

KAJIAN BIODEGRADASI SECARA *IN VITRO* MENGGUNAKAN BAKTERI INDIGEN LIPOLITIK

Fidiastuti, Hasminar Rachman¹, Prasetyo, Nugroho Aji²

^{1,2}Universitas Tribhuwana Tunggaladewi, Jln. Telaga Warna, Malang

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

Abstrak: Aktivitas industri penyamakan dan pengolahan kulit di daerah Kasin, Malang menyumbangkan polutan bagi perairan sungai Badeg. Hasil pengukuran kualitas pada sampel air sungai Badeg menunjukkan kondisi yang tidak memenuhi baku mutu air yaitu TSS sebesar 400 ppm, BOD sebesar 331 mg/L, COD sebesar 544 mg/L, DO sebesar 3,6 mg/L dan kadar lemak sebesar 280 mg/L. Limbah pabrik kulit mengandung lemak dan lemak merupakan salah satu bahan organik yang sulit untuk diuraikan secara alamiah. Biodegradasi diharapkan dapat menjadi solusi perbaikan kondisi perairan dengan cara memanfaatkan aktivitas bakteri indigen dengan karakteristik pendegradasi lemak. Kegiatan biodegradasi dilakukan dengan cara mengintroduksi bakteri indigen yang telah diseleksi dari proses isolasi dan memiliki potensi pendegradasi paling tinggi, kemudian dikultur dan diinokulasikan kembali pada sampel air, sehingga proses transformasi akan berlangsung lebih optimal. Hasil biodegradasi secara *in vitro* menggunakan bakteri indigen, menunjukkan perubahan TSS sebesar 293ppm, BOD 117 mg/L, COD sebesar 165 mg/L, DO sebesar 19 mg/L dan kadar lemak sebesar 0,02 mg/L. Biodegradasi merupakan cara yang efektif dalam mendegradasi bahan organik, terutama kadar lemak.

Kata Kunci: biodegradasi *in vitro*, limbah pabrik kulit, bakteri indigen

PENDAHULUAN

Salah satu masalah yang dihadapi manusia adalah mencari solusi atas pencemaran yang terjadi. Pencemaran berkaitan erat dengan limbah yang dihasilkan dari aktivitas manusia. Permasalahan limbah terjadi karena tidak seimbangnya produksi limbah yang dihasilkan dengan aktivitas pengolahan limbah, serta menurunnya daya dukung lingkungan sebagai tempat pembuangan limbah.

Salah satu lokasi di kota Malang yang menghasilkan limbah dan merusak ekosistem adalah sungai *Badeg* yang berlokasi di Jalan Kolonel Sugiono Gang 8. Sungai *Badeg* dialiri oleh limbah cair dari 2 pabrik besar pengolahan kulit yaitu PT Usaha Loka dan PT Kasin di Jalan Susanto. Hasil buangan limbah PT Usaha Loka dan PT Kasin ini mengalirkan limbah yang bermuara ke Sungai *Badeg*. Selain pemukiman warga, sungai *Badeg* juga mengalir melewati sekolah SD Ciptomulyo 2 dan SMP PGRI 6 Malang. Aktivitas kedua pabrik ini menghasilkan limbah cair berwarna abu-abu, keunguan, bahkan hitam dan berbau busuk serta menyengat. Pencemaran menyebabkan penurunan kualitas air dan gangguan terhadap biota di perairan sekitar sungai.

Pengambilan sampel penelitian yang dilakukan oleh peneliti di tiga titik pada aliran sungai *Badeg*, menunjukkan bahwa air yang mengalir di sungai tersebut memiliki hasil perbandingan kadar BOD (*Biochemical Oxygen Demand*), COD (*Chemical Oxygen Demand*), TSS (*Total Suspended Solid*), DO (*Dissolved Oxygen*), dan lemak (tampak pada **Tabel 1**) yang berada di atas batas ambang yang telah ditentukan dalam baku mutu air Peraturan Pemerintah No 82 Tahun 2001 untuk kondisi perairan kelas II, yaitu sebagai air sungai, sehingga sangat tepat jika dilakukan biodegradasi untuk memperbaiki kondisi perairan.

