

## Penyingkiran Pewarna Hijau Malakit dengan Gabungan Penjerapan dan Penguraian oleh Lakase Diimobilisasi dalam Silika Mikropartikel

(Removal of Malachite Green Dye with Combination of Adsorption and Degradation by Laccase Immobilized in Silica Microparticles)

Azmi Fadziyana Mansor<sup>a\*</sup> & Cheryl Perng<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Jabatan Kejuruteraan Kimia dan Proses, Fakulti Kejuruteraan dan Alam Bina,  
 Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Malaysia

<sup>b</sup>Makmal Kejuruteraan Bahan Lanjutan dan Proses, Fakulti Kejuruteraan Kimia dan Kejuruteraan Tenaga,  
 Universiti Teknologi Malaysia, 81310 UTM Skudai, Johor, Malaysia

\*Corresponding author: afadziyana@ukm.edu.my

Received 27 April 2024, Received in revised form 20 August 2024

Accepted 20 September 2024, Available online 30 November 2024

### ABSTRAK

Kajian ini bertujuan untuk meningkatkan penyahwarnaan pewarna dengan mengintegrasikan proses penjerapan dan degradasi enzimatik menggunakan lakase yang diimobilisasi dalam silika mikropartikel. Imobilisasi lakase dicapai melalui teknik sol-gel melalui kaedah dua langkah (pemangkin asid-bes), menggunakan hidrolisis dan kondensasi tetraethyl ortosilikat (TEOS) sebagai prekursor. Pelbagai parameter, termasuk pH, suhu, pemuatan dos, dan masa tindak balas, telah diperiksa dengan teliti untuk mengoptimumkan proses. Hasil kajian mendapatkan kombinasi imobilisasi lakase telah meningkatkan penyahwarnaan pewarna hijau malakit dengan ketara melebihi 20% berbanding penjerapan tunggal menggunakan silika sahaja. Kecekapan penyahwarnaan tertinggi sebanyak 94.21% telah dicapai melalui kesan sinergistik penjerapan dan penguraian enzim yang difasilitasi oleh lakase yang diimobilisasi dalam silika. Imobilisasi ini bukan sahaja meningkatkan kestabilan enzim tetapi juga menjadikan proses penyahwarnaan lebih cekap. Kajian ini menunjukkan potensi silika lakase sebagai agen penyahwarna yang bagus, yang juga boleh digunakan untuk degradasi bahan cemar lain dalam air sisa. Pendekatan inovatif ini menyerlahkan kelebihan penggabungan penjerapan dengan penguraian enzimatik dan menawarkan penyelesaian bagi merawat efluen industri yang sarat dengan pewarna. Peningkatan kestabilan dan kecekapan enzim diimobilisasi menunjukkan kemajuan yang ketara dalam bidang bioremediasi, membuka jalan bagi kaedah yang lebih berkesan dan mesra alam untuk menangani pencemaran air.

Kata kunci: Penyingkiran pewarna; penjerapan; penguraian enzimatik; lakase; silika mikropartikel

### ABSTRACT

The current study aimed to enhance dye decolorization by integrating adsorption and enzymatic degradation processes using laccase immobilized in silica microparticles. In-situ immobilization of laccase was achieved via sol-gel technique through two-step (acid-base catalyst) methods, employing hydrolysis and condensation of tetraethyl orthosilicate (TEOS) as the precursor. Various parameters, including pH, temperature, dosage loading, and reaction time, were meticulously examined to optimize the process. The findings revealed that combination of immobilized laccase significantly improved the decolorization of malachite green dye by over 20% compared to single adsorption using silica alone. The highest decolorization efficiency of 94.21% was attained through the synergistic effect of adsorption and enzymatic degradation facilitated by immobilized laccase in silica. This immobilization not only enhanced the enzyme's stability but also made the decolorization process more efficient. The study underscores the potential of silica-immobilized laccase as a powerful decolorizing agent, which could also be applied to the degradation of other

*contaminants in wastewater. This innovative approach highlights the advantages of combining adsorption with enzymatic degradation, offering a promising solution for treating dye-laden industrial effluents. The enhanced stability and efficiency of the immobilized enzyme demonstrates a significant advancement in the field of bioremediation, paving the way for more effective and eco-friendly methods to address water pollution.*

**Keywords:** Dye removal; adsorption; enzymatic degradation; laccase; silica microparticle

## PENDAHULUAN

Peningkatan pencemaran yang dilepaskan ke alam sekitar telah mencetuskan kesedaran dalam kalangan orang awam dan kerajaan kerana air sisa yang dilepaskan boleh menyebabkan ketidakseimbangan ekosistem dan habitat yang kita diami. Salah satu isu utama yang menyumbang kepada krisis ini adalah pencemaran air dari air sisa tekstil. Secara global, lebih daripada 100,000 pewarna komersial tersedia dengan lebih 700,000 tan metrik pewarna dihasilkan setiap tahun, yang membawa kepada penggunaan 280,000 tan air sisa industri tekstil setiap tahun (Thakur et al. 2018).

