

BAB II

KAJIAN TEORITIS

2.1. Kajian Pustaka

2.1.1. Limbah Batik

Limbah cair batik memiliki karakteristik fisika, kimiawi, dan biologis. Karakteristik fisika yang dapat diamati berupa adanya bau yang menyengat, berbusa, keruh, dan cenderung pekat (Apriyani, 2018; Pratiwi et al., 2020). Pada umumnya, tingkat polusi yang lebih tinggi ditunjukkan dengan tingkat kekeruhannya yang mencegah intensitas penyinaran matahari dalam proses fotosintesis pada tumbuhan yang berada di dasar perairan (Sodhi, 2015). Karakteristik kimiawi berupa adanya padatan tersuspensi, konsentrasi BOD dan COD tinggi, pH bersifat basa, mengandung lemak dan zat lain diantaranya logam berat seperti: Krom (Cr), Timbal (Pb), Nikel (Ni), Tembaga (Cu), dan Mangan (Mn) (Budiyanto et al., 2018; Fuji et al., 2020). Serta komponen dari zat mordant atau pengunci pewarna yang digunakan secara bersamaan dengan zat pewarna antara lain: aluminium kalium atau tawas ($K_2SO_4 \cdot Al_2(SO_4)_3 \cdot 24H_2O$), kapur atau kalsium karbonat ($CaCO_3$), kalsium hidroksida ($Ca(OH)_2$), asam sitrat ($C_6H_8O_7$), tembaga (II) sulfat ($Cu_2(CH_3COO)_4$), besi sulfat ($Fe_2SO_4 \cdot 7H_2O$), bentonit, dan kalium dikromat ($K_2Cr_2O_7$) (Muniarti dan Muljadi, 2013; Lestari et al., 2018). Sedangkan karakteristik biologis berupa hampir semua air limbah batik mengandung sulfida (S^{2-}), amonia (NH_3), dan berbagai jenis mikroorganisme patogen dan non-patogen dengan konsentrasi 10^5 - 10^8 mg/mL (Dewi et al., 2019). Oleh sebab itu, dari ketiga karakteristik yang dimiliki oleh limbah cair batik tersebut menunjukkan bahwa kandungan limbah cair batik sangat kompleks.

Keberadaan limbah cair batik di kawasan industri mayoritas melebihi ambang batas baku mutu lingkungan. Hal ini terbukti dengan hasil pengukuran kadar kromium, pH, kadar BOD (*Biological Oxygen Demand*), dan kadar COD (*Chemical Oxygen Demand*) limbah cair di beberapa industri batik di Indonesia seperti: (i) limbah batik di Solo sebelum dan setelah dilakukan pengolahan memiliki kadar kromium rata-rata 16,6747 mg/L dan 10,1181 mg/L dengan pH 14, serta setelah dibuang di aliran air sungai yang berjarak 2 km dari pabrik memiliki

konsentrasi 7,6277 mg/L, pH 5 (Fuji et al., 2020), (ii) limbah batik di Kauman, Tulungagung sebelum dilakukan pengolahan memiliki kadar kromium 2,3 mg/L, pH 10, kadar BOD 377 mg/L, kadar COD 568 mg/L (Fidiastuti et al., 2020), (iii) limbah batik Laweyan Solo sebelum pengolahan memiliki kadar kromium 74,298 mg/L, dan pH 2 (Sunardi, 2011), (iv) limbah batik di Lampung sebelum pengolahan memiliki kadar kromium 4,6 mg/L (Natalina dan Firdaus, 2018), (v) limbah batik di Klaten sebelum pengolahan memiliki kadar BOD 278 mg/L, kadar COD 5280 mg/L, dan pH 9,4 (Handayani et al., 2018) serta (vi) limbah batik di Sokaraja, Banyumas sebelum pengolahan adalah kadar (Cr(VI)) 1,1 mg/L, pH 8,0 (Dewi et al., 2019). Sehingga kadar BOD, COD, dan logam kromium heksavalen (Cr(VI)) yang terdapat dalam limbah cair batik memiliki kadar yang melebihi batas baku ketentuan mutu limbah di kegiatan industri dan dikhawatirkan dalam jangka panjang kromium yang terdapat pada limbah cair dapat menimbulkan pencemaran air dan merusak ekosistem badan perairan. Baku mutu maksimal perairan diatur dalam Peraturan Pemerintah Nomor 5 Tahun 2014 Tentang Baku Mutu Air Limbah standar nasional dan aturan *The International Dye Industry Wastewater Discharge Quality Standard* yang diadopsi dari *the Zero Discharge of Hazardous Chemicals Programme* (ZDHC) standar internasional. Adapun aturan baku mutu standar air limbah tekstil ditampilkan dalam tabel 2.1. Sehingga limbah cair batik yang dibuang langsung ke lingkungan dan penggunaan IPAL kurang optimal dapat merusak kualitas lingkungan yang disebabkan kandungan senyawa organik dan logam berat di alam melebihi ambang batas baku mutu lingkungan.

