yang didapatkan dari Balai Besar Proteksi dan Perbenihan Tanaman Perkebunan Surabaya. Jamur tersebut harus diremajakan terlebih dahulu. Peremajaan jamur ini dilakukan dengan melubangi media menggunakan bor gabus, setelah media tercetak bentuk lingkaran kemudian diambil dengan menggunakan *scapel* dan kemudian di tanam di media baru.

3.5.5 Pengujian potensi degradasi

Berdasarkan media yang digunakan, pengujian ini dibagi menjadi 2, yaitu pada media padat dan media cair. Penjelasan proses pada masing-masing media dapat dijabarkan sebagai berikut:

A. Skrining degradasi pada media padat

HSI ke7. Sporulasi pada HSI ke7 didapati pada medium *Acid Orange* ulangan ke 1, *Direct Blue* ulangan ke 3 dan 4, *Fast Blue* ulangan ke 4, *Reactive Black* ulangan ke 1 dan 4, *Sulphur Black* ulangan ke 1, 2, 4 dan *Vat Blue* ulangan ke 1, 3, 4. Apabila dibandingkan dengan kondisi perlakuan kontrol pada gambar 4.1, miselia *T. asperellum* yang ditanam di media yang telah ditambahkan pewarna pertumbuhannya cenderung lambat. Bahkan seluruh isolate masih belum memenuhi setengah dari permukaan media. Namun pada HSI ke 14 sebagian besar isolate telah tumbuh dan bahkan hampir menutupi seluruh permukaan media.

Pada hari 14, kecuali pada medium *Acid Orange* ulangan ke 4; *Fast Blue* ulangan ke 1, 2 dan *Reactive Black* ulangan ke 2, 4 semua isolate telah mengalami sporulasi. Sporulasi yang terjadi antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan diasumsikan berbeda. Karena pada kelompok kontrol, sporulasi terjadi akibat penipisan nutrisi seiring dengan semakin banyaknya isolate, semakin sedikit nutrisi yang tersisa dalam media. Sedangkan pada sporulasi di media yang ditambahkan pewarna, masih ada bagian dari media yang kosong atau tidak ditumbuhi *T. asperellum*, sehingga sporulasi diasumsikan dengan akibat dari adanya modifikasi pada media. Yuan *et al* (2012) memaparkan bahwa sporulasi biasanya terjadi ketika laju pertumbuhan berkurang dan terhambat dalam kondisi yang mendukung pertumbuhan miselium yang cepat. Kelaparan atau penipisan nutrisi, dan juga penerapan beberapa modifikasi media buatan sering memicu sporulasi. Dari banyaknya isolat yang bersporulasi, menunjukkan bahwa isolat tersebut telah mampu mendegradasi dan memanfaatkan zat pewarna sebagai sumber nutrisinya.,

Skrining merupakan proses penting dalam pengujian degradasi pewarna. Tujuan dilakukannya skrining adalah untuk deteksi awal, dalam hal ini untuk mendeteksi ada atau tidaknya aktivitas degradasi suatu isolat jamur terhadap beberapa jenis pewarna yang akan diujikan. Sehingga apabila dari skrining tersebut tidak dijumpai aktivitas degradasi terhadap beberapa jenis pewarna maka tidak perlu diujikan lebih lanjut. Skiring pewarna pada media padat sebelumnya telah banyak dilakukan, misalnya pada penelitian dari

Hefnawy *et al* (2017) yang menumbuhkan beberapa isolate jamur ascomycetes dalam media PDA dengan tambahan 1% pewarna *Direct Blue* selama 7 hari, hasilnya adalah muncul zona bening pada media yang ditumbuhi isolate *Aspergillus flavus* dan *Penicillium canescens*. Dari penelitian Salar *et al* (2012) juga didapati zona bening pada skrining dekolorisasi *Aspergillus sulphureus* dengan media CDA yang telah ditambahkan 200mg/L pewarna *Reactive Black*. Fitriana dan Kuswyasari (2013) juga melakukan dekolorisasi pada media padat. Pewarna yang diujikan adalah pewarna *Acid Orange* dengan konsentrasi 100 ppm dalam media Basal Agar selama 10 hari, penelitian tersebut menggunakan 38 isolat yang terdiri dari genus *Verticilium*, *Trichoderma*, *Stachybotrys*, *Scopulariopsis*, *Penicillium*, *Paecylomyces*, *Nigospora*, *Mycelia Sterillia*, *Mortiriella*, *Gliomastix*, *Gliocladium*, *Fusarium*, *Exophiala*, *Cuvularia*, *Cephaliospora*, *Chaetomiu*, *Aspergillus*, *Acremonium* dan *Absidia*. Hasilnya, masing-masing isolate membentuk zona bening yang berbeda-beda, zona bening tertinggi ada pada isolate *Gliomastix*, kemudian disusul oleh *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Chaetomium*, *Mortiriella*, *Penicillium* dan *Stachybotrys*.