Hijau malakit ialah pewarna trifenil metana yang digunakan untuk mewarnai kapas, bulu, sutera, kertas, kulit, dan lain-lain. Pewarna ini juga digunakan sebagai racun parasit, racun kulat, antiprotozoa, dan agen antibakteria. Pewarna ini hanya disyorkan untuk kegunaan luaran kerana pengambilannya secara oral adalah toksik, berbahaya, dan karsinogenik kerana kehadiran nitrogen (Sharma et al. 2023). Ia diketahui sangat toksik kepada sel mamalia dan bertindak sebagai agen yang meningkatkan tumor. Pewarna ini mengurangkan pengambilan makanan, kadar pertumbuhan dan kesuburan, serta menyebabkan kerosakan pada organ dalaman, luka pada kulit, mata, paru-paru, dan tulang (Srivastava et al. 2004). Oleh itu, adalah penting untuk menyingkirkan pewarna ini daripada pelepasan air sisa.

Pelbagai proses telah dicadangkan untuk penyingiran pewarna dari larutan berair. Penjerapan adalah salah satu kaedah yang paling lazim digunakan kerana mudah dioperasi dan lebih murah daripada yang lain. Selain itu, penjerapan juga menghasilkan kualiti air yang baik pada akhir proses (Islam et al. 2021). Selain itu, bahan kimia toksik dan bahan berbahaya tidak akan sekali-kali mempengaruhi produk akhir sisa yang dirawat. Terdapat beberapa laporan dalam literatur yang menunjukkan penggunaan bahan berdasarkan silika untuk rawatan air sisa pewarna melalui mekanisme penjerapan permukaan. Tekstur berliang, luas permukaan yang tinggi dan kestabilan mekanikal menjadi penjerap yang menarik untuk aplikasi penyahcemaran (Jadhav et al. 2019). Walau bagaimanapun, proses penjerapan hanya memindahkan komponen pewarna daripada air sisa ke fasa pepejal tanpa mengambil kira penguraian dan mineralisasi molekul pewarna.

Dalam kajian ini, lakase akan diimobilisasi dalam matriks silika untuk menggabungkan proses penjerapan dan penguraian enzim untuk penyingiran pewarna. Lakase adalah enzim oksidase kuprum berbilang yang berpotensi dalam menguraikan pewarna dengan struktur kimia yang pelbagai termasuk pewarna sintetik yang digunakan dalam industry Singh & Gupta, 2020). Prestasi lakase diimobilisasi bagi penyingiran pewarna hijau malakit terhadap fungsi pH, suhu, dos pemuatuan enzim, dan masa tindak balas telah dikaji.

## BAHAN DAN KAEDAH

### BAHAN

Air reagen jenis 1 diperoleh menggunakan depenyahion Nanopure yang dibeli dari Purite Ltd. (England). Bahan kimia lain adalah reagen gred analitik dari pelbagai pembekal dan digunakan tanpa pemurnian lanjut. 2,6-dimetoksifenol, kalium dihidrogen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), dikalium hydrogen fosfat ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ), dan hijau malakit green oksalat dibeli dari Sigma (USA). Trietilamin (TEA) dan 2-propanol dibeli dari Merck (Germany) manakala gel silika disediakan menggunakan tetraetil ortosilikat (TEOS) dengan kemurnian 99% yang dibeli dari Fluka (Switzerland). Lakase dari *T. versicolor* dibeli dari Daiwa Kasei Co. Ltd. (Japan).

### SINTESIS SILIKA DAN SILIKA LAKASE

Sol silika disediakan melalui reaksi hidrolisis dan kondensasi tetraetil ortosilikat melalui proses pemangkinan asid-bes dua langkah untuk menghasilkan silang-ikatan antara polimer yang akan membantu penjerapan lakase. TEOS, isopropanol, air reagen, dan HCl 0.04 M (nisbah molar 1:3.8:4.9:2.95 $\times 10^{-4}$ ) diaduk pada kelajuan tetap (500-600 rpm) selama 2 jam dan diteruskan dengan penambahan 0.01 ml TEA untuk memulakan proses gelasi. Selepas gelasi, air dalam hidrogel ditukar dengan larutan silan:isopropanol:heksana (1:1:2 mengikut isipadu) pada suhu bilik selama 24 jam. Gel kemudian dicuci dengan isopropanol dan dikeringkan pada suhu bilik selama 2 hari. Bagi penyediaan silika lakase, 1 ml larutan lakase ditambahkan bersama dengan TEA sebelum proses gelasi mengikut prosedur terdahulu Mansor et al. (2015).

