

Hasminar Rachman Fidiastuti, Anis Samrotul Lathifah, Mohamad Amin, Yudhi Utomo. (2020). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Indigen Pengurai Lemak pada Limbah Cair Batik Tulungagung. *Journal Bioeksperimen*. Vol. 6 (1) Pp. 29-35. Doi: 10.23917/bioeksperimen.v6i1.2795

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI INDIGEN PENGURAI LEMAK PADA LIMBAH CAIR BATIK TULUNGAGUNG

Hasminar Rachman Fidiastuti¹⁾, Anis Samrotul Lathifah²⁾, Mohamad Amin³⁾, Yudhi Utomo⁴⁾

^{1,2)} Pendidikan Biologi, Fakultas Ilmu Pendidikan, Universitas Tribhuwana Tungadewi,

³⁾ Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang,

⁴⁾ Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang

E-mail korespondensi: indo.hasminar@gmail.com

Paper submit : 12 Juni 2019, Paper publish : Maret 2020

Abstract – *The native bacteria have a wide life habitat and have an important role as agents in the bioremediation process of waste. Batik as one of the products of Indonesian character, has become a contributor of liquid waste that can reduce water quality. Besides being rich in dyes, batik waste is also rich in fat content. The fat content in batik waste comes from the processing (coating the fabric with a layer of wax) and washing is done repeatedly. Fat has properties that are not soluble in water and is an organic material, which if high concentrations can reduce water quality. This study aims to isolate, identify, and measure the ability of indigenous bacteria to reduce fat content in liquid waste in vitro. The method used is experimental research. Isolation and culture using Busnall Hass media enriched with 1% olive oil, then proceed with a series of biochemical tests for the purpose of characterizing indigenous bacterial isolates. The results showed that Bacillus subtilis and Pseudomonas fluorescens have the potential to reduce the fat content of batik liquid waste.*

Keywords: batik, bioremediation, indigenous bacteria

Pendahuluan

Batik merupakan warisan budaya milik Indonesia yang telah mendapat pengakuan dari UNESCO sejak 2 Oktober 2009. Berdasarkan data Kementerian Koordinator Bidang Kesejahteraan Rakyat pada tahun 2018, industri batik telah tersebar di 20 provinsi di Indonesia. Setiap daerah memiliki karakter batik yang khas dan unik. Salah satu sentra produsen batik di Jawa Timur adalah kota Tulungagung. Kementerian Perindustrian Republik Indonesia mencatat terdapat 2 sentra pabrik industri batik di Tulungagung yang berlokasi di kecamatan kauman.

Salah satu kebijakan Bupati Tulungagung adalah untuk memajukan industri batik, sehingga secara umum produksi batik di kecamatan kauman makin meningkat. Namun peningkatan industri batik menjadi

penyumbang persoalan tersendiri, terutama berkaitan dengan pembuangan limbah ke badan air sekitar. Industri tekstil merupakan industri yang memiliki kedudukan penting di Asia dan menunjukkan peningkatan yang signifikan dalam hal penggunaan bahan pewarna sintetik yang kompleks dan dilepaskan ke badan air sekitar, melalui proses pencucian (Shah, 2018). Lebih lanjut, proses pencelupan, *desizing*, dan penggosokan merupakan sumber utama pencemaran air yang ditandai dengan warna yang terlihat pada limbah, tingginya kebutuhan oksigen secara kimiawi, konsentrasi padatan tersuspensi, serta perubahan pH.

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan yang telah dilakukan sebelumnya dan bertujuan untuk melakukan uji karakteristik terhadap limbah cair batik Tulungagung, diperoleh hasil bahwa kadar BOD menunjukkan 376,633 mg/L, COD sebesar 568 mg/L, DO sebesar

2,374 mg/L, TSS sebesar 1180 mg/L, pH 5,8; dan kadar lemak sebesar 2,240 % (Hasminar, 2018). Karakteristik limbah berada di atas nilai ambang baku ketentuan limbah tekstil, sehingga diperlukan pengolahan lebih lanjut sebelum dibuang.