Tabel 1. Perbandingan Parameter Kimia Organik dan Anorganik Air Sungai *Badeg* dengan Kriteria Mutu Air Kelas II

Parameter	Satuan	Sungai <i>Badeg</i>	Mutu Air Kelas II
Fisika			
TSS	Ppm	400	50
Kimia			
Anorganik			
BOD	mg/L	331	3
COD	mg/L	544	25

DO	mg/L	3.577	4
Kimia Organik			
Lemak & Minyak	mg/L	280	1

Sumber: Hasil analisis sampel air sungai *Badeg* di Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang dan Lampiran Peraturan Pemerintah Nomor 82 Tahun 2001 tentang Kriteria Mutu Air berdasarkan Kelas

Salah satu teknologi pengolahan air limbah yang aman dan berwawasan lingkungan adalah menggunakan bakteri yang berpotensi sebagai pengurai dalam proses biodegradasi. Secara alamiah untuk memperoleh bakteri yang berpotensi sebagai pengurai dapat dilakukan dengan mengisolasi limbah itu sendiri (bakteri indigen), kemudian dikultur secara murni di dalam laboratorium secara *in vitro*. Pemanfaatan konsorsia bakteri yang berpotensi akan diperbanyak di laboratorium untuk selanjutnya dipakai sebagai starter dalam pengolahan limbah.

METODE PENELITIAN

Pada penelitian ini menggunakan bahan-bahan meliputi: Medium Busnell Hass, sampel limbah cair pabrik kulit, olive oil 1%, Nutrien Agar (NA), Nutrien Cair (NC), Alkohol 70% dan 95%, aquades steril, pepton, beef extract, isolat bakteri indigen, air kran, lisol, kertas penghisap, sabun cuci, larutan Amonium Oksalat Kristal Violet, larutan Safranin, larutan Iodium, larutan Tembaga Sulfat (CuSO₄H₂O), larutan hijau malakit, etanol, aluminium foil, kertas tisu, kapas dan kasa.

Metode dalam penelitian ini merupakan eksperimen laboratorik dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan Analisis Varian Tunggal dan uji lanjut Duncan 5%. Potensi keefektifan setiap isolat bakteri dalam mendegradasi limbah dihitung berdasarkan rerata efisiensi optimasi, dengan rumus sebagai berikut:

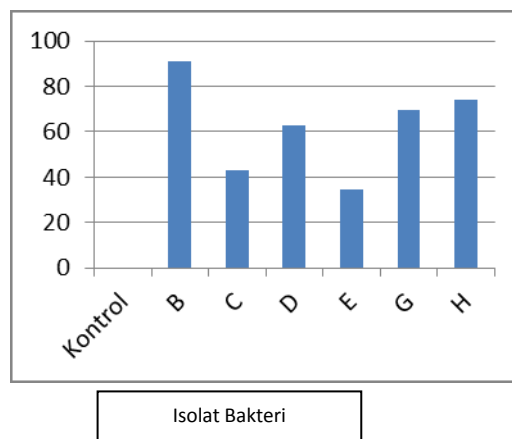
$$\% \text{Degradasi} = \frac{\text{Kadar Awal} - \text{Kadar Akhir}}{\text{Kadar Awal}} \times 100\%$$

Sampel penelitian berupa limbah cair industri penyamakan kulit diambil dari aliran sungai *badeg* pada jam-jam tertentu (jam dimana limbah dibuang langsung ke badan air, yaitu jam 17.00 WIB, jam 21.00 WIB dan jam 03.00 WIB). Sampel limbah kemudian dipropagasi dalam media *Busnell Hass* yang diperkaya dengan olive oil 1% selama 14 hari yang bertujuan untuk memperbanyak jumlah sel bakteri. Sampel limbah diinokulasikan pada medium NA dan diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Biakan murni bakteri hasil isolasi yang didapat merupakan starter. Starter kemudian diinokulasikan ke dalam botol yang berisi limbah dengan perbandingan volume starter:volume limbah = 1:10. Isolat bakteri indigen diinokulasikan secara aseptik dengan jarum inokulasi berkolong pada medium Nutrien Cair.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Isolat Bakteri Yang Terisolasi Dari Limbah Cair Pabrik Kulit

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ditemukan 9 mikroorganisme, dan 3 diantaranya merupakan khamir, sehingga tidak digunakan dalam penelitian ini, sehingga terdapat 6 isolat bakteri yang berpotensi dalam mendegradasikan lemak pada limbah cair. Hasil degradasi lemak dalam kurun waktu 1x24 jam terlihat pada **Grafik 1**.



