

PENGARUH VARIASI pH TERHADAP KEMAMPUAN BAKTERI DALAM DEKOLORISASI LIMBAH CAIR GULA RAFINASI

THE EFFECT OF PH VARIATION ON DECOLORIZATION ABILITY OF BACTERIA ON REFINED SUGAR WASTE WATER

Lailatus Sa'diyah*, Kinanti Ayu Puji Lestari

Program Studi DIII Farmasi, Akademi Farmasi Surabaya, Jawa Timur, Indonesia

*Email: lailatuss@akfarsurabaya.ac.id

Diterima: 25 Januari 2019. Disetujui: 29 Februari 2019. Dipublikasikan: 31 Maret 2019

Abstrak: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri indigenus dalam mendekolorisasi limbah cair gula rafinasi dalam berbagai pH. Penelitian ini merupakan penelitian experimental dengan rancangan acak lengkap dengan 3 kali pengulangan. Data yang diperoleh dari penelitian ini berupa: 1) jumlah bakteri indigenus pendekolorisasi limbah; 2) pengukuran nilai dekolorisasi; 3) nilai Log TPC; 4) identifikasi tiga bakteri dengan nilai dekolorisasi tertinggi. Hasil isolasi dan uji dekolorisasi menunjukkan bahwa terdapat sembilan bakteri indigenus yang mampu mendekolorisasi zat warna melanoidin. Sembilan bakteri indigenus tersebut yang memiliki kemampuan dekolorisasi terbaik secara berturut-turut yaitu DC2, DC4 dan DC1 dengan nilai dekolorisasi masing yaitu, $29,59 \pm 0,061$, $23,68 \pm 0,055$, dan $22,85 \pm 0,038$. Adapun nilai Log TPC berkisar antara 9,2 – 4,5. Sedangkan pH terbaik untuk dekolorisasi ketiga bakteri tersebut adalah 11. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa ketiga bakteri terbaik tersebut adalah *Bacillus sp* dan *Pseudomona diminuta*. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa untuk menguraikan melanoidin atau dekolorisasi limbah cair gula rafinasi dapat menggunakan bakteri indigenus yg bias diisolasi dari limbah itu sendiri.

Kata Kunci: Biodegradasi, Dekolorisasi, Melanoidin, Gula rafinasi, *Bacillus sp*, dan *Pseudomonas diminuta*

Abstract: This aim of this study is to know indigenous bacteria ability and it's in decoloring refined sugar waste water on various pH level. This research is experimental study with three replications. Data obtained from this study were: 1) The number of potential indigenous bacteria in decoloring waste water isolated from the waste water; 2) the measurement of decolorization absorbance; 3) the number of Log TPC; 4) Bacterial Identification of three highest decoloring ability. The study showed that there are nine potential bacteria in decoloring refined sugar waste water. The three highest decoloring bacteria are DC2, DC4, and DC1 with decoloring result simultaneously are $29,59 \pm 0,061$, $23,68 \pm 0,055$, dan $22,85 \pm 0,038$. The Log TPC number resulted are between 9.2 to 4.5. The three decoloring bacteria above were best decolorized the refined sugar waste on pH level eleven. While the three decoloring bacteria identified as *Pseudomonas diminuta* (DC1) and *Bacillus sp* (DC2 and DC4). In conclusion, indigenous bacteria can be used to degraded melanoidin on refined sugar waste water.

Keywords: Biodegradation, decolorization, melanoidin, refined sugar, *Bacillus sp*, and *Pseudomonas diminuta*

PENDAHULUAN

Limbah gula rafinasi adalah limbah berwarna coklat gelap yang berasal dari pembuangan pabrik gula rafinasi yang pada umumnya memiliki bau tidak sedap, pH rendah, salinitas tinggi, kadar COD dan BOD tinggi pula. Warna coklat gelap pada limbah disebabkan oleh polimer warna yang disebut melanoidin [1]. Struktur warna limbah tersebut dapat mengganggu keseimbangan lingkungan jika dibuang di lingkungan sekitarnya [1] pembuangan limbah mengandung melanoidin ke lingkungan akan berdampak buruk bagi lingkungan yaitu dapat mengurangi penetrasi sinar matahari ke sungai, danau atau pesisir pantai dan menurunkan aktivitas fotosintesis dan oksigen terlarut yang kemudian dapat membahayakan kehidupan air. Limbah yang mengandung melanoidin merupakan sumber utama polusi air dan tanah karena tidak larut dalam air dan resisten terhadap mikroba, sehingga proses biologi

konvensional seperti perlakuan pemberian *sludge* tidaklah cukup [4]. Oleh karena itu, limbah cair industri pabrik gula rafinasi ini memerlukan perlakuan awal sebelum dibuang ke lingkungan [6,8]