Pada penelitian ini, kadar lemak menjadi proporsi yang diutamakan. Kandungan lemak dalam limbah batik dapat berasal dari proses pemalaman atau pelapisan lilin. Lapisan lilin berfungsi untuk menutupi bagian batik yang tidak mengalami proses pewarnaan. Lapisan lilin ini akan dihilangkan setelah proses pencelupan warna. Proses ini tidak hanya berlangsung sekali tetapi bahkan berulang kali.

Lilin batik terbuat dari minyak kelapa, getah pinus, getah meranti, parafin, dan lemak hewan yang biasa disebut “kendal”, yang semuanya mengandung lipid. Seperti diketahui bahwa lipid yang ada sulit untuk larut secara khas dalam air. Lipid hadir juga memiliki kemampuan untuk menghambat proses metanogenik (Hatamoto et al, 2007). Kadar maksimum minyak dan lemak dalam sungai adalah 1 mg/L. Minyak mengandung senyawa volatil yang tidak mudah menguap dan sisa minyak yang tidak dapat menguap. Sifat minyak juga tidak dapat larut dalam air sehingga dapat mempengaruhi konsentrasi oksigen terlarut dalam air, karena fiksasi oksigen bebas terhambat. Kondisi ini akan berakibat pada ketidakseimbangan rantai makanan dalam biota perairan.

Limbah dalam kapasitas terbatas akan dapat dikelola oleh lingkungan, namun dalam jumlah yang besar, lingkungan tidak lagi seimbang, sehingga dibutuhkan tehnik pengolahan khusus. Pengolahan khusus menjadi sangat penting sebelum melepaskan air limbah air ke badan air (Moller et al., 2000). Salah satu metode dalam pengolahan limbah secara biologis adalah memanfaatkan potensi bakteri indigen. Keuntungan dari metode biologis adalah ramah lingkungan dan biaya rendah (Pandey et al., 2007). Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi kandidat bakteri indigen yang potensial dalam menurunkan kadar lemak.

METODE PENELITIAN

Pelaksanaan penelitian dilakukan dengan mengambil sampel berupa limbah batik dalam bentuk cairan yang mengandung padatan tersuspensi. Pengambilan sampel dilakukan pada bulan Maret, dengan lokasi pengambilan sampel adalah tempat pembuangan akhir limbah di pabrik Barong Gung, kecamatan Kauman, Tulungagung. Sampel diambil pada saat musim kemarau, sehingga dianggap tidak mewakili kondisi limbah secara keseluruhan. Hasil penelitian ini merupakan kondisi yang terjadi saat musim kemarau.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Malang. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen yang hasilnya disajikan secara deskriptif. Penelitian dilakukan untuk mengidentifikasi isolat bakteri indigen yang berpotensi dalam mendegradasi kadar lemak dalam limbah pabrik batik Tulungagung.

1. Metode dan Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April sampai Oktober 2019. Seluruh analisis pengukuran parameter dalam penelitian ini dilakukan di Laboratorium Jasa Tirta I yang telah terakreditasi Komite Akreditasi Nasional (KAN). Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimen yang dilakukan secara *in vitro* dengan desain rancangan acak lengkap. Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu isolat bakteri indigen dan variabel terikat yaitu kemampuan bakteri dalam mendegradasi kadar lemak dalam limbah. Tahapan penelitian meliputi 1) Pengambilan sampel yang dilakukan secara acak pada lokasi akhir pembuangan limbah. Limbah cair dibawa dalam wadah yang sudah disterilkan dan disimpan dalam kotak berisi es untuk mempertahankan kondisi dan karakteristik asli ke laboratorium, 2) Tahap sterilisasi alat dan medium yang digunakan: medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium Busnall Hass yang diperkaya dengan olive oil 1% yang bertujuan untuk