Tabel 2.1
Aturan Baku Standar Mutu Air Limbah Tekstil

Kadar	Baku Standar Mutu Air Limbah Tekstil	
	PP Nomor 5 Tahun 2014	<i>The International Dye Industry Wastewater Discharge Quality Standard</i>
BOD	< 50 mg/L	< 30 mg/L
COD	< 100 mg/L	< 50 mg/L
Suhu	< 38°C	< 42°C
TSS	< 200 mg/L	< 25 mg/L
Pewarna	-	< 1 ppm
pH	6,0-9,0	6,0-9,0
Cr(VI)	< 0,1 mg/L	< 1 mg/L

Sumber: (Ballav et al., 2018; Katheresan et al., 2018; Mojsov et al., 2016; Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Dan Kehutanan Republik Indonesia, 2020; ZDHC Programme, 2015).

2.1.2. Pewarna Batik

Sejumlah bahan yang digunakan dalam produksi batik adalah malam atau lilin (*wax*), pewarna, dan lain sebagainya. Adapun bahan yang memiliki persentase terbesar pada limbah batik adalah pewarna yang ditambahkan saat pencelupan atau perebusan kain (Apriyani, 2018). Lalu, definisi dari pewarna merupakan zat berwarna yang didesain untuk memberikan nilai estetik berupa corak pada bahan tertentu seperti kain, kertas, dan yang lainnya (Katheresan et al., 2018). Keberadaan pewarna dalam produksi batik penting karena mengikat warna kain sebesar 5-25 % dan sisanya berupa limbah yang terbuang (Budiyanto et al., 2018). Daya serap pewarna pada kain memiliki kapasitas penyerapan terbatas dan umumnya sukar terdegradasi karena sifatnya yang mampu menahan kerusakan oksidatif dari cahaya matahari yang menyebabkan kualitas lingkungan melebihi ambang batas mutu lingkungan (Oktaviani, 2018; Saratale et al., 2011). Serta jenis pewarna yang digunakan dalam produksi batik meliputi pewarna alami dan sintetis. Berbagai jenis pewarna sintetis yang digunakan dalam pembuatan batik adalah pewarna *Naphtol Garam, Indigosol, Procion, Reactive, Remazol, Direk, Base, Rapide, Ergan Soga, Kopel, Soga, dan Chroom Soga* (Budiyanto et al., 2018; Haedar et al., 2019; Handayani et al., 2018; Wardiyati et al., 2012). Sedangkan pewarna alami dalam produksi batik biasanya seperti daun suji dan soga. Saat ini, pewarna sintetis lebih banyak digunakan karena mudah diperoleh, warna bervariasi dan menarik, banyak, mudah cara pemakaiannya, memerlukan proses yang tidak lama dalam mengikat warna, serta harganya relatif murah (Dewi et al., 2019; Fidiastuti et al., 2020). Sehingga penggunaan pewarna sintetis dalam produksi batik dapat mempengaruhi peningkatan toksisitas limbah cair batik.

Keberadaan zat warna dalam pewarnaan batik cukup beragam. Zat warna sintetis diklasifikasikan berdasarkan struktur kimia dan pengaplikasiannya. Klasifikasi pewarna tekstil komersial disusun dalam Indeks Warna (CI) yang diterbitkan oleh *Society of Dyers and Colourists* (Inggris) dan *American Association of Textile Chemists and Colorists* (AATCC) (Benkhaya et al., 2020).

Komponen penyusun zat warna adalah kromofor yang berperan sebagai molekul pemberi warna, serta auksokrom yang berperan sebagai pengikat warna pada serat (Agustina dan Amir, 2012; Kulandaivel et al., 2014). Pewarna tekstil berdasarkan larut atau tidaknya pada air diklasifikasikan menjadi (i) *water soluble dye*/larut dalam air: pewarna *acid*, pewarna reaktif, pewarna *basic*, serta (ii) *water non-soluble dye*/tak larut dalam air: pewarna *direct*, pewarna *disperse*, pewarna *solvent*, pewarna *vat*, dan pewarna *azoic* (Singh et al., 2019). Berdasarkan kelompok struktur kimia kromofor, zat pewarna diklasifikasikan sebagai senyawa azo, *anthroquinone*, *tryphenilemethane*, *nitro*, *phythalocyanine*, dan *indigo* (Apriyani, 2018). Dari berbagai struktur kromofor tersebut, senyawa azo dan *triphenylmethane* menjadi senyawa yang paling banyak terdapat pada zat pewarna tekstil (Khan et al., 2013). Kontaminan limbah tekstil yang umumnya berwarna disebabkan oleh adanya gugus azo yang lebih banyak sekitar 60-70% keberadaannya dibandingkan senyawa lain (Saratale et al., 2011). Oleh sebab itu, klasifikasi zat warna pada pewarna tekstil telah ditetapkan dalam skala global serta keberadaan senyawa azo pada berbagai pewarna tekstil mempengaruhi karakteristik fisik limbah yang terlihat dari munculnya warna.