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengolah limbah adalah biodegradasi. Secara umum biodegradasi atau penguraian bahan (senyawa) organik oleh mikroorganisme dapat terjadi bila terjadi transformasi struktur sehingga terjadi perubahan integritas molekuler [5]. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan bakteri indigenus yang memiliki potensi dalam mendekolorisasi limbah gula rafinasi dalam berbagai kondisi pH.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi UNAIR pada tahun 2015-2016. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap

(RAL) pola faktorial 3x3 dengan diulang tiga kali. Faktor pertama adalah pH (9, 11, dan 13) dan faktor kedua adalah Log TPC. Variabel yang diamati adalah penurunan warna limbah (dekolorisasi). Nilai penurunan dekolorisasi kemudian diuji statistika ANOVA *One way*. Adapun tahapan penelitian ini adalah:

1. Isolasi bakteri indigenus

Limbah cair gula rafinasi diambil sebanyak 1 mL kemudian di encerkan ke dalam 9 mL larutan fisiologis steril sebagai pengenceran 10^{-1} . Pengenceran dilakukan hingga pengenceran 10^{-5} . Kemudian, sebanyak 1 mL dari masing-masing tiga pengenceran terakhir dimasukkan ke dalam cawan petri lalu media NA dituang secukupnya ke dalam cawan petri. Proses pengenceran dan pembiakan bakteri dilakukan secara aseptis. Biakan bakteri diinkubasi selama 24 jam.

2. Skrining bakteri pendekolorisasi

Bakteri yang telah diisolasi dan dimurnikan diuji kemampuan dalam mendekolorisasi limbah gula rafinasi dengan cara sebanyak satu hingga dua ose biakan diambil dan dimasukkan ke dalam 20 mL media NB secara aseptis lalu inkubasi selama semalam hingga mencapai OD 1. Sebanyak 10% (5mL) biakan dimasukkan kedalam 45 mL limbah. Lalu diinkubasi selama 24 jam dalam suhu ruangan. Hal yang sama dilakukan pada limbah yang dikondisikan menjadi pH 11 dan 9.

3. Tahap perlakuan variasi pH

Sebanyak 240 mL limbah dibagi menjadi 3 (menjadi 80 mL) dan dikondisikan pHnya menjadi pH 9, 11, dan pH asli limbah (13). Persiapan limbah dilakukan secara aseptis. 80 mL limbah dengan variasi pH dibagi dan dimasukkan ke dalam empat botol untuk empat bakteri terpilih. Sebanyak 10% masing-masing inokulum bakteri terpilih dari media NB dimasukkan ke dalam botol yang telah berisi limbah dengan pH yang bervariasi. Perlakuan tiap bakteri dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Inkubasi limbah dalam suhu 30°C selama 48 jam

4. Absorpsi UV-Vis

Absorpsi UV-Vis diukur dengan menggunakan spektrofotometer (Shimadzu UV-160) pada kisaran panjang gelombang 400-480 nm.

5. Tahap Identifikasi Bakteri

Empat bakteri terpilih yang murni diamati morfologi makroskopis koloni, mikroskopis sel, gram negatif atau positif, dan diuji oksidase menggunakan oksidase strip dan peroksidase, kemudian diuji menggunakan *Microbact*

Identification Kits (*Microbact*TM GNB 12A dan 12B). Identifikasi bakteri dilakukan menggunakan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* [2].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil isolasi dan skrining bakteri indigenus pada limbah cair pabrik gula rafinasi di Cilegon Jawa Barat, didapatkan sembilan jenis bakteri yang mampu mendekolorisasi warna limbah. Kesembilan bakteri tersebut adalah dc1, dc2, dc3, dc4, dc5, dc6, dc7, dc8 dan dc9. Kemampuan dekolorisasi bakteri dalam keadaan normal limbah (pH 13) dan suhu 30°C ditunjukkan pada persen dekolorisasi kesembilan bakteri dan angka *Total Plate Count* pada (table 1). Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian yang menyatakan bahwa limbah gula rafinasi mengandung bakteri indigenus yang berperan dalam dekolorisasi limbah cair gula rafinasi [10]

Tabel 1. Persentase dekolorisasi hasil skrining bakteri dan nilai Log TPC.