mendapatkan karakter bakteri pendegradasi lemak pada limbah. Medium lain yang digunakan adalah medium NA cair. 3) Tahap propagasi bakteri indigen yang bertujuan untuk mengkarakterisasi bakteri indigen menggunakan medium yang spesifik. Sebanyak 10% limbah cair ditambahkan pada pada 1000 ml medium BH, kemudian diletakkan dalam shaker 150 rpm selama 6 hari pada suhu 30°C. 4) Tahap pengenceran yang bertujuan untuk memperkecil konsentrasi larutan, sehingga koloni yang terbentuk tidak terlalu rapat. Hal ini akan memudahkan saat pengamatan berlangsung. Pengenceran dilakukan sampai pada tingkat pengenceran 10^{-14} , sampai didapatkan koloni bakteri. Koloni bakteri yang didapatkan pada tahap ini merupakan bakteri dengan karakter mampu mendegradasi lemak 5) Tahap inokulasi limbah cair pada medium, yaitu penambahan koloni bakteri pendegradasi lemak yang telah berhasil diisolasi. 6) Tahap pengukuran aktivitas biodegradasi oleh isolat bakteri, yaitu dengan mengukur konsentrasi lemak pada limbah (24 h, 48 h, 72 h, 96 h, 120 h) sekaligus penentuan 3 bakteri indigen yang berpotensi memiliki kemampuan mendegradasi paling tinggi.

2. Teknik Pengumpulan Data

Pengukuran kadar lemak menggunakan metode *Direct Acid Hydrolysis*. Selain kadar lemak, terdapat beberapa parameter fisik yang diukur sebagai bagian dari keberhasilan biodegradasi, yaitu kadar BOD yang diukur dengan menggunakan metode 5th day incubation, kadar COD diukur menggunakan metode analisis *Dichromate Oxidation*, dan kadar DO diukur dengan menggunakan metode analisis Winkler.

Hasil dan Pembahasan

Dari penelitian ini didapatkan 5 isolat bakteri, kelima isolat ini diujikan ke dalam limbah, selanjutnya dipilih 3 jenis isolat yang memiliki potensi tertinggi dalam penurunan kadar lemak pada limbah batik, yang diberi label isolat A, isolat B, dan isolat C. Hasil isolasi dan karakterisasi bakteri potensial yang ditemukan menunjukkan hasil sebagai berikut.

1. Hasil Pengamatan Morfologi Bakteri Pendegradasi Lemak

Hasil pengamatan morfologi 3 isolat bakteri pendegradasi lemak yang potensial dalam limbah batik (Tabel 1).

Tabel 1. Morfologi Bakteri

Ciri Morfologi	Isolat		
	A	B	C
Warna Koloni	Putih keruh	Putih keruh	Jernih transparan
Bentuk Koloni	Bulat	Tak teratur	Bulat
Tepi Koloni	Kasar	Bergelombang	Halus
Elevasi Koloni	Datar	Berbukit-bukit	Konvex
Mengkilat/Suram	Suram	Suram	Mengkilat
Diameter Koloni	0,5-1 mm	2 mm	0,5-1 mm
Kepekatan Koloni	Pekat	Pekat	Kurang pekat
Tipe Pertumbuhan Koloni pada Agar	Menyebar	Menyebar	Lokalisir
Gram	Positif	Negatif	Negatif
Bentuk Sel	Basil	Basil	Basil oral
Penataan	Mono	Mono	Mono
Ukuran Sel	$\pm 4 \mu$	$\pm 3 \mu$	$\pm 3 \mu$

Selanjutnya dilakukan uji biokimia pada ketiga isolat bakteri, yang bertujuan untuk mengetahui karakter fisiologis bakteri.