## PENENTUAN KEPEKATAN PEWARNA

Penguraiman pewarna ditunjukkan sebagai peratusan pengurangan serapan pada panjang gelombang serapan maksimum. Oleh itu, nyahwarna pewarna oleh lakase ditentukan dengan memantau pengurangan puncak serapan pada panjang gelombang 650 nm menggunakan Spektrofotometer UV/VIS LAMBDA 35 Perkin Elmer (USA). Peratusan nyahwarna dikira sebagai  $(C_i - C_f)/C_i \times 100$ ; di mana  $C_i$  ialah kepekatan awal pada panjang gelombang yang diberikan kawasan keseluruhan di bawah spektrum awal manakala  $C_f$  ialah kepekatan akhir pewarna kawasan keseluruhan di bawah spektrum akhir.

## NYAHWARNA PEWARNA

Bagi mengkaji prestasi silika dalam menyahwarna pewarna hijau malakit, sebanyak 25 mg silika dan silika lakase ditambah secara berasingan ke dalam kelalang kon yang mempunyai 50 ml larutan hijau malakit oksalat (50 ppm) dalam media reaksi. Kelalang tersebut kemudian digoncang selama 2 jam pada 200 rpm menggunakan penggoncang terkawal suhu. Tahap nyahwarna pewarna dikira berdasarkan pengurangan kepekatan pewarna berbanding dengan kepekatan awalnya.

Larutan substrat kemudiannya diperhatikan melalui parameter yang berbeza seperti pH, suhu, pemuatan dos enzim dan masa tindak balas. Kesan pH terhadap ketabilan enzim dikaji dengan mempelbagaikan pH larutan substrat pada pH 5, 6, 7, 8 dan 9, manakala kesan suhu dikaji dengan menjalankan tindak balas pada 30, 40, 50, 60 dan 70 °C. Untuk kesan pemuatan dos enzim ke atas penyahwarnaan pewarna, 10, 20, 25 dan 30 mg kedua-dua sampel telah ditambah dalam campuran tindak balas. Masa tindak balas juga dipelbagai dari 1 hingga 6 jam untuk mengkaji

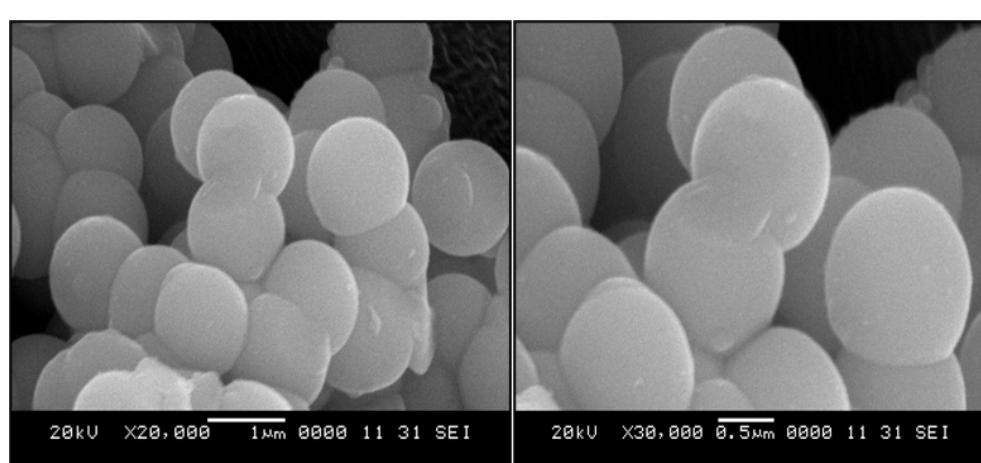
kesannya terhadap penyahwarnaan pewarna. Kesemua eksperimen telah dijalankan bersama-sama dengan eksperimen kawalan menggunakan silika tanpa lakase sebagai sampel.

Untuk menentukan parameter kinetik persamaan Michaelis-Menten ( $K_m$  dan  $K_{cat}$ ) untuk laccase diimobilisasi, kepekatan pewarna awal diubah dari 50 hingga 5000 ppm untuk setiap set penyerapan (650 nm) direkodkan mengikut masa dan kadar tindak balas permulaan dikira. Kemudian, parameter kinetik dianggarkan dengan memasangkan data kepada persamaan Michaelis-Menten menggunakan jenis regresi tak linear.

## KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

### IMOBILISASI LAKASE DALAM SILIKA MIKROPARTIKEL

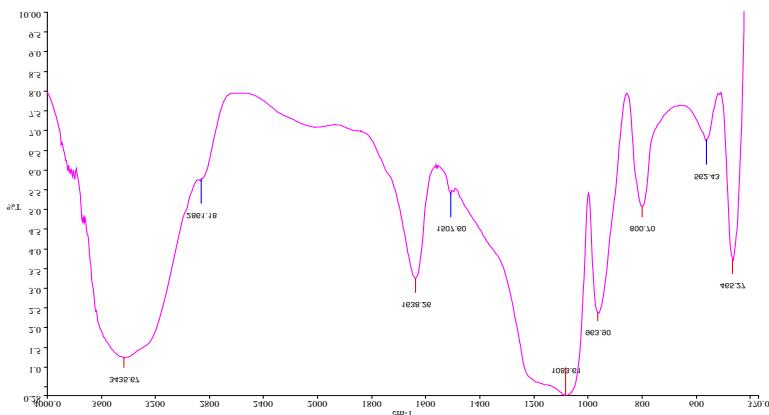
Dalam kajian ini, lakase yang diimobilisasi digunakan untuk menguraikan pewarna hijau malakit dengan gabungan proses penjerapan oleh silika mikropartikel itu sendiri. Imobilisasi lakase dalam silika mikropartikel melalui kaedah perangkap dijalankan melalui dua langkah (asid-bes) secara in-situ (Mansor et al. 2015). TEOS bertindak sebagai bahan permulaan penghasilan etanol serta menyediakan kumpulan organosilan semasa reaksi sintesis. Kumpulan organosilan adalah penting dalam pengubahsuaian pembukaan liang untuk meningkatkan keupayaan produk dalam penjerapan lakase. Penghasilan silika mikropartikel sangat menarik kerana sintesis yang mudah, ketabilan koloid, saiz zarah yang boleh disesuaikan, kemudahan kefungsian permukaan, biokompatibiliti dan potensi sintesis berskala.



RAJAH 1. Imej SEM aerogel laccase dengan pembesaran (a) 20k dan (b) 30k.

Luas permukaan titik tunggal silika dan silika lakase diukur menggunakan Brunauer-emmitt-teller (BET) dengan komposisi gas 30% N<sub>2</sub> dan 70% He. Hasil daripada analisis BET, luas permukaan silika lakase adalah 586.79m<sup>2</sup>/g. Rajah 1 menunjukkan hasil imej mikroskop elektron pengimbas (SEM) mikropartikel lakase dengan pembesaran masing-masing 20,000x dan 30,000x. Morfologi berliang bagi sampel lakase diperhatikan melalui imej SEM. Keliangan ini memberi manfaat untuk mengatasi kekangan pengangkutan jisim oleh lakase yang diimobilisasi (Adamian et al. 2021). Dapat diperhatikan bahawa morfologi lakase yang terperangkap dalam mikropartikel silika didominasi oleh sfera sementara saiz purata zarah sfera dianggarkan sekitar 0.5 hingga 1.0 μm. Diameter zarah yang kecil adalah penting sebagai sokongan dalam imobilisasi enzim. Dengan saiz zarah yang lebih kecil, silika mempunyai nisbah luas permukaan terhadap isipadu yang lebih luas dan kapasiti yang lebih besar untuk memerangkap molekul lakase dalam matriksnya dan meminimumkan kejadian penyingkiran enzim.

Rajah 2 menggambarkan spektrum FTIR silika lakase untuk penentuan kumpulan fungsi. Dari Rajah 2, puncak pada 3435.67 cm<sup>-1</sup> mewakili getaran peregangan ikatan hidroksil (O-H) dalam kumpulan silanol. Penentuan silika mempamerkan puncak yang luas dan tinggi antara 900 dan 1170 cm<sup>-1</sup> disebabkan oleh kewujudan Si-O-Si asimetri dalam, yang mewakili kawasan peregangan dari matriks silika (Yang et al. 2021). Di samping itu, jalur kuat diperhatikan pada 465.27 cm<sup>-1</sup> disebabkan oleh mod getaran lentur Si-O-Si. Peregangan ikatan Si-O dalam kumpulan silanol dikesan pada 963.90 cm<sup>-1</sup>. Kehadiran enzim ditandai dengan kumpulan alkil (-C<sup>n</sup>H<sup>2n+1</sup>) dengan puncak kecil pada 2861.18 cm<sup>-1</sup>. Jalur amida I protein yang disebabkan oleh getaran peregangan C=O pada ikatan peptida enzim muncul sebagai puncak tajam pada 1638.26 cm<sup>-1</sup>. Selain itu, ikatan amida II akibat kombinasi lenturan dalam bidang N-H dan getaran peregangan kumpulan peptida C-N mempamerkan puncak kecil pada 1507.60 cm<sup>-1</sup>. Penentuan spektrum ini telah mengesahkan kehadiran enzim iaitu lakase yang telah diimobilisasi dalam silika mikropartikel Korkmaz et al. 2023)



RAJAH 2. Spektrum FTIR bagi silika lakase.