Pewarna azo menjadi ancaman serius bagi permasalahan limbah cair tekstil karena mengganggu estetika lingkungan, mutagenitas, dan karsinogen pada makhluk hidup. Saat ini, pewarna azo menjadi kelas pewarna terbesar dan serbaguna yang diproduksi hampir 70% industri pewarna di seluruh dunia (Joe et al., 2011; Valerie et al., 2018). Pewarna azo adalah senyawa cincin aromatik sintetik yang memiliki satu atau lebih ikatan gugus azo atau ikatan rangkap nitrogen ($-N=N-$) yang membentuk ikatan kovalen dengan substrat tekstil seperti amina aromatik, nitro dan nitroso (Laminsa et al., 2013; Saratale et al., 2011). Pewarna azo dikelompokkan berdasarkan jumlah ikatan gugus azo dalam molekul pewarna yang sama seperti monoazo, diazo, triazo, dan poliazo (Benkhaya et al., 2020). Maraknya penggunaan kelompok pewarna azo disebabkan karena struktur kimia dan warnanya bervariasi, serta efektif dalam proses perlekatan warna pada kain (Laminsa et al., 2013; Saratale et al., 2011). Peningkatan toksisitas limbah cair sebanding dengan penambahan berat molekul gugus azo dan reaktivitas strukturnya

yang disebabkan oleh peningkatan senyawa azo dan ikatan substratnya (Benkhaya et al., 2020). Pewarna azo diproduksi dalam skala industri yang meliputi dua tahapan yaitu diazotisasi dan kopling azo yang prosesnya saat bercampur dengan air akan bertransformasi menjadi senyawa amina yang bersifat mutagenik dan karsinogenik yang disebabkan oleh pembelahan reduktif mikroba dari ikatan azo dalam kondisi anaerob atau produk oksidasi melalui sitokrom P450 pada mikroba (Benkhaya et al., 2020; Karim et al., 2018). Adapun upaya yang dilakukan untuk mendetoksifikasi limbah cair dilakukan dengan memutus ikatan gugus azo yang lebih mudah didegradasi dalam kondisi aerobik dan anaerobik (Saratale et al., 2011). Sehingga, saat ini sebagian besar industri tekstil menggunakan berbagai jenis pewarna yang termasuk ke dalam kelompok pewarna azo serta pemutusan ikatan azo ditentukan oleh berat molekul pewarna dan bagian reaktivitas strukturnya.



Gambar 2.1

Pewarna Reaktif merek *Procion*

Sumber: Data Pribadi

Dari berbagai jenis pewarna tekstil, secara umum pewarna reaktif, garam naftol, dan indigosol sering digunakan dalam pewarnaan batik. Penggunaan ketiga warna tersebut disebabkan karena beberapa hal yakni: (i) menghasilkan afinitas tinggi untuk mengikat bahan kain serat selulosa (Karim et al., 2018), (ii) warna yang bervariasi cemerlang (Priyani et al., 2018), serta (iii) zat warna stabil di lingkungan perairan dan tidak mudah pudar oleh degradasi air dan deterjen (Kulandaivel et al., 2014). Keberadaan berbagai jenis pewarna azo terjadi karena adanya gugus azo yang diganti dengan kelompok benzena atau naftalena dengan substituen berbeda seperti kloro (-Cl), metil (-CH₃), nitro (-NO₂), amino (-NH₂), hidroksil (-OH), dan

karboksil ($-\text{COOH}$) (Saratale et al., 2011). Diantara ketiga jenis pewarna tersebut, pewarna reaktif yang marak digunakan dalam produksi batik. Pewarna reaktif adalah jenis zat warna yang mengandung cincin amina heterosiklik dan halogen substituen yang menjalani reaksi substitusi nukleofilik dengan serat selulosa dan pertama diproduksi pada tahun 1956 (Gowri et al., 2018). Pada pengaplikasiannya, zat warna ini sulit dihilangkan karena adanya ikatan kovalen yang kuat antara atom karbon dari zat warna dengan atom O, N, atau S dari gugus hidroksi, amino atau thiol dari polimer (Dewi et al., 2018; Safitri et al., 2020). Sejumlah merek dagang dari pewarna reaktif yang digunakan dalam industri batik adalah *Procion*, *Cibacron*, *Drimaren*, *Lavafix*, *Remazol*, *Reactive Brilliant*, *Remalan* dan *Primazin* (Agustina dan Amir, 2012). Penggunaan pewarna reaktif dapat memberikan warna yang lebih terang dan lebih cepat dalam proses pengikatan zat warna pada kain (Gowri et al., 2018). Oleh sebab itu, berbagai jenis pewarna azo khususnya pewarna reaktif banyak digunakan dalam proses pencelupan kain batik.

2.1.3. Dekolorisasi Pada Limbah Cair Batik

Pewarna yang terdapat pada limbah cair batik memberikan sumbangsih besar terhadap toksisitas limbah. Adapun salah satu cara yang dapat dilakukan untuk menurunkan toksisitas limbah cair batik dilakukan melalui bioremediasi dengan cara dekolorisasi. Istilah dekolorisasi mengacu pada penghilangan zat pewarna yang terkandung dalam suatu limbah (Saratale et al., 2011). Saat ini, penggunaan pewarna sintetik banyak digunakan oleh berbagai industri tekstil dan batik. Adapun dekolorisasi dapat dilakukan secara metode abiotik dan biotik. Dekolorisasi secara abiotik menggunakan pendekatan fisika dan kimiawi seperti adsorpsi, filtrasi membran, klorinasi, oksidasi, ozonasi, koagulasi-flokulasi, elektrolisis, pertukaran ion, aktivasi karbon, elektrokinesis koagulasi, fotokimia, dan metode fenton (Hazirah et al., 2014; Singh et al., 2019). Sedangkan dekolorisasi secara biotik menggunakan pemanfaatan mikroorganisme yang penggunaannya lebih banyak daripada metode abiotik. Hal ini terjadi dikarenakan metode abiotik lebih sulit pemeliharaannya, relatif memerlukan biaya yang mahal, serta menimbulkan efek samping seperti zat pencemar baru berupa polutan sekunder dan lumpur endapan (Jannah et al., 2017; Siddiqui dan Wahid, 2018; Wardiyati et al.,