2. Hasil Uji Biokimia

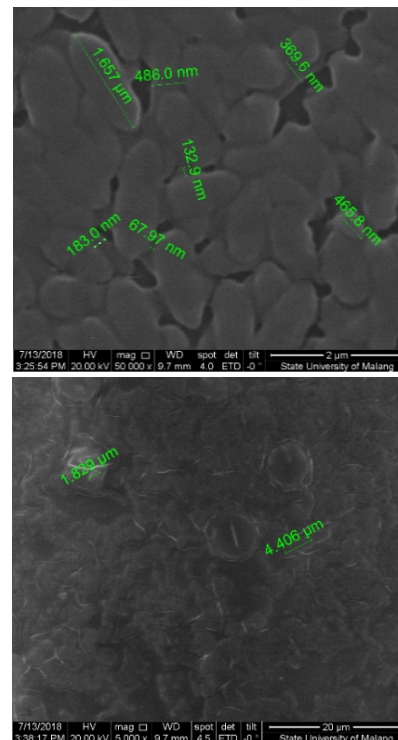
Uji biokimia menggunakan *Microbact™ GNB12A/B/E, 24E Identification Kits* yang meliputi uji reaksi lisin dekarboksilase, ornitin dekarboksilase, produksi H₂S, fermentasi glukosa, manitol, xilosa, β-galaktosidase (ONPG), produksi indol, hidrolisis urease, reaksi Voges-Proskauer (VP), penggunaan sitrat, triptofan deaminase (TDA), pencairan gelatin, penghambatan malonat, fermentasi inositol, sorbitol, rhamnosa, sukrosa, laktosa, arabinosa, adonitol, rafinosa, salisin dan dihidroksilase arginine (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil Uji Biokimia

Uji Biokimia	Hasil Uji		
	A	B	C
Spora	+	-	-
Oksidase	+	+	+
Motilitas	-	+	+
Nitrat	+	+	+
Lysin	-	+	+
Ornithin	-	+	+
H ₂ S	-	-	-
Glukosa	+	-	-
Manitol	+	-	-
Xylosa	+	+	+
ONPG	+	+	+
Indole	-	-	-
Urease	-	-	-
V-P	+	-	-
Sitrat	-	+	+
TDA	-	-	-
Gelatin	-	+	+
Malonat	-	-	-
Inositol	-	-	-
Rhamnosa	-	-	-
Sukrosa	-	-	-
Laktosa	-	-	-
Arabinosa	+	-	-
Adonitol	-	-	-

Raffinosa	-	-	-
Salicin	-	-	-
Arginin	-	+	+
Katalase	+	-	-
Koagulase	-	-	-
Hemolisa	beta	beta	beta
Uji sensitive Novobiosin	Tdk	Tdk	Tdk
Starch hydrolysis	+	Tdk-	Tdk
Casein hydrolysis	+	Tdk	Tdk
Spesies	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>

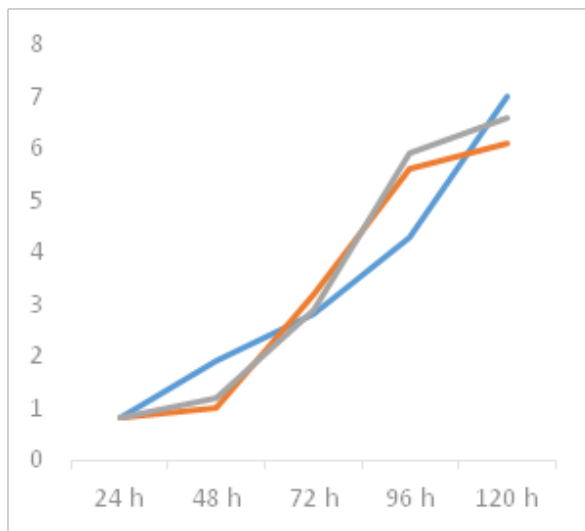
Berdasarkan hasil pengujian secara biokimia didapatkan jika spesies *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens* memiliki potensi untuk mendegradasi lemak dalam sampel limbah. **Gambar 1** adalah hasil Scanning *Electron Microscope* yang telah dilakukan pada isolat *Bacillus subtilis* (**Gambar 1a**) dan *Pseudomonas fluorescens* (**Gambar 1b**).



Gambar 1a. *Bacillus subtilis*; **b.** *Pseudomonas fluorescens*

3. Hasil Pengukuran Parameter Fisik Limbah oleh Isolat yang Berpotensi

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah penurunan kadar lemak, BOD, COD dan kenaikan DO dalam limbah. Kenaikan kadar DO (*Dissolved Oxygen*) atau oksigen yang terlarut tampak pada **Gambar 2**.