Grafik 1. Efisiensi Kemampuan Isolat Bakteri yang Ditemukan dalam Mendegradasi Lemak (waktu 1x24 jam)

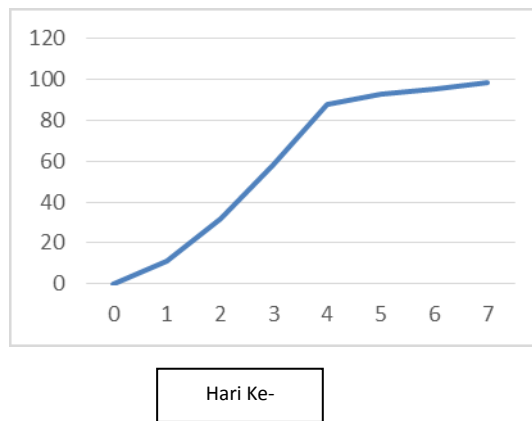
Dari keenam isolat bakteri yang ditemukan tersebut, dipilih 3 isolat yang memiliki kemampuan degradasi lemak tertinggi. Hasil uji Anava dilanjutkan uji Duncan menunjukkan bahwa isolat B, G dan H memiliki kemampuan degradasi tertinggi sehingga ketiganya digunakan sebagai isolat uji untuk tahap biodegradasi secara *in vitro*. Isolat bakteri terpilih, teridentifikasi sebagai spesies *Staphylococcus aureus* (Isolat B), *Pseudomonas pseudomallei* (Isolat G) dan *Actinobacillus sp.* (Isolat H).

Spesies *Staphylococcus aureus* memiliki rerata efisiensi optimasi penurunan kadar lemak sebesar 91,29%, spesies *Pseudomonas pseudomallei* memiliki rerata efisiensi optimasi penurunan kadar lemak sebesar 69,47% dan spesies *Actinobacillus sp.* memiliki rerata efisiensi penurunan kadar lemak sebesar 73,85% dalam kurun waktu 1x24 jam.

Terdapat beberapa faktor yang berpengaruh terhadap hasil isolasi bakteri, salah satu diantaranya adalah komponen penyusun limbah. Limbah cair tersusun atas komponen fisika, kimia, dan biologi sehingga ketiga komponen inilah yang akan mempengaruhi komposisi limbah cair (Atlas, 1993). Droste (1997) menyebutkan bahwa pada limbah penyamakan kulit, yang dominan adalah lemak. Karakteristik limbah pabrik kulit yang berwarna keruh bahkan sampai berwarna kehitaman dan berbau busuk adalah disebabkan karena adanya sisa-sisa daging dan darah, mengandung bubuk kapur, bulu halus, protein terlarut dalam kadar yang cukup tinggi, sisa garam serta asam, dan mengandung bahan penyamak yaitu krom serta sisa-sisa zat warna.

B. Kemampuan Ketiga Isolat yang Berpotensi terhadap Proses Biodegradasi secara *In Vitro* pada Limbah Cair Pabrik Kulit

Indikator yang digunakan dalam penentuan keberhasilan proses biodegradasi dalam limbah cair pabrik kulit adalah penurunan kadar lemak (menggunakan metode analisis *Direct Acid Hydrolysis*), penurunan kadar BOD, COD, dan TSS, serta kenaikan kadar DO. Berikut adalah hasil efisiensi degradasi lemak oleh konsorsium bakteri indigen yang tersaji dalam **Grafik 2** sebagai berikut.



Grafik 2. Efisiensi Degradasi Lemak (%) dari hari ke 0 sampai hari ketujuh oleh Konsorsium Bakteri

Efisiensi degradasi lemak oleh konsorsium bakteri indigen berpotensi diketahui memiliki rerata keefektifan sebesar 98,42%. Sehingga kadar lemak dalam sampel air yang tadinya sebesar 280 mg/L turun menjadi 0.0226 mg/L dalam waktu tujuh hari.