4.2 DEGRADASI PADA MEDIA CAIR

Degradasi pada media cair merupakan uji lanjutan yang dilakukan setelah skrining dekolorisasi di media padat. Pewarna yang menunjukkan dekolorisasi pada proses skrining kemudian di uji di media cair untuk mengetahui presentase degradasinya. Uji degradasi media cair dilakukan karena pada saat proses skrining, zona bening yang muncul tersebar di dalam cawan sehingga tidak dapat dihitung diameter zona beningnya.

Berdasarkan uji dekolorisasi pada media cair *Czapeks Dox Broth* yang dilakukan, didapatkan hasil yang berbeda pada tiap-tiap jenis pewarna. Uji dekolorisasi ini dilakukan dengan menginokulasikan kultur *Trichoderma asperellum* ke dalam masing-masing media yang sebelumnya telah ditambahkan pewarna. Setelah inkubasi selama 7 hari, masing-masing pewarna menunjukkan adanya perubahan warna menjadi lebih pudar. Untuk

di penelitian ini didapatkan hasil sebaliknya. Keadaan ini kemungkinan terjadi adanya proses dekolorisasi lain, yaitu dengan biosorpsi.

Dekolorisasi pewarna dengan jamur dapat dibagi menjadi dua kategori yaitu biosorpsi dan biodegradasi. Mekanisme biosorpsi adalah proses yang melibatkan interaksi fisio-kimia seperti adsorpsi (Hadibarata *et al*, 2017). Seperti yang dipaparkan Bustan *et al* (2011), Adsorpsi adalah proses penggumpalan substansi dalam larutan oleh permukaan zat penyerap yang membuat masuknya bahan dan mengumpul dalam suatu zat penyerap. Proses adsorpsi berlangsung jika padatan atau molekul gas atau cair dikontakkan dengan molekul-molekul adsorbat, sehingga didalamnya terjadi gaya kohesif atau gaya hidrostatis dan gaya ikatan hidrogen yang bekerja diantara molekul seluruh material (Ginting, 2008). Akhir dari proses biosorpsi adalah pembentukan suatu lapisan tipis atau film pada permukaannya. Hal ini juga dibuktikan dengan adanya lapisan tipis yang menyelimuti permukaan miselia *Trichoderma asperellum*.

Walaupun secara statistik pewarna *Sulphur Black* dan *Vat Blue* memiliki perbedaan yang tidak signifikan, namun selisih dari perbandingan rata-rata antara pewarna tersebut cukup tinggi, yaitu mencapai 12%. Adanya perbedaan ini kemungkinan dikarenakan adanya perbedaan ukuran partikel antara pewarna tersebut. Taha and Kabbout (2014) menyatakan bahwa partikel yang mempunyai ukuran lebih rendah akan mudah dalam proses biosorpsi yang nantinya akan mengarah ke nilai dekolorisasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan partikel yang lebih besar. Namun, hingga saat ini belum ada literatur yang mengetahui secara pasti ukuran partikel dari kedua pewarna tersebut.

Sedangkan untuk proses dekolorisasi pewarna golongan Azo didapatkan hasil yang bervariasi, nilai tertinggi terdapat pada pewarna *Direct Blue* dengan presentase sebanyak 68.49 % dan nilai terendah pada pewarna *Acid Orange* yaitu sebanyak 2.03%. Hal tersebut dapat terjadi walaupun pewarna-pewarna tersebut berasal dari golongan yang sama. Penggolongan pewarna-pewarna tersebut kedalam kelompok Azo disebabkan karena satu persamaan yaitu adanya gugus N=N. Selebihnya pewarna-pewarna tersebut