## NYAHWARNA PEWARNA MENGGUNAKAN SILIKA LAKASE

### KESAN PH

Kesan pH terhadap aktiviti enzim yang diimobilisasi bergantung pada enzim, kaedah imobilisasi, dan pembawa yang digunakan. Seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 3, prestasi nyahwarna tertinggi diperoleh untuk kedua-dua sampel sekitar pH 6-7. Didapati bahawa di luar pH 6, penurunan keupayaan nyahwarna silika mikropartikel dan silika lakase telah diperhatikan. Biasanya, imobilisasi enzim pada pembawa kationik menyebabkan pergeseran pH optimum ke julat pH berasid, manakala pembawa

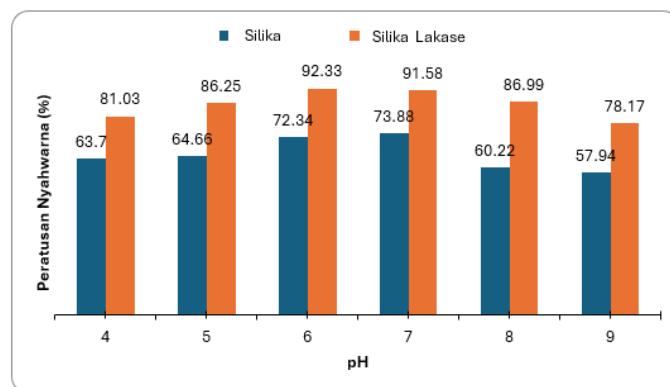
anionik menyebabkan pergeseran ke nilai pH beralkali (Aggarwal et al. 2021).

Secara umum, mikropartikel lakase dan mikropartikel silika mempunyai julat pH yang lebih luas atau sama dalam prestasi nyahwarna. Kadar nyahwarna menurun apabila pH meningkat. Hasil yang diperolehi menunjukkan bahawa pH optimum untuk silika lakase beralih sedikit ke arah kawasan berasid berbanding dengan silika mikropartikel. Apabila lakase diimobilisasi dalam matriks beras, mengakibatkan perubahan dalam persekitaran mikro enzim, pH optimum bagi silika lakase beralih. Matriks beras akan menolak atau menarik substrat, produk, kofaktor, atau ion hidrogen bergantung pada jenis dan kuantiti cas permukaannya. (Schulz et al. 2023). Peralihan pH seperti ini telah dikesan sebelumnya untuk pelbagai

enzim yang diimobilisasi menggunakan pelbagai penyokong (Adamian et al.2021).

Daripada eksperimen yang dijalankan, proses penjerapan oleh silika mikropartikel telah menunjukkan peratusan nyahwarna tertinggi pada pH 7, tetapi pH sedikit

beralih ke pH 6 untuk peratusan nyahwarna tertinggi oleh lakase iaitu 92.33%. Untuk variasi pH, silika lakase telah menunjukkan peningkatan lebih daripada 20% berbanding nyahwarna melalui penjerapan tunggal.

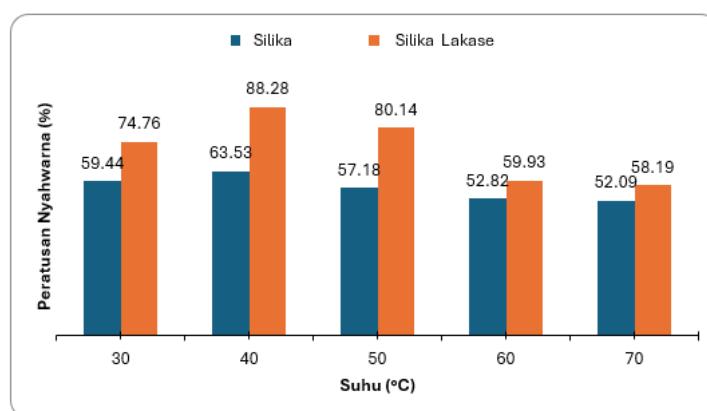


RAJAH 3. Kesan pH terhadap peratusan nyahwarna.

#### KESAN SUHU

Imobilisasi lakase pada matriks penyokong menyumbang kepada peningkatan kestabilan termal dan mampu memperluaskan potensi bioteknologinya. Ketergantungan

suhu terhadap nyahwarna pewarna oleh silika dan silika lakase telah dikaji pada pH 6 dalam julat 30-70°C. Profil aktiviti silika dan silika lakase pada suhu yang berbeza ditunjukkan dalam Rajah 4.



RAJAH 4. Kesan suhu terhadap peratusan nyahwarna.