Keberhasilan degradasi bahan organik dapat juga dilihat dari penurunan kadar BOD, COD dan TSS serta kenaikan kadar DO. BOD digunakan untuk mengukur banyaknya oksigen yang dikonsumsi oleh mikroba dalam proses penguraian bahan organik yang terlarut dalam limbah cair. Sebuah angka BOD yang tinggi menunjukkan kelimpahan substrat organik yang dapat digunakan oleh mikroorganisme aerobik. Ketika kandungan BOD tinggi, menunjukkan bahwa mikroorganisme sering menggunakan banyak oksigen terlarut untuk degradasi bahan organik, hal ini akan menciptakan kondisi delesi oksigen (penurunan kadar DO) dan menyebabkan kematian organisme yang lebih tinggi, seperti ikan, yang membutuhkan O₂ untuk bertahan hidup (Atlas *et al.*, 1998). Biodegradasi akan memaksimalkan proses penguraian zat organik sehingga mengakibatkan penurunan kadar BOD, dikarenakan degradasi lemak terus berjalan, sehingga kadar lemak akan semakin menurun. Dengan menurunnya kadar lemak, maka jumlah oksigen yang dikonsumsi mikroba dalam proses penguraian akan semakin menurun. Penentuan parameter keberhasilan biodegradasi disajikan dalam **Tabel 2**.

Efektifitas penguraian bahan organik dengan penambahan inokulum bakteri menjadi lebih tinggi jika dibandingkan dengan penguraian bahan organik yang tanpa penambahan inokulum. Mikroorganisme dapat mengkonsumsi polutan organik dan mengubah polutan organik tersebut menjadi karbondioksida, air dan energi untuk pertumbuhan dan reproduksinya. Penambahan inokulum kultur campuran bakteri akan merangsang proses penguraian lebih cepat dibandingkan dengan yang tidak ditambahkan inokulum bakteri, karena waktu yang dibutuhkan untuk menguraikan lebih lama dibandingkan yang ditambahkan inokulum. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian, bahwa pada perlakuan kontrol, yaitu perlakuan yang tidak ditambahkan dengan kultur bakteri menunjukkan angka degradasi yang sangat sedikit.

Lemak merupakan salah satu contoh bahan organik. Bahan organik secara alamiah akan mudah terurai. Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas pseudomallei* dan *Actinobacillus sp.* akan menghasilkan enzim lipolitik sehingga dapat mendegradasi lemak menjadi substrat yang lebih sederhana. Substrat ini terhidrolisis menjadi asam piruvat. Selanjutnya, jika kondisi lingkungan mengandung cukup oksigen, melalui mobilisasi asetil-KoA akan masuk dalam lingkaran asam trikarboksilat (Siklus Krebs) yang pada akhirnya akan dibebaskan menjadi CO₂ dan H₂O.

Pada waktu bakteri tumbuh dan berkembang dalam limbah tersebut, karbon akan digunakan untuk menyusun bahan sel penyusun mikroba dengan cara membebaskan karbondioksida dan bahan-bahan lain yang mudah menguap. Dalam proses biodegradasi yang berlangsung tersebut, maka mikroba juga akan mengasimilasi nitrogen, fosfor, kalium dan belerang yang terikat dalam protoplasma sel. Hal ini sesuai dengan tujuan utama penanganan limbah secara biologi adalah untuk mendegradasi dengan cara mengoksidasi limbah organik, sehingga senyawa-senyawa kompleks dapat terurai menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana dan lebih mudah larut, disamping itu juga dapat dimanfaatkan sebagai nutrisi oleh bakteri indigen.