Rendahnya presentase pada pewarna *Acid Orange* dibanding pewarna *Direct Blue* kemungkinan disebabkan oleh stuktur rantai pewarna *Acid Orange* itu sendiri. Hal yang hampir sama dijumpai pada penelitian yang dilakukan oleh Bras *et al* (2005). Pada penelitian tersebut dilakukan uji degradasi antara pewarna *Direct Red* dan *Acid Orange* menggunakan campuran bakteri metanogenik, presentase degradasi pewarna jenis *Acid Orange* sebanyak 56% sedangkan presentase degradasi jenis *Direct Red* mencapai 82% . Menurut Bracko dan Span (1996) dalam Bras *et al* (2005), terjadi dimerisasi zat warna sebagai akibat dari adanya agregasi molekul. Agregasi molekul sendiri dapat disebabkan oleh beberapa hal, misalnya ikatan hydrogen, interaksi elektrostatis khususnya gaya *van der Waals* dan interaksi hidrofobik. Dalam penelitian tersebut pewarna *Direct Red 254* memiliki dua gugus sulfonat, salah satunya terletak dekat dengan salah satu ikatan azo, yang mungkin mengurangi kecenderungan agregasi. Sebaliknya, gugus sulfonik tunggal *Acid Orange 7* terletak di pinggiran molekul, mendukung asosiasi *Acid Orange 7* dan menyebabkan penurunan ketersediaan pewarna untuk reduksi anaerobik. Efek ini dapat menjelaskan profil penurunan warna *Acid Orange* yang lebih sulit daripada *Direct Red*.

Trichoderma asperellum merupakan jamur yang masih asing bagi sebagian orang. Sehingga pemanfaatan jamur jenis ini masih belum banyak dilakukan. Setelah dilakukannya penelitian ini diketahui bahwa jamur *T. asperellum* mempunyai potensi dalam remediasi lingkungan dari cemaran limbah tekstil. Hal itu menambah salah satu daftar manfaat yang dimilikinya. Pada dasarnya alam telah menyediakan hal-hal yang dibutuhkan oleh manusia. Sebagai manusia tugas kita adalah mencari dan mempelajari apa yang telah tersedia di alam.

Islam telah mengajarkan banyak hal yang melalui Al- Quran maupun Hadits, ada hal yang dijelaskan dengan gamblang ada pula hal yang dijelaskan secara tersirat. Pun demikian tentang *Trichoderma asperellum* dan potensinya yang dijelaskan secara tersirat dalam QS. Ali Imran 191

- De Lange A.J. 2016. Chapter 11 - *Color*, Editor(s): Charles W. Bamforth. *Brewing Materials and Processes*. Academic Press, , Cambridge
- Fitriana Aprilia dan Kuswytasari Nengah Dwianita. 2013. Potensi Isolat Kapang Koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Biologi ITS Dalam Mendegradasi Pewarna Azo Orange II. *JURNAL SAINS DAN SENI POMITS* Vol. 2, No.2 2337-3520
- Fitrihana, N. 2010. *Teknologi textile dan fashion*. UNY Press. Yogyakarta
- García Pablo Marcelo Pérez, Calerob Sandra L. Ibáñez and Vásquez Ramiro Escalera. 2017. Degradation of Synthetic Organic Dyes in Solution By Ferrate – Hypochlorite or Calcium Hypochlorite. *Investigación & Desarrollo*, 17 (1): 43 – 53
- Ghods Mohammadi Ziarani, Razieh Moradi, NegarLashgari. 2018. *Metal-Free Synthetic Organic Dyes*. Alzahra University, Tehran, Iran
- Ginting.F.D. 2008. Adsorpsi.Penerbit : FT UI, Jakarta.
- Gupta Virendra Kumar. 2019. Fundamentals of Natural Dyes and Its Application on Textile Substrates, *IntechOpen*, DOI: 10.5772/intechopen.89964.
- Gustina, Heliyanti S dan Dahliaty A. 2018. Produksi Enzim Lakase oleh Jamur *Trichoderma asperellum* LBKURCCI dalam Bioreactoe Tray Menggunakan Variasi Ukuran Substrat Jerami Padi dan Induser CuSO4 Pada Fermentasi Kultur Padat. *Jom FTEKNIK*, 5 (2); 1-6
- Hadibarata Tony , Syafiuddin Achmad, Al-Dhabaan Fahad A. Elshikh Mohamed Soliman, dan Rubiyatno. 2017. Biodegradation of Mordant orange-1 using newly isolated strain *Trichoderma harzianum* RY44 and its metabolite appraisal. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. <https://doi.org/10.1007/s00449-018-1897-0>
- Hagberg, L. and Löfgren, E., 2007. Soil and Plant Contamination by Textile Industries at ZFILM, Managua. *Minor Field Study* 126. Uppsala University, Sweden.
- Hasri, Sudding, Amiruddin Achmad. 2018. Biodegradasi Zat Warna Acid Orange 7 Menggunakan Enzim Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*). *Jurnal Kimia Riset*, 3 (1); 47 - 51
- Hatakka, A. (2001) *Biodegradation of lignin*. In: Hofrichter, M. and Steinbuchel, A., Eds., *Biopolymers*, Vol. 1: Lignin, Humic Substances and Coal, Wiley-VCH, Weinheim, 129-180.