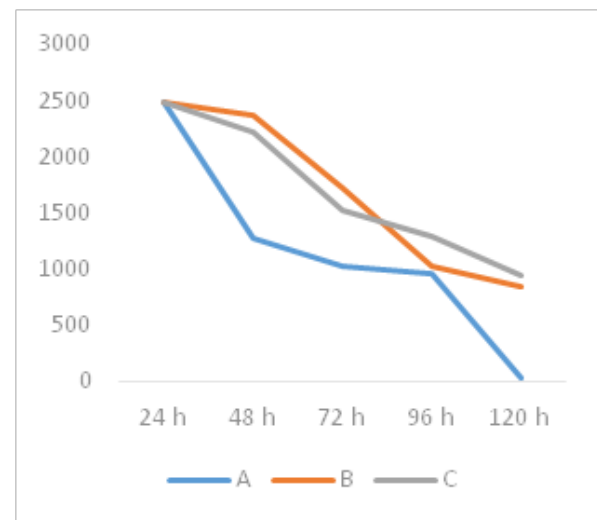


Gambar 2. Kenaikan Kadar DO oleh Ketiga Isolat Bakteri (dalam satuan mg/L)

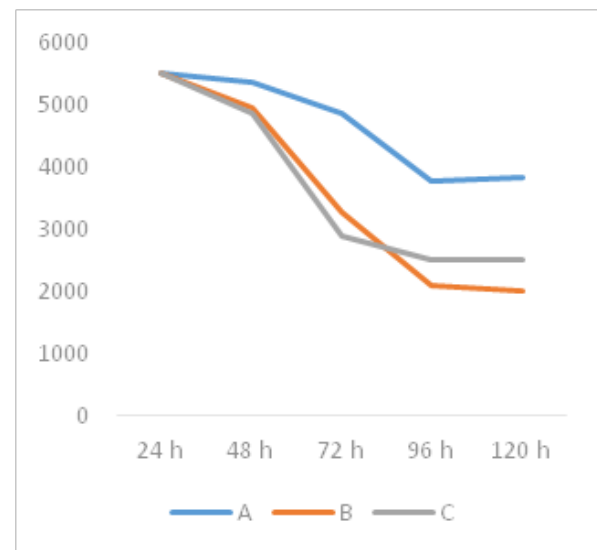
Secara umum, ketiga isolat memiliki kemampuan dalam menaikkan kadar oksigen pada limbah setelah 48 jam masa inkubasi. *B. subtilis* memiliki kemampuan yang lebih tinggi dalam menaikkan kadar oksigen terlarut pada limbah. Kadar oksigen terlarut akan tercatat rendah saat oksigen banyak digunakan guna keperluan perombakan materi organik oleh mikroorganisme secara alami. Kondisi ini disebut sebagai delesi oksigen dalam badan air. Penurunan kadar oksigen akan berdampak pada kelangsungan biota lain dalam perairan.

Penurunan BOD dan COD pada limbah terjadi setelah penambahan isolat bakteri (Gambar 3); (Gambar 4). Kadar BOD dan COD yang tinggi dalam sampel limbah disebabkan oleh adanya kelimpahan substrat organik. BOD merupakan parameter fisik air yang digunakan untuk mengukur aktivitas mikroba dalam pemakaian kadar oksigen terlarut. Oksigen dibutuhkan dalam proses perombakan materi organik secara alami. Sedangkan kadar COD merupakan jumlah kadar oksigen kimiawi yang

dibutuhkan mikroorganisme untuk melakukan oksidasi pada materi organik dalam limbah.