2012). Oleh sebab itu, upaya dekolorisasi dengan metode biotik lebih efektif digunakan dalam menurunkan toksisitas limbah batik.

Sejumlah agen bioremediasi pendekolorisasi pewarna sintetis pada limbah cair batik meliputi jamur, bakteri, mikroalga, dan lain sebagainya. Beberapa mikroorganisme yang dapat mendekolorisasi berbagai pewarna sintetis baik dalam bentuk isolat maupun konsorsium terdapat dalam tabel 2.2. Penggunaan bakteri dalam dekolorisasi lebih banyak diaplikasikan dibandingkan jamur dan alga. Hal ini terjadi karena keduanya lebih banyak memakan waktu retensi dan sulit beradaptasi di kontaminasi limbah (Saratale et al., 2011; Xiao et al., 2012). Berbeda halnya dengan bakteri yang lebih efektif, aman, ramah lingkungan, menghasilkan lebih sedikit lumpur, menghasilkan produk akhir yang tidak beracun, dan biaya relatif murah (Safitri et al., 2020; Saratale et al., 2011; Yousufi, 2012). Penggunaan bakteri memiliki efisiensi dekolorisasi yang tinggi dalam kondisi anaerobik dan aerobik persentase lebih besar dengan kisaran 40-90% (Khan et al., 2013). Adapun sejumlah spesies bakteri seperti *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Escherichia coli* yang secara alami terdapat pada limbah batik dapat mendegradasi berbagai jenis pewarna tekstil dan memiliki efisiensi dekolorisasi berkisar 50-90% dalam kondisi anoksik dan aerobik (Apriyani, 2018; Fidiastuti et al., 2020; Garg et al., 2020; Jain et al., 2012; Wijastuti et al., 2015). Hal ini dikarenakan ketiganya berperan sebagai penghasil sejumlah enzim yang menimbulkan degradasi gugus azo seperti azoreduktase (Jain et al., 2012; Zhang et al., 2013). Sehingga, penggunaan bakteri seperti *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Escherichia coli* lebih banyak digunakan dalam menghilangkan zat warna sintetis yang melibatkan reaksi enzimatik.

Dekolorisasi pewarna azo melibatkan serangkaian proses aktivitas metabolisme mikroba. Mekanisme degradasi pewarna azo terdiri dari pembelahan ikatan senyawa azo reduktif oleh enzim azoreduktase dan penyederhanaan senyawa amina aromatik melalui oksidasi (Valerie et al., 2018). Degradasi pewarna sintetis melalui reaksi enzimatik banyak dilakukan oleh bakteri seperti *Bacillus* sp., dan *Escherichia coli* penghasil enzim azoreduktase AzoR1 dan AzoR2, *Bacillus* sp. dan *Acinetobacter calcoaceticus* penghasil enzim lignin peroksidase dan tirosinase,

serta *Serratia marcescens* penghasil enzim mangan peroksidase (Singh et al., 2019). Identifikasi produk akhir dari proses degradasi dan dekolorisasi pewarna dapat dianalisis dengan berbagai metode seperti kromatografi (*Thin Layer Chromatography* (TLC)) dan spektrometri (alat spektrofotometer UV-Vis, inframerah transformasi *fourier* (FT-IR atau *Fourier-transform Infrared Spectroscopy*), dan kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS atau *Gas chromatography–mass spectrometry*)) (Saratale et al., 2011). Untuk mengetahui absorbansi zat warna sintetik biasanya ditentukan oleh panjang gelombang cahaya yang terserap dengan puncak absorbansi maksimum pada panjang gelombang 400-600 nm yang dipengaruhi oleh struktur kromofor pewarna (Saratale et al., 2011; Singh et al., 2019). Sehingga proses dekolorisasi terjadi melalui biosorpsi dan reaksi enzimatik serta pengujian dekolorisasi dan degradasi pewarna sintetik dilakukan melalui metode tertentu yang ditunjukkan oleh efisiensi absorbansi zat warna.