Tabel 2. Parameter Keberhasilan Biodegradasi

Parameter	Satuan	Sampel Air Awal	Biodegradasi In Vitro	Baku Mutu Air Kelas II
Fisika				
TSS	Ppm	400	293.333	50
Kimia Anorganik				
BOD	mg/L	331	117.344	3
COD	mg/L	544	165.333	25
DO	mg/L	3.577	19	4
Kimia Organik				
Lemak	mg/L	280	0.0226	1

SIMPULAN, SARAN, DAN REKOMENDASI

Dari penelitian biodegradasi secara *in vitro*, diperoleh spesies-spesies bakteri potensial yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi limbah cair pabrik kulit yaitu *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas pseudomallei*, dan *Actinobacillus sp.*

Konsorsium ketiga spesies bakteri indigen terpilih memiliki potensi biodegradasi secara *in vitro* berdasarkan efisiensi rerata penurunan lemak sebesar 98.42%, TSS sebesar 73.33%, BOD sebesar 35.45%, COD sebesar 69.61% dan kenaikan kadar oksigen terlarut dalam air dalam kurun waktu 7 hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, M. (1997). *Biodegradation and Bioremediation: Second Edition*. Department of Soil, Crop, and Atmospheric Sciences, College of Agriculture and Life Science, Cornell University, Ithaca, New York. New York: Academic Press
- Atlas, R.M & Bartha, R. (1998). *Microbia Ecology, Fundamental and Application*. New York: The Benjamin Cummings Publishing Company.
- Beishir, L. 1991. *Microbiology in Practice*. Fifth Eition. New York: harper Collins Publisher Inc.
- Burlage, R.S; Atlas, R.; Stahl, D.; Geesey, G.; Sayler, G. 1998. *Techniques in Microbial Ecology*. New York: Oxford University Press.
- Cesaro, A.; Vincenzo, N.; Vincenzo, B. 2013. Wastewater Treatment by Combination of Advanced Oxidation Processes and Conventional Biological Systems. *Journal Bioremediation & Biodegradation 2013 Volume 4, Issue 8*.
- Fogarty, W.M. 1983. *Microbial Enzymes and Biotechnology*. London and New York: Applied Science Publisher.
- Holt, J.G.; Krieg, N.R.; Sneath, P.H.A.; Staley, J.T.; dan William, S.T. 2000. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 10th Edition*. New York: Williams and Wilkins Company.
- Kawashima, T. 2003. *Teknologi Pengolahan Limbah Cair dengan Sistem Lumpur Aktif: Pengetahuan Dasar, Rancangan dan Konstruksi, Pengoperasian Model Pengolahan Limbah Cair Pabrik Karet*. Jakarta: JETRO (Japan External Trade Organization).
- Keputusan Menteri Lingkungan Hidup No. 51 Tahun 1995 tentang *Baku Mutu Limbah Cair bagi Kegiatan Industri*.
- Neilson, A.H. & Allard, A.S. 2009. Chemistry of Organic Pollutant. *Journal Environment and Ecological Chemistry Volume 1*. Stockholm: Sweddish Environment Research Institute, Ltd.
- Ramakrisnan. 2013. Fuelling the Microorganisms for Remediation. *Journal Bioremediation & Biodegradation 2013 Volume 4, Issue 8*.
- Rozaq, A. 2002. Pengaruh Salinitas terhadap Biodegradasi Cemarannya Zat Organik. *Jurnal Oseana, Volume XXVII, Nomor 3, tahun 2002: 29-35*. <http://www.oseanografi.lipi.go.id>, (Online), Diakses 9 Januari 2014.
- Suarsini, E. 2007. *Bioremediasi Limbah Cair Rumah Tangga menggunakan Konsorsium Bakteri Indigen dalam Menunjang Pembelajaran Masyarakat*. Malang: Pascasarjana Universitas Negeri Malang. Disertasi

- Shovitri, M.; Kuswytasari, N.D.; Paramita, P. 2012. Biodegrasi Limbah Organik Pasar dengan Menggunakan Mikroorganisme Alami Tangi Septik. *Jurnal Sains dan Seni ITS Vol. 1, Sept. 2012*. ISSN: 2301-928X.
- Tong Y.; Miao, Y. and Ulrich, A. 2012. *Biodegradation of Organic Compounds in OSPW with Microbial Communities Indigenous to MFT*. Department of Civil and Environmental Engineering: University of Alberta.
- Tsan, H.C. Tanpa Tahun. *Microbial Metabolism Biodegradation of Organic Compounds*.