Gambar 3. Penurunan Kadar BOD oleh Ketiga Isolat Bakteri (dalam satuan mg/L)



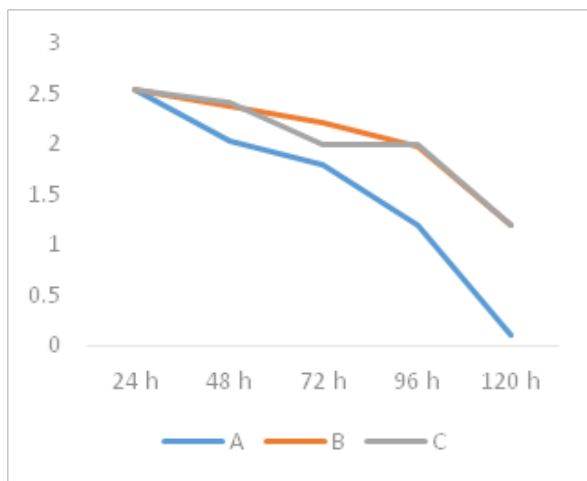
Gambar 4. Penurunan Kadar COD oleh Ketiga Isolat Bakteri (dalam satuan mg/L)

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan hasil jika *B. subtilis* memiliki kemampuan yang lebih baik dalam aktivitas menurunkan kadar BOD, dibanding kemampuan *P. fluorescens*. Kondisi penurunan BOD tampak berjalan optimal pada 48 jam sampai 120 jam setelah inkubasi. Setelah 120 jam, kondisi aktivitas penurunan BOD tidak lagi terjadi.

Aktivitas penurunan kadar COD oleh *P. fluorescens* tercatat lebih signifikan terjadi dibanding *B. subtilis*. Kondisi penurunan kadar

COD secara optimal terjadi setelah 48 jam sampai 96 jam masa inkubasi. Secara in vitro, kondisi penurunan COD dan BOD telah tercatat berlangsung secara signifikan, walaupun hasilnya masih dalam kondisi belum memenuhi baku mutu air untuk industri tekstil. Namun, kadar oksigen terlarut mengalami kenaikan yang signifikan sebagai parameter dalam perubahan kondisi air yang lebih baik.

Kadar lemak dalam limbah, juga terurai dan tercatat mengalami penurunan (Gambar 5). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kemampuan *B. subtilis* lebih baik dalam penurunan kadar lemak secara in vitro jika dibanding *P. fluorescens*. Penurunan kadar lemak secara signifikan tercatat optimal pada 72 jam sampai 120 jam setelah masa inkubasi. Aktivitas penurunan kadar lemak juga telah memperbaiki kondisi limbah, sehingga telah memenuhi baku mutu badan air limbah untuk industri tekstil.



Gambar 5. Penurunan Kadar Lemak oleh Ketiga Isolat Bakteri (dalam satuan %)

Pembuangan limbah secara langsung ke badan air tanpa pengolahan secara lanjut akan menyebabkan polusi pada lingkungan dan bersifat *toxic* bagi organisme yang hidup di lingkungan perairan (Dewi et al. 2018). Polusi pada air tanah dan badan air biasanya disebabkan oleh proses industrialisasi serta urbanisasi yang semakin berkembang, ditambah tidak memperhatikan efek sampingnya terhadap konsekuensi lingkungan (Sundar et al, 2010). Industri batik di negara Indonesia

semakin berkembang, seiring dengan kebijakan pemerintah dalam melestarikan warisan budaya. Hal ini menjadikan perlunya usaha untuk mengatasi limbah buangan dengan metode yang tidak banyak memberikan efek samping. Bioremediasi yang dilakukan oleh agen mikrobiologi memiliki keunggulan biaya operasional yang lebih murah serta hasil yang efektif, serta metode *eco-friendly* bagi penanganan limbah dan air buangan.

Karakteristik limbah sangat ditentukan oleh jumlah produksi batik pada kurun waktu tertentu. Semakin tinggi produksi batik, maka limbah dapat menurunkan parameter fisik air secara signifikan. Sistem pengolahan limbah pabrik yang langsung membuang ke badan air sekitar dapat menyebabkan kondisi penurunan kualitas pada badan air. Dalam penelitian ini, didapatkan bahwa spesies *B. subtilis* dan *P. fluorescens* memiliki potensi dalam memperbaiki kondisi limbah secara in vitro. *B. subtilis* dan *P. fluorescens* memiliki kemampuan dalam menurunkan kadar lemak, kadar BOD dan COD, serta menaikkan oksigen terlarut (DO) dalam air limbah.