2.1.4. Konsorsium Mikroorganisme

Pada lingkungan yang terkontaminasi limbah, tiap mikroorganisme *indigenous local* dapat mereduksi logam berat tertentu secara spesifik dalam waktu yang relatif lama. Akan tetapi, jika dilakukan dengan meningkatkan pertumbuhan mikroorganisme pada lingkungan yang terkontaminasi melalui pengujian aktivitas bioremediasi dalam skala laboratorium bisa mengembangkan eksistensi penggunaan agen hayati sebagai alat remediasi lingkungan yang efektif dan ramah lingkungan (Wijastuti et al., 2015). Biasanya mikroorganisme tersebut dikultur untuk mengukur efektivitas reduksi logam berat dan zat warna pada limbah yang diisolasi dari lingkungan yang terkontaminasi (Joshi et al., 2015; Noviar, 2019; Saratale et al., 2011). Misalnya mikroorganisme *indigenous local* pada limbah cair batik yang didominasi bakteri seperti: (i) *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Geobacillus* sp. (Wijastuti et al., 2015), (ii) *Lactobacillus delbrueckii* (Zuraida et al., 2013), (iii) *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, serta *Pantoea* sp. (Apriyani, 2018; Fatmawati et al., 2010), (iv) *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, serta *Alcaligenes* sp. (Oktaviani, 2018), dan (v) *Bacillus subtilis* NAP1

(Fidiastuti et al., 2020) dikultur dalam kondisi aerob maupun anaerob. Beberapa mikroorganisme tersebut saling berinteraksi secara enzimatik dan bekerja sama dalam menurunkan kadar logam berat sekaligus menghilangkan zat warna. Sehingga dengan adanya mikroorganisme *indigenous local* mampu menurunkan toksisitas limbah batik secara efektif dan efisien.

Interaksi mikroorganisme di lingkungan tidak dapat diprediksi terkecuali diobservasi dalam skala laboratorium. Pemanfaatan keuntungan interaksi antar mikroorganisme dapat dievaluasi dalam proses seleksi degradasi limbah menjadi ciri dari penggunaan konsorsium mikroba (Cheng et al., 2012). Konsorsium adalah kombinasi dari kultur murni yang disebut sebagai inokulum campuran yang dilakukan dengan cara menggabungkan beberapa isolat mikroorganisme dan digabung untuk menguji potensi penurunan toksisitas limbah tertentu. Setelah penggabungan berbagai mikroorganisme, biasanya permukaan air atau lumpur menjadi flokulasi dan semakin berbusa dari hari ke hari yang menandakan adanya aktivitas remediasi (Liu et al., 2019). Pengembangan konsorsium mikroorganisme dapat dilakukan dalam mode *batch culture* (sistem tertutup) atau *continues culture* (sistem terbuka) serta dalam kondisi aerob, anaerob, atau kombinasi aerob-anaerob (Gola et al., 2020; Karim et al., 2018; Saratale et al., 2011). Dalam dekolonisasi pewarna limbah, tiap *strain* individu menyerang molekul pewarna pada posisi yang berbeda atau menggunakan produk metabolisme yang dihasilkan oleh *strain* lain untuk dekomposisi lanjutan dan mengubahnya menjadi senyawa yang tidak beracun sehingga saling mendukung pertumbuhan dan kebutuhan energi satu sama lainnya (Kurade et al., 2012; Saratale et al., 2011). Serta penggunaan konsorsium mikroba lebih efektif dalam penghilangan zat pewarna dibandingkan dengan isolat tunggal. Hal ini terjadi dikarenakan: (i) reaksi enzimatik yang dihasilkan oleh antar mikroorganisme memiliki kapasitas penuh untuk mendegradasi polutan yang saling melengkapi untuk bertahan hidup menggunakan sumber nutrisi yang tersedia pada media tumbuhnya (Asri dan Zulaika, 2016; Katheresan et al., 2018), (ii) pemanfaatan racun logam berat digunakan dalam proses metabolisme sel antar mikroorganisme (Karim et al., 2018), serta (iii) agen bioremediasi yang potensial dan relatif murah dari segi biaya degradasi limbah (Mojsov et al., 2016). Sehingga,

penggunaan konsorsium mikroba lebih efisien daripada kultur individu dalam proses dekolorisasi dan degradasi pewarna.

Penggunaan konsorsium mikroorganisme dapat menghasilkan produk yang dimanfaatkan oleh tiap mikroorganisme dalam pertumbuhannya. Anggota konsorsium saling berasosiasi, berkolaborasi, dan bermutual dalam mendegradasi senyawa beracun pada limbah. Hubungan antar bakteri dalam keadaan substrat yang mencukupi tidak akan saling mengganggu, tetapi saling bersinergi sehingga menghasilkan efisiensi perombakan yang lebih tinggi selama proses pengolahan (Saratale et al., 2011). Mekanisme sinergisme antar isolat dalam konsorsium masih belum diketahui secara pasti. Akan tetapi, beberapa penelitian menduga kompatibilitas konsorsium ditentukan oleh: (i) salah satu anggota genus mampu menyediakan satu atau lebih faktor nutrisi yang tidak dapat disintesis oleh anggota lain, (ii) salah satu anggota genus yang tidak mampu mendegradasi bahan organik tertentu akan bergantung pada anggota yang mampu menyediakan hasil degradasi bahan organik tersebut, serta (iii) salah satu anggota genus melindungi anggota lain yang sensitif terhadap bahan organik tertentu dengan menurunkan konsentrasi bahan organik yang bersifat toksik dengan cara memproduksi faktor protektif yang spesifik maupun non spesifik (Asri dan Zulaika, 2016; Deng dan Wang, 2016; Hutagalung et al., 2019). Sehingga, penggunaan konsorsium mikroorganisme banyak digunakan dalam penanganan masalah pengolahan limbah tekstil terutama batik.