Bakteri	% dekolorisasi	log cfu/mL
DC1	15,94±0,041	4,50
DC2	6,34±0,021	4,08
DC3	14,60±0,051	4,32
DC4	15,94±0,059	4,47
DC5	7,04±0,050	4,23
DC6	3,97±0,028	3,98
DC7	6,73±0,048	4,33
DC8	2,30±0,027	3,92
DC9	7,40±0,022	4,29

Tabel 2. Persentase dekolorisasi pada pH 11 dan 9

Bakteri	% Dekolorisasi	
	pH 9	pH 11
DC1	3,22±0,017	22,85±0,038
DC2	5,64±0,025	29,59±0,061
DC3	4,23±0,010	22,30±0,064
DC4	3,56±0,056	23,68±0,055
DC5	0,43±0,004	29±0,18
DC6	3,34±0,039	15,47±0,045
DC7	2,35±0,020	14,74±0,026
DC8	1,10±0,028	9,54±0,040
DC9	5,74±0,012	8,53±0,067

Berdasarkan (tabel 2), sembilan bakteri yang didapatkan memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam mendekolorisasi. Kemampuan berbeda, beda bakteri dalam dekolorisasi dipengaruhi oleh banyak faktor, seperti pH, suhu, lama inkubasi, dan sumber karbon dan nitrogen. Faktor-faktor yang mempengaruhi dekolorisasi sangat berperan penting dalam aktivitas enzimatik bakteri dalam menguraikan senyawa limbah hingga terjadi penurunan warna.

Jika dilihat dalam tabel, bakteri dc2 memiliki kemampuan tertinggi dalam dekolonisasi yaitu 29,59% pada pH 11. Diikuti oleh bakteri dc4 dengan kemampuan dekolonisasi hingga 23,68% dalam pH 11 pula. Pada nilai TPC yang didapatkan juga menunjukkan nilai tertinggi pertumbuhan bakteri yaitu pada bakteri DC4 yaitu sebesar 4,47 cfu/ml kemudian dc2 yaitu 4,02. Nilai dekolonisasi dan pertumbuhan bakteri yang selaras dan sama besarnya meyakinkan akan kemampuan bakteri indigenus tersebut dalam mendekolorisasi limbah cair gula rafinasi. Kemampuan bakteri tumbuh dan mampu mendekolorisasi pada pH 11 menunjukkan bahwa bakteri tersebut spesifik optimum dalam mendekolorisasi pada pH 11 dan tumbuh baik pada pH 11 pula.

Tabel 3. Nilai Log TPC bakteri pendekolorisasi limbah cair gula rafinasi

Bakteri	pH 9	pH 11
	Log cfu/mL	log cfu/mL
DC1	4,30	4,71
DC2	4,50	4,79
DC3	4,39	4,58
DC4	4,37	4,65
DC5	3,97	4,72
DC6	4,32	4,51
DC7	4,16	4,43
DC8	4,26	4,45
DC9	4,46	4,10

Tabel 4. Hasil identifikasi isolate pendekolorisasi limbah cair gula rafinasi

Klasifikasi	Nama Isolat		
	DC1	DC2	DC4
Filum	Proteobacteria	Firmicutes	Firmicutes
Kelas	Gamma Proteobacteria	Bacilli	Bacilli
Ordo	Pseudomonadales	Bacillales	Bacillales
Family	Pseudomonadaceae	Bacillaceae	Bacillaceae
Genus	Pseudomonas	Bacillus	Bacillus
Spesies	Pseudomonas diminuta	Bacillus sp	Bacillus sp

Berdasarkan uji statistik yang dilakukan, terdapat pengaruh variasi pH terhadap nilai dekolonisasi dengan nilai signifikansi yaitu 0,000 ($\alpha < 0,05$). pH berpengaruh secara langsung terhadap aktivitas enzimatik bakteri dalam mendekolorisasi zat warna limbah. Namun, aktivitas enzimatik selama dekolonisasi tiap bakteri berbeda-beda [11].

Kemampuan bakteri dalam mendekolorisasi dalam berbagai kondisi pH basa menunjukkan bahwa dalam dekolonisasi zat warna terutama melanoidin, tidak hanya dapat dilakukan oleh bakteri dengan kemampuan dekolonisasi pada pH asam seperti yang telah banyak ditemukan. Namun juga ditemukan bakteri indigenus limbah basa yang mampu mendekolorisasi dalam pH basa pula. Hal ini berlawanan dengan penelitian *Screening of different fungi for decolorization of molasses* yang menyatakan bahwa dekolonisasi secara efisien akan terjadi jika lingkungan asam (pH 3- 7) [12]. Sehingga perlu diketahui bahwa beberapa bakteri dapat melakukan dekolonisasi dalam pH tertentu. Hal ini dikarenakan oleh daya hidup bakteri yang spesifik pada lingkungan tertentu [11]. Oleh karena itu pada bakteri yang diisolasi dari lingkungan basa ini menghasilkan persentase dekolonisasi yang rendah pada pH sembilan, dikarenakan kemampuan bakteri yang tahan terhadap suasana basa (pH 11 -13).