Komposisi lemak dalam air limbah diketahui berasal dari proses pemalaman (pelapisan lilin atau malam) selama aktivitas pewarnaan pada kain berlangsung. Kandungan senyawa lemak yang tinggi dapat menjadi penghambat aktivitas mikroba secara alami dalam sistem perairan, sehingga diperlukan penanganan yang spesifik. Kelompok *Bacillus* dilaporkan juga memiliki kemampuan yang baik dalam proses penurunan kadar warna dalam limbah (Zissi et al, 1997). Hal ini akan menjadi lebih baik, karena karakteristik utama dalam limbah batik adalah tingginya komposisi bahan pewarna dalam limbah.

B. subtilis memiliki kemampuan yang optimal dalam penurunan kadar lemak pada air limbah. Serupa dengan studi yang dilaporkan Bayaomi et al (2014) yang menyatakan golongan *Pseudomonas* dan *B. subtilis* (Buthelezi et al, 2012) yang menjadi komponen utama dalam isolat bakteri lokal yang diisolasi dari limbah industri tekstil.

Simpulan

Bakteri indigen menjanjikan perbaikan yang cukup signifikan secara *in vitro*. *B. subtilis* dan *P. fluorescens* memiliki potensi yang menjanjikan dalam memperbaiki kondisi limbah batik Tulungagung.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan pada

KEMENRISTEKDIKTI yang telah memberikan bantuan pendanaan melalui skim PKPT (Penelitian Kerjasama Antar Perguruan Tinggi) tahun pendanaan 2018 dan 2019 dengan Nomor Kontrak Penelitian Nomor 31/TB-LPPM/TU-220/III/2019; Universitas Negeri Malang sebagai instansi mitra dalam penelitian kerjasama; Universitas Muhammadiyah Malang; dan Laboratorium Air Jasa Tirta I.

Daftar Pustaka

- Bayaomi MN, Al-Wasify RS, Hamed SR. 2014. Bioremediation of textile wastewater dyes using local bacterial isolates. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 3: 962-970.
- Buthlezi, S.P., Olaniran, A.O., Pillay, B. 2012. Textile dye removal from wastewater effluents using bio flocculants produced by indigenous bacterial isolates. *Molecules* 17:14260-14274
- Dewi RS, Rina SK, Erni M, Yekti AP. 2018. Decolorization and detoxification of batik dye effluent containing indigosol blue-04B using fungi isolated from contaminated dye effluent. *Indones J Biotechnol* 23 (2): 54-6.
- Hasminar RF, Anis SL. 2018. Uji Karakteristik Limbah Cair Industri Batik Tulungagung: Penelitian Pendahuluan. Proceeding dalam Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Saintek III: Isu-Isu Strategis Sains, Lingkungan, dan Inovasi Pembelajarannya. Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta, 5 Mei 2018.
- Hatamoto, M., Imachi, H., Yashiro, Y., Ohashi, A., and Harada, H. 2007. Diversity of anaerobic microorganisms involved in long-chain fatty acid degradation in methanogenic sludges as revealed by RNA-based stable isotope probing. *Appl. And Environ Microbiology* 71: 4119-4127.
- Moller P, Wallin H. 2000. Genotoxic hazards of azo pigments and other colorants related to 1-phenylazo-2-hydroxynaphthalene. *Mutation Research* 462: 13-30.
- Pandey A, Singh P, Iyengar L. 2007. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *International Biodeterioration & Biodegradation* 59: 73-84.
- Shah, MP. 2018. Bioremediation-Waste Water Treatment. *J. Bioremediat Biodregad.* 9: 427.
- Sundar K, Vidya R, Mukherjee A & Chandrasekaran N. 2010. High chromium tolerant bacterial strains from palar river basin: impact of tannery pollution. *J Environ Earth Sci*, 2: 526-530
- Zissi U, Lyberatos G, Paylous. 1997. Biodegradation of aminobenzene by *Bacillus subtilis* under aerobic conditions. *Journal of industrial microbiolog and biotechnoogy* 19: 49-55.