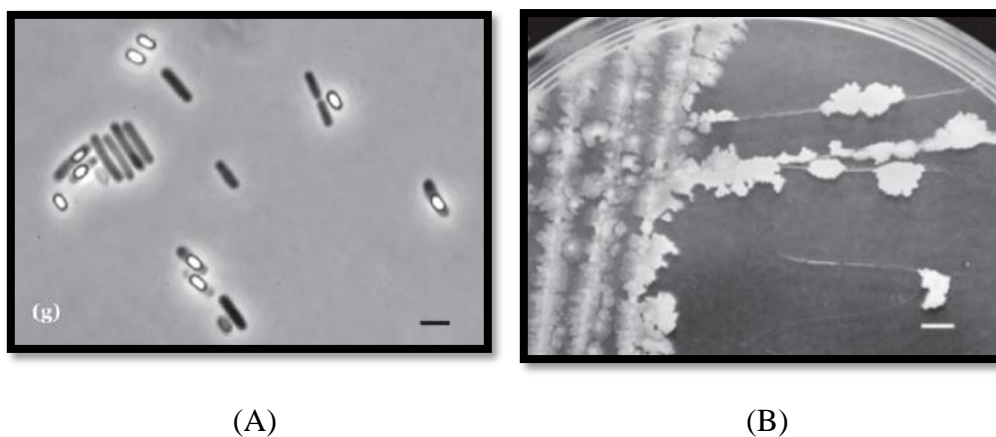
Tabel 2.2
Pemanfaatan Mikroba dalam Dekolorisasi Pewarna Sintetik Limbah Tekstil

Pemanfaatan Mikroba	Jenis Pewarna	Efisiensi; pH; Suhu; Kondisi; Waktu Inkubasi; Puncak Absorbansi Zat Warna	Sumber
Isolat Tunggal Mikroba			
<i>Bacillus</i> sp.	<i>Reactive Black 5B</i> atau <i>Remazol Black B</i> (diazo)	95%; pH 7,0; suhu 40 °C; selama 120 jam; kondisi statis aerobik, panjang gelombang 597 nm.	(Wang et al., 2013)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Reactive Black 5B</i> atau <i>Remazol Black B</i> (diazo)	96%; pH 7,0; suhu 37°C; kondisi statis aerobik dan <i>batch culture</i> ; selama 72 jam; panjang gelombang 595 nm.	(Joe et al., 2011)
<i>Pseudomonas putida</i> ; <i>Bacillus cereus</i> ; <i>Bacillus subtilis</i> ; dan <i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Acid Orange</i> atau <i>C.I. Acid Orange 10</i> (monoazo)	90%; 65%; 54%; dan 39%; pH 7,0; suhu 37°C; kondisi statis aerobik reaktor <i>batch</i> ; selama 24 jam; panjang gelombang 480 nm.	(Tripathi dan Srivastava, 2011)
<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Remazol Brilliant Blue R</i> ; <i>Reactive Blue 19</i> ; atau <i>reactive blue 13</i> (monoazo)	83,2%; pH 7,0; suhu 35°C; kondisi statis aerobik-anaerobik; selama 70 jam efisiensi 65-90% bervariasi; panjang gelombang 596 nm.	(Lin et al., 2010)
Konsorsium Mikroba			
Konsorsium <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (RS1) dan <i>Thiosphaera pantotropha</i> ATCC 35512	<i>Reactive yellow 2</i> atau <i>Cibacron Brilliant Yellow 3G-P</i> (poliazoz)	54% (statis) dan 50% (gemetar); pH 7,0; suhu 37°C; kondisi statis dan gemetar kombinasi aerobik dan anaerobik; selama 96 jam; panjang gelombang 300-400 nm.	(Garg et al., 2020)
Konsorsium <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Escherichia coli</i> dan <i>Bacillus subtilis</i>	<i>Dylon Navy Blue</i> (monoazo)	47,71%; pH 8,0; suhu 37°C; kondisi gemetar kombinasi aerobik-anaerobik; selama 4 hari; panjang gelombang 578 nm.	(Halim et al., 2019)
Konsorsium <i>Bacillus</i> sp., <i>Neisseria</i> sp., <i>Vibrio</i> sp., dan <i>Aeromonas</i> sp.	<i>Reaktive Novacron Orange FN-R</i> , <i>Novacron Brilliant Blue FN-R</i> , <i>Novacron Super Black G</i> ,	70%; 80%; 90%; 65%; dan 75%; pH 7,0; suhu 37°C; kondisi statis aerobik; selama 6 hari; panjang gelombang 490 nm, 610 nm, 600 nm, 410 nm, dan 530 nm.	(Karim et al., 2018)

	<i>Bezema Yellow S8-G</i> , dan <i>Bezema Red S2-B</i> (monoazo)		
Konsorsium <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus mycoides</i> , <i>Bacillus</i> sp., <i>Micrococcus</i> sp., dan <i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Procion Metanil Yellow</i> , <i>Procion Eriochrome Black T</i> , <i>Procion Carmine Red</i> , dan <i>Procion Light green</i> (monoazo)	86%, 89%, 87%, 86%, dan 83%; pH 7,5; suhu 37°C; kondisi statis anaerobik; selama 24 jam; panjang gelombang 410 dan 510 nm.	(Mahmood et al., 2015)
Konsorsium <i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Bacillus</i> , dan <i>Ochrobactrum</i> sp.	<i>Reactive Red 195</i> (monoazo)	66%; pH 8,0; suhu 40°C; kondisi mikroaerofilik; selama 14 jam; panjang gelombang 254 dan 366 nm.	(Khan et al., 2014)
Konsorsium <i>Bacillus</i> sp. V1DMK, <i>Lysinibacillus</i> sp. V3DMK, <i>Bacillus</i> sp. V5DMK, <i>Bacillus</i> sp. V7DMK, <i>Ochrobacterium</i> sp. V10DMK, <i>Bacillus</i> sp. V12DMK	<i>Reactive violet 5R</i> (monoazo)	100%; pH 7,0; suhu 37°C; kondisi statis aerobik, selama 18 jam, panjang gelombang 558 nm.	(Jain et al., 2012)
Konsorsium <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Bacillus</i> sp., <i>Salmonella</i> sp., <i>Klebsiella</i> sp.	<i>Orange 3R</i> atau <i>Chrome Orange R</i> (monoazo)	89%; pH 6.0-8.0; suhu 4°C, 27°C, dan 37°C; kondisi gemetar aerobik; selama 144 jam; panjang gelombang 600 nm.	(Ponraj et al., 2011)
Konsorsium <i>Sphingomonas paucimobilis</i> dan <i>Bacillus</i> sp.	<i>Congo red</i> , <i>Methyl Red</i> , <i>Malachite Green</i> dan <i>Crystal Violet</i> (monoazo)	86,72%; pH 7.0; suhu 37°C; kondisi gemetar aerobik; selama 10 jam, panjang gelombang 255, 275, dan 365 nm	(Ayed et al., 2011).

2.1.5. Bakteri *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis merupakan bakteri gram positif berbentuk batang (*bacil* atau *rods*) tunggal dan berantai, monoflagellata tipe peritrik, memiliki panjang kurang dari 1 μm serta berdiameter 0,4 μm . Bakteri ini mampu membentuk endospora sehingga dapat bertahan dalam kondisi lingkungan ekstrem dan dapat tumbuh di berbagai media seperti media NA (*Nutrient Agar*) dan BAP (*Blood Agar Plate*) (Whitman et al., 2009). Keberadaannya di berbagai lingkungan yang didominasi berasal dari tanah bagian lapisan atas, perairan, dan tubuh mamalia serta dikelompokkan sebagai bakteri mesofilik (Caulier et al., 2019). Penampilan bakteri *Bacillus subtilis* pada media agar berupa koloni tidak beraturan (*irregular*), tepi bervariasi dari bergelombang (*undulate*) hingga berfilamen (*fimbriate*), berelevasi matriks mukoid di bawahnya (*umbonate*), dan berwarna putih keabu-abuan (Whitman et al., 2009). Bentuk morfologinya pada media agar dapat diamati pada gambar 2.2.



Gambar 2.2

(A) Fotomikograf *Bacillus subtilis* menggunakan mikroskop fase kontras perbesaran 2 μm (A), serta (B) *Bacillus subtilis* pada media NA setelah diinkubasi selama 24-37 jam pada suhu 37°C

Sumber: *Bergey's Manual Systematic of Bacteriology Second Edition Vol.3*

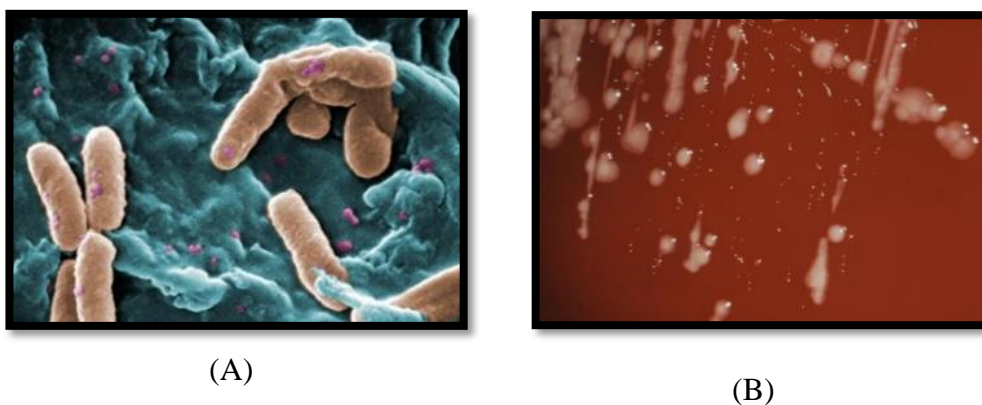
Serta adapun klasifikasi *Bacillus subtilis* meliputi sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria (Rinke et al., 2013)
Sub-kingdom : Posibacteria (Cavalier-Smith, 2002)
Phylum : Firmicutes (Whitman et al., 2009)
Class : Bacilli (Whitman et al., 2009)