Kemampuan dekolonisasi melanoidin yang dilakukan oleh bakteri ditengarai karena bakteri memiliki enzim dekolirisasi melanoidin yaitu lignin peroksidase, manganese peroksidase dan lakase [6]. Adapun uji identifikasi yang telah dilakukan menunjukkan bahwa tiga bakteri yang memiliki

kemampuan dekolonisasi tertinggi secara berturut yaitu dc2, dc4 dan dc1 adalah bakteri *Bacillus* sp (dc2 dan dc4) dan *Pseudomonas diminuta* (dc1). Bakteri *Bacillus* sp dan *pseudomonas* sp merupakan bakteri yang memiliki kemampuan biodegradasi [4].

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat di simpulkan bahwa:

1. Bakteri indigenus yang didapatkan dari limbah cair pabrik gula rafinasi memiliki potensi dalam mendekolorisasi limbah tersebut
2. Bakteri indigenus pendekolorisasi limbah cair gula rafinasi bekerja maksimal pada pH basa yaitu 11. Begitu juga dengan pertumbuhan bakteri baik pada pH tersebut.
3. Tiga bakteri indigenus dengan kemampuan dekolonisasi tertinggi adalah *Pseudomonas diminuta* (DC1) and *Bacillus* sp (DC2 and DC4).

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Naik, N. M., Jagadeesh, K. S., & Alagawadi, A. R. (2008). Microbial decolorization of spentwash: a review. *Indian Journal of Microbiology*, 48(1), 41-48.
- [2]. Garrity, G. (2007). *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology: Volume 2: The Proteobacteria, Part B: The Gammaproteobacteria* (Vol. 2). Springer Science & Business Media.
- [3]. Chandra, R., Bharagava, R. N., & Rai, V. (2008). Melanoidins as major colourant in

- sugarcane molasses based distillery effluent and its degradation. *Bioresource Technology*, 99(11), 4648-4660.
- [4]. Evershed, R. P., Bland, H. A., van Bergen, P. F., Carter, J. F., Horton, M. C., & Rowley-Conwy, P. A. (1997). Volatile compounds in archaeological plant remains and the Maillard reaction during decay of organic matter. *Science*, 278(5337), 432-433.
- [5]. Handrianto prasetyo. (2018). Mikroorganisme pendegradasi TPH (Total Petroleum Hydrocarbon) sebagai agen bioremediasi tanah tercemar minyak bumi : Review. *Jurnal Sains Health*, 2
- [6]. Kumar, P., & Chandra, R. (2006). Decolourisation and detoxification of synthetic molasses melanoidins by individual and mixed cultures of *Bacillus* spp. *Bioresource Technology*, 97(16), 2096-2102.
- [7]. Lestari K., 2016. Aktivitas Enzim Bakteri Potensial Yang Berperan Dalam Dekolorisasi Limbah Cair Pabrik Gula Rafinasi. <http://repository.unair.ac.id/eprint/29118>
- [8]. Mohana, S., Desai C., Madamwar D., (2007). Biodegradation and decolourisation of anaerobically treated distillery spent wash by a novel bacterial consortium. *Bioresource Technology*. 98, 333–339
- [9]. Pazouki, M., J. Shayegan dan A. Afshari, (2008). Screening of microorganisms for decolorization of treated distillery wastewater. Iran. *Journal Science Technology*. 32: 53-60.
- [10]. Sa'diyah Lailatus. (2016). Isolasi bakteri indigenus limbah cair pabrik gula rafinasi dan potensinya dalam dekolourisasi melanoidin. <http://repository.unair.ac.id/eprint/29109>
- [11]. Tiwari Soni, Rajeeva Gaur, Priyanka Rai dan Ashutosh Tripathi. (2012). Decolorization of Distillery Effluent by Thermotolerant *Bacillus subtilis*. *American Journal of Applied Sciences* 9 (6): 798-806.
- [12]. Seyis, I. and T. Subasing, (2009). Screening of different fungi for decolorization of molasses. *Brazilian J. Microbiol.*, 40: 61-65.