Suhu optimum untuk kedua-dua sampel didapati pada 40°C. Apabila suhu terus meningkat, penguraian pewarna oleh lakase yang diimobilisasi menjadi menurun. Walau bagaimanapun, proses nyahwarna melalui penjerapan tidak banyak dipengaruhi oleh perubahan suhu. Ini kerana kebiasannya enzim akan terurai melalui proses denaturasi pada suhu tinggi (Yang et al. 2021). Kebanyakan enzim akan terurai apabila menaikkan suhu secukupnya, peratusan nyahwarna bagi silika lakase menurun pada suhu 60°C dan 70°C namun begitu peratusan nyahwarna lebih baik berbanding penjerapan tunggal menggunakan silika.

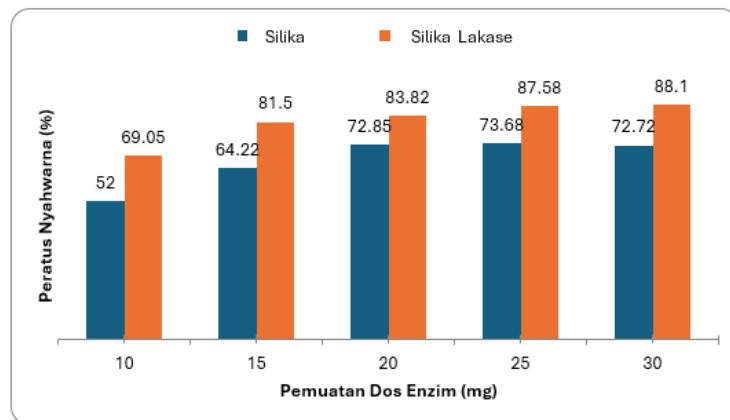
Kebolehan enzim untuk berfungsi pada suhu tinggi adalah menguntungkan kerana kadar resapan yang lebih tinggi, kelikatan substrat yang lebih rendah, peningkatan kelarutan reaktan, dan pengurangan risiko pencemaran mikrob (Aggarwal et al. 2021).

#### KESAN PEMUATAN DOS ENZIM

Kesan pemuatan silika dan silika lakase terhadap penguraian pewarna dikaji dan digambarkan dalam Rajah 5. Diperhatikan bahawa peratusan nyahwarna meningkat

dengan peningkatan pemuatan dos sehingga tahap tepu. Mikropartikel lakase terus menguraikan pewarna dan mencapai muatan optimum pada kira-kira  $30 \times 10^{-3}$  g manakala mikropartikel silika yang menjalani proses penjerapan mencapai muatan optimum pada kira-kira  $20 \times 10^{-3}$  g. Bagi silika lakase, pertambahan pemuatan dos enzim yang terlalu tinggi boleh menyebabkan masalah pengangkutan jisim. Ketepuan di tapak aktif enzim akan mengakibatkan penurunan aktiviti lakase dan merencat

tindakbalas nyahwarna. Aktiviti nyahwarna melalui penjerapan silika mendatar selepas mereka mencapai muatan optimum. Ini disebabkan oleh semua tapak penjerapan telah habis digunakan semasa proses penjerapan. Oleh yang demikian, pemuatan dos bagi silika atau silika lakase harus diberi perhatian agar tidak mencapai tahap tepu yang menyebabkan tindak balas nyahwarna kurang efisien.

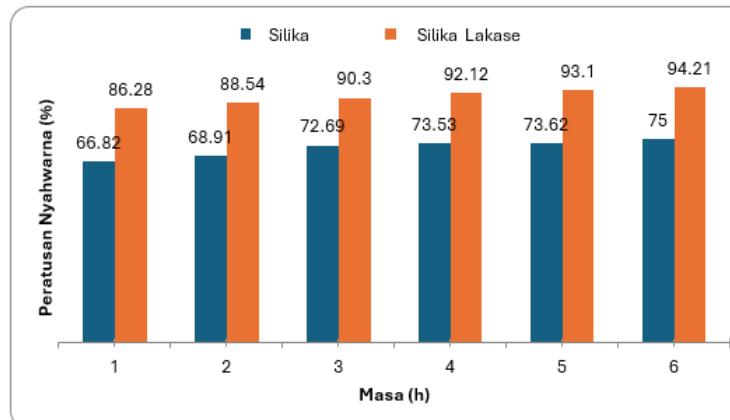


RAJAH 5. Kesan pemuatan dos enzim terhadap peratusan nyahwarna.

#### KESAN MASA REAKSI

Rajah 6 menunjukkan perjalanan masa untuk nyahwarna pewarna hijau malakit menggunakan silika dan silika lakase. Nyahwarna dilakukan secara langsung dalam kuvet spektrofotometer. Daripada pemerhatian sepanjang eksperimen, kadar nyahwarna akan terus meningkat apabila masa meningkat. Peratusan nyahwarna oleh silika lakase didapati memberikan hasil yang lebih baik berbanding

dengan silika yang hanya penjerapan, sebanyak 86.28% nyahwarna oleh silika lakase pada jam pertama. Ini membuktikan bahawa gabungan degradasi enzim menjadikan proses nyahwarna lebih efisien. Namun perlanjutan waktu tindak balas tidak menunjukkan peningkatan nyahwarna yang ketara bagi kedua-dua bahan. Ini kerana tapak penjerapan yang tersedia bagi permukaan silika telah dipenuhi substrat manakala kadar penguraian silika lakase pula menjadi perlahan kerana tapak aktifnya juga tepu dengan substrat.