<i>Order</i>	: Bacillales (Whitman et al., 2009)
<i>Family</i>	: Bacillaceae (Whitman et al., 2009)
<i>Genus</i>	: Bacillus (Whitman et al., 2009)
<i>Species</i>	: <i>Bacillus subtilis</i> (Whitman et al., 2009)

2.1.6. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri gram negatif yang strukturnya berbentuk batang (*rods*), monoflagellata, bakteri asporogenus (tidak membentuk spora), memiliki panjang 1-5 μm dan lebar 0,5-1 μm , mesofilik, serta berkembang di berbagai lingkungan yang tumbuh optimal pada suhu 37°C dan dapat tumbuh di kisaran suhu 4°C hingga 42°C (Diggle dan Whiteley, 2020; Wu et al., 2014). Keberadaan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang mayoritas tumbuh secara aerob banyak ditemukan di perairan berbanding lurus dengan kemampuannya memperoleh sumber nutrisi yang berbeda dan potensi adaptasi yang tinggi terhadap kondisi lingkungan baru (Klockgether et al., 2011). Bakteri ini dapat tumbuh di berbagai jenis media baik padat seperti MOPS *free acid* (3-[*N*-Morpholino]-*proane sulfonic acid*) maupun cair seperti LB (*Lactose Broth*) dalam kondisi aerobik maupun anaerobik (Chevalier et al., 2017). Penampilan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada berbagai media agar sebagian besar berupa koloni yang tidak beraturan, tepi bergelombang (*undulate*), berelevasi datar (*flat*), serta berwarna putih kekuningan (Noviar et al., 2019a). Preparasi bakteri ini sebelum dikultur dapat disimpan dalam suhu dingin 4°C selama satu minggu (LaBauve dan Wargo, 2012). Bentuk morfologinya secara spesifik dapat diamati pada gambar 2.3.



Gambar 2.3

(A) Morfologi *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscop*), serta (B) *Pseudomonas aeruginosa* pada media *Blood Agar Plate*

Sumber: (CDC Encyclopedia of Life, 2018)

Serta adapun klasifikasi *Pseudomonas aeruginosa* meliputi sebagai berikut:

<i>Kingdom</i>	: Bacteria (CDC Encyclopedia of Life, 2018)
<i>Sub-kingdom</i>	: Hydrobacteria (Battistuzzi dan Hedges, 2009)
<i>Phylum</i>	: Proteobacteria (Whitman et al., 2010)
<i>Class</i>	: Gammaproteobacteria (CDC Encyclopedia of Life, 2018)
<i>Order</i>	: Pseudomonadales (Diggle dan Whiteley, 2020)
<i>Family</i>	: Pseudomonadaceae (CDC Encyclopedia of Life, 2018)
<i>Genus</i>	: <i>Pseudomonas</i> (Diggle dan Whiteley, 2020)
<i>Species</i>	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Diggle dan Whiteley, 2020)

2.2. Hasil Penelitian yang Relevan

Dalam beberapa pencarian referensi pustaka, terdapat beberapa penelitian yang relevan dengan penelitian ini antara lain sebagai berikut :

1. Penelitian yang dilakukan oleh (Noviar et al., 2019b) menunjukkan bahwa bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Escherichia coli* dapat mendekolorisasi pewarna batik azo. Hal ini terbukti bahwa kedua mikroorganisme tersebut merupakan bakteri *indigenous local* pada limbah batik yang dapat mendekolorisasi pewarna batik.
2. Penelitian yang dilakukan oleh (Karim et al., 2018) menunjukkan bahwa penggunaan konsorsium *Bacillus* sp., *Neisseria* sp., *Vibrio* sp., dan *Aeromonas* sp. dapat mendekolorisasi pewarna reaktif tekstil lebih efektif dibandingkan dengan monokultur atau isolat tunggal pada limbah tekstil. Hal ini terbukti dengan efisiensi dekolorisasi konsorsium pada keempat jenis pewarna reaktif tersebut memiliki efisiensi 70-90% lebih tinggi dibandingkan masing-masing isolat. Efisiensi dekolorisasi pewarna reaktif *Novacron Orange FN-R* (konsorsium 70%), *Novacron Brilliant Blue FN-R* (konsorsium 80%), *Novacron Super Black G* (konsorsium 90%), *Bezema Yellow S8-G* (konsorsium 65%) dan *Bezema Red S2-B* (75%) selama inkubasi 6 hari dalam kondisi statis aerobik, pada pH 7.0, suhu 37°C, dengan konsentrasi pewarna 100 mg/L, serta puncak absorbansi pada panjang gelombang 490 nm, 610 nm, 600 nm, 410 nm, dan 530 nm.

3. Penelitian yang dilakukan oleh (Ponraj et al., 2011) menunjukkan bahwa konsorsium bakteri *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Salmonella* sp., *Klebsiella* sp. dapat mendekolorisasi pewarna *Orange 3R* atau *Chrome Orange R* (monoazo) dengan nilai efisiensi sebesar 89%; pH 6.0-8.0; suhu 37°C; kondisi gemetar aerobik; selama 144 jam serta puncak absorbansi