- He XL, Song C, Li YY, Wang N, Xu L, Han L and Wei DS. 2018. Efficient degradation of Azo dyes by a newly isolated fungus *Trichoderma tomentosum* under non-sterile conditions. *Ecotoxicol Environ Saf.* 150:232- 239.
- Hefnawy, M. A., Gharieb, M. M., Shaaban, M. T., & Soliman, A. M. (2017). Optimization of culture condition for enhanced decolorization of Direct blue dye by *Aspergillus flavus* and *Penicillium canescens*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(2), 083–092.
- Husna Niki Rachmanur, Hasri Hasri ,Sudding S. 2017. Pengaruh pH terhadap Degradasi Pewarna Direct Blue Menggunakan Jamur Pelapuk Kayu (*Pleurotus flabellatus*). *Jurnal Kimia Riset*, 2 (2); 140 - 146
- IImi Ima Mufidatul & Kuswytasari Nengah Dwianita. 2013. Aktifitas Enzim Lignin Peroksidase oleh *Gliomastix* sp. T3.7 pada Limbah Bonggol Jagung dengan Berbagai pH dan Suhu. *Jurnal Sains dan Seni Pomits* Vol. 2, No.1: 2337-3520
- IImi Ima Mufidatul dan Kuswytasari Nengah Dwianita. 2011. Aktifitas Enzim Lignin Peroksidase oleh *Gliomastix* sp. T3.7 pada Limbah Bonggol Jagung dengan Berbagai pH dan Suhu. *JURNAL SAINS DAN SENI POMITS* Vol. 2, No.1, (2013) 2337-3520
- Kandelbauer A. and Guebitz G. M. 2005. *Bioremediation for the decolorization of textile dyes –a review*. In E. Lichtfouse, J. Schwarzbauer and Robert (Eds.), *Environmental Chemistry*. Springer. Heidelberg. Berlin.
- Kandelbauer, A., Guebitz, G.M. 2005. Bioremediation for the decolorization of textile dyes-a review. In Dr. E. Lichtfouse, Dr. J. Schwarzbauer, Dr. D. Robert (Eds.), *Environmental chemistry: green chemistry and pollutants in ecosystems*. Berlin: Springer
- Kaushik P.and Malik A. 2015. *Mycoremediation of synthetic dyes: An insight into the mechanism, process optimization And reactor design*. Springer. Singapore
- Kementerian Perindustrian Republik Indonesia. 2020. *Industri Tekstil Siap Keluar dari Tekanan Global*. Diakses pada 31 Mei 2020. < <https://kemenperin.go.id/artikel/21508/Industri-Tekstil-Siap-Keluar-dari-Tekanan-Global> >.
- Khairunisa, R. 2008. Kombinasi Teknik Elektrolisis dan Teknik Adsorpsi Menggunakan Karbon Aktif untuk Menurunkan Konsentrasi Senyawa Fenol dalam Air: Skripsi FMIPA Universitas Indonesia, Depok
- Komarawidjaja, W. 2016. Sebaran Limbah Cair Industri Tekstil Dan Dampaknya Di Beberapa Desa Kecamatan Rancaekek Kabupaten Bandung, *Jurnal Teknologi Lingkungan (JTL)* Vol 17, No.2 : 118-125.

- Kumar A. 2016. *Environmental Pollution by Textile Industries*. University of Rajasthan, Jaipur.
- Kumar Adrash and Chandra Ram. 2020. Ligninolytic enzymes and its mechanisms for degradation of lignocellulosic waste in environment. *Heliyon*, 6 (2) : 1-18
- Kumar, A., & Chandra, R. 2020. Ligninolytic enzymes and its mechanisms for degradation of lignocellulosic waste in environment. *Heliyon*, 6(2), e03170. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03170>
- Kuntadi. 2016. ISOTERM Adsorpsi Dari Adsorben Nata De Ipomoea Pada Adsorpsi Pewarna Direct Red Teknis. *Thesis*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UNY.
- Leelakriangsak M, Borisut S (2012) Characterization of the decolorizing activity of azo dyes by *Bacillus subtilis* azoreductase Azor1. *Songklanakarin J Sci Technol* 34: 509-516
- Legerská Barbora, Chmelová Daniela, Ondrejovič Miroslav . 2016. Degradation of Synthetic Dyes by Laccases – A Mini-Review . *Nova Biotechnologica et Chimica*;15-1
- Mahapatra N.N. 2016. *Textile Dyes*. Woodhead Publishing India PVT LTD. New Delhi.
- Mohanakrishna, G., Srikanth, S., and Pant, D. 2016. Bioprocesses for Waste and Wastewater Remediation for Sustainable Energy. *Bioremediation and Bioeconomy*, 537–565
- Muralikrishna, I. V., and Manickam, V. 2017. *Introduction*. *Environmental Management*. Elsevier. India
- National Center for Biotechnology Information (2021). PubChem Compound Summary for CID 84305. Retrieved July 28, 2021 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Fast-Blue-B-Salt>.
- National Center for Biotechnology Information. 2021. PubChem Compound Summary for CID 73557531, C.I. Sulphur Black 1. Retrieved July 28, 2021 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/C.I.-Sulphur-Black-1>.
- Naher L., Syawani N., Ameiza N. and Kamarudini A.B. 2019 *Trichoderma* Species Diversity in Rhizosphere Soils and Potential Antagonism With *Fusarium oxysporum*. *Biosci. J., Uberlândia*, 35 (1) : 13-26
- Qur'an Kemenag. 2020. *Al-A'raf* - الاعراف. Diakses pada 31 Mei 2020. <<https://quran.kemenag.go.id/sura/7>>

- R. Bras' a, A. Gomesa, M.I.A. Ferraa, H.M. Pinheirob, I.C. Gonc,alvesa,*2005. Monoazo and diazo dye decolourisation studies in a methanogenic UASB reactor. *Journal of Biotechnology* 115 (2005) 57–66
- Raj Kumar Salar, Suresh Kumar Rohilla and Jitender Kumar Rohilla. 2012. Decolorization of Reactive Black HFGR by *Aspergillus sulphureus*. *Annals of Biological Research*, 3 (8):3811-3817
- Rana Kabbouta , Samir Tahaa,b*. 2014. Biodecolorization of textile dye effluent by biosorption on fungal biomass materials. *Physics Procedia* 55 (2014) 437 – 444
- S.K. Sen, S. Raut, P. Bandyopadhyay, S. Raut. Fungal decolouration and degradation of azo dyes: A review *Fungal Biology Reviews*, 30 (3) (2016), pp. 112-133.
- Samuels, G.J., E. Lieckfeldt and H.I. Nirenberg. 1999. *Trichoderma asperellum*, a new species with warted conidia and redescription of *T. viride*. *Sydowia* 51: 71-88.
- Saravana kumar and Kathiresan K. 2014. Bioremoval of the synthetic dye malachite green by marine *Trichoderma* sp. *SpringerPlus*, 3:631.
- Sastrohamidjojo H. 2007. *Spektroskopi*. Gadjah Mada University. Yogyakarta
- Shi, Jingling. 2014. Measurement of Vat Dye Concentrations for Real-Time Dyebath Monitoring. *Thesis*. Textile Engineering. North Carolina State University
- Singh Lokendra and Singh Ved Pal. 2012. Microbial Decolourization of Textile Dyes by the Fungus *Trichoderma harzianum*. *Journal Of Pure And Applied Microbiology*, 6(4);1829-183 3
- Sivaram, N.M., Gopal, P.M., and Barik, D., 2019, *Toxic Waste from Textile Industries in Energy from Toxic Organic Waste for Heat and Power Generation*, 1st Ed., Eds. Barik, D., Woodhead Publishing, United Kingdom
- Speight J.G. 2018. *Biological Transformation*. CD & W Inc., Laramie, Wyoming, United States
- Speight J.G. 2018. *Mechanisms of Transformation*. CD & W Inc., Laramie, Wyoming, United States
- Sugoro, I., D. Indriani, D. Sasongko & P. Adiatiawati. 2011. *Isolasi & seleksi fungi dari pertambangan batubara sebagai agen biosolubilisasi*. Biota UNIKA Atmajaya. Jakarta.
- Suhendra E, Purwanto dan Edwan Kardena. 2013. Potensi Keberadaan Polutan Kloroanilin di Sungai Citarum Akibat Biotranformasi Pewarna Azo dari Air Limbah Tekstil. *Prosiding Seminar Nasional Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*. Universitas Diponegoro, Semarang