RAJAH 6. Kesan masa tindak balas terhadap peratusan nyahwarna.

## PARAMETER KINETIK

Kajian kinetik enzim tertumpu pada penilaian parameter kinetik daripada data kelajuan awal. Kinetik boleh diperoleh daripada skim reaksi yang melibatkan pembentukan enzim-substrat dan langkah disosiasi pembentukan produk, [P], berdasarkan persamaan Michaelis-Menten seperti yang dinyatakan di bawah.



$$v = \frac{V_{\max} [\text{S}]}{K_m + [\text{S}]}$$

(2)

Model ini berdasarkan data dari reaktor terkumpul dengan isipadu cecair yang tetap di mana kepekatan substrat awal, [S], dan enzim awal,  $[\text{E}_0]$ , diketahui. dimana  $K_m$  adalah  $(k_1 + k_2)/k_1$  dan  $V_{\max}$  adalah  $k_2 [\text{E}_0]$ . Antara istilah penting dalam kinetik Michaelis-Menten ialah  $V_{\max}$ ,  $K_m$  dan  $K_{\text{cat}}$ .  $V_{\max}$  merupakan kadar maksimum tindak balas, apabila semua tapak aktif enzim tepu dengan substrat manakala  $K_m$  adalah kepekatan substrat di mana kadar tindak balas adalah 50% daripada  $V_{\max}$ .  $K_{\text{cat}}$  ialah pemalar pemangkin, di mana bilangan maksimum molekul substrat yang ditukarkan oleh molekul enzim kepada produk per unit masa pada ketepuan substrat pada enzim (Saganuwan et al. 2021). Jadual 1 di bawah memaparkan parameter kinetik bagi membandingkan tindak balas pen-guraian antara lakase bebas dan lakase yang telah diimobilisasi.

JADUAL 1. Pemalar kinetik untuk nyahwarna hijau malakit oleh penguraian lakase bebas dan silika lakase

Pemalar Kinetik	Lakase Bebas	Silika Lakase
$V_{\max}$ ( $\mu\text{M min}^{-1}$ )	20	38
$K_m$ ( $\mu\text{M}$ )	150	500
$K_{\text{cat}}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	0.06	48.36
$K_{\text{cat}}/K_m$	0.0004	0.0967

Dari parameter yang diperolehi, didapati kadar maksimum tindak balas ( $V_{\max}$ ) bagi silika lakase adalah lebih tinggi berbanding lakase bebas. Lakase yang diimobilisasi mempunyai nilai  $K_m$  tiga kali ganda lebih tinggi daripada lakase bebas.  $K_m$  merupakan ukuran pertalian enzim untuk substratnya, kerana semakin rendah nilai  $K_m$ , semakin cekap enzim itu menjalankan fungsinya pada kepekatan substrat yang lebih rendah (Saganuwan et al. 2021). Nilai  $K_m$  yang tinggi menggambarkan

ketidakceekapan tindakbalas silika lakase dalam substrat berkepekatan tinggi. Ini tejadi keranakekangan pengangkutan jisim dari matriks penyokong imobilisasi yang menyukarkan pergerakan substrat untuk mencapai tapak aktif enzim (Latif et al. 2022).

Namun begitu, silika lakase menunjukkan nilai  $K_{\text{cat}}$  jauh lebih tinggi daripada lakase bebas. Nilai  $K_{\text{cat}}$  ini merupakan merupakan bilangan molekul substrat yang ditukar menjadi produk bagi setiap molekul enzim setiap unit masa apabila enzim tepu dengan substrat. Tingkah laku ini menunjukkan bahawa lakase lebih stabil dalam bentuk yang diimobilisasi dan mampu menguraikan substrat dengan lebih baik daripada lakase dalam bentuk bebas walaupun terdapat kekangan pengangkutan jisim. Selain itu, nilai  $K_{\text{cat}}/K_m$  yang diperoleh oleh mikropartikel lakase (0.0967) adalah dua ratus kali lebih tinggi daripada lakase bebas (0.0004), yang menunjukkan kecekapan katalitik yang sangat baik dan tanpa syarat membuktikan bahawa tapak aktif lakase tidak terjejas oleh imobilisasi.

## KESIMPULAN

Dari segi keseluruhan prestasi nyahwarna, jelas bahawa lakase yang diimobilisasi dengan perangkap dalam silika mikropartikel telah menunjukkan keupayaan untuk menguraikan pewarna hijau malakit green dengan lebih baik dan meningkatkan nyahwarna lebih daripada 90%. Gabungan proses penjerapan dan degradasi enzim memberikan hasil yang lebih baik dalam prestasi nyahwarna pewarna berbanding dengan proses penjerapan tunggal. Silika lakase mempunyai potensi yang tinggi bukan hanya sebagai agen nyahwarna namun aplikasinya juga boleh diperluas untuk penguraian bahan sisa pencemaran air yang lain.

## PENGHARGAAN

Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Universiti Kebangsaan Malaysia atas sokongan kewangan bagi penyelidikan ini melalui Geran Galakan Penyelidik Muda (Kod Geran GGPM-2024-020).

## PENGISYTIHARAN KEPENTINGAN BERSAING

Tiada.

## RUJUKAN

- Abdul Latif, A., Maqbool, A., Sun, K., & Si, Y. 2022. Immobilization of *Trametes versicolor* laccase on Cu-alginate beads for biocatalytic degradation of bisphenol A in water: Optimized immobilization, degradation and toxicity assessment. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 10(1): 107089.
- Adamian, Y., Lonappan, L., Alokpa, K., Agathos, S. N., & Cabana, H. 2021. Recent developments in the immobilization of laccase on carbonaceous supports for environmental applications: A critical review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 9: 778239.
- Aggarwal, S., Chakravarty, A., & Ikram, S. 2021. A comprehensive review on incredible renewable carriers as promising platforms for enzyme immobilization and thereof strategies. *International Journal of Biological Macromolecules* 167: 962-986.
- Fopase, R., Paramasivam, S., Kale, P., & Paramasivan, B. 2020. Strategies, challenges and opportunities of enzyme immobilization on porous silicon for biosensing applications. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 8(5): 104266.
- Islam, A., Teo, S. H., Taufiq-Yap, Y. H., Ng, C. H., Vo, D.-V. N., Ibrahim, M. L., Hasan, M. M., Khan, M. A. R., Nur, A. S. M., & Awual, M. R. 2021. Step towards the sustainable toxic dyes removal and recycling from aqueous solution: A comprehensive review. *Resources, Conservation and Recycling* 175: 105849.
- Jadhav, S. A., Garud, H. B., Patil, A. H., Patil, G. D., Patil, C. R., Dongale, T. D., & Patil, P. S. 2019. Recent advancements in silica nanoparticles-based technologies for removal of dyes from water. *Colloids and Interface Science Communications* 30: 100181.
- Korkmaz, F., Yaman, B. N., Gedikli, S., Çelik, P. A., Demirbilek, M., & Çabuk, A. 2023. Dye decolorization of magnetically retrievable formulation of laccase with amine-functionalized microparticles. *Journal of Microbiological Methods* 211: 106755.
- Li, H., Chen, X., Shen, D., Fan, W., Pleixats, R., & Pan, J. 2021. Functionalized silica nanoparticles: Classification, synthetic approaches and recent advances in adsorption applications. *Nanoscale* 13: 15998-16016.
- Mansor, A.F., Mohidem, N.A., Wan Mohd Zawawi, W.N., Othman, N.S., Endud, S., & Mat, H.B. 2015. Preparation and characterization of in situ entrapment of laccase in silica microparticles via an ambient drying procedure. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* 75: 323-335.
- Saganuan, S. A. 2021. Application of modified Michaelis-Menten equations for determination of enzyme-inducing and inhibiting drugs. *BMC Pharmacology and Toxicology* 22: 57.
- Schulz, F., Hühn, J., Werner, M., Hühn, D., Kvelstad, J., Koert, U., Wutke, N., Klapper, M., Fröba, M., Baulin, V. & Parak, W. J. 2023. Local environments created by the ligand coating of nanoparticles and their implications for sensing and surface reactions. *Accounts of Chemical Research* 56(17): 2278-2285.
- Sharma, J., Sharma, S., & Soni, V. 2023. Toxicity of malachite green on plants and its phytoremediation: A review. *Regional Studies in Marine Science* 62: 102911.
- Singh, D., & Gupta, N. 2020. Microbial laccase: A robust enzyme and its industrial applications. *Biologia* 75: 1183-1193.
- Srivastava, S., Sinha, R., & Roy, D. 2004. Toxicological effects of malachite green. *Aquatic Toxicology* 66(3): 319-329.
- Thakur, S., & Chauhan, M. S. 2018. Treatment of dye wastewater from textile industry by electrocoagulation and Fenton oxidation: A review. In *Water Quality Management*. Vol. 79, edited by V. Singh, S. Yadav, & R. Yadava. Springer, Singapore.
- Yang, B., Tang, K., Wei, S., et al. 2021. Preparation of functionalized mesoporous silica as a novel carrier and immobilization of laccase. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 193: 2547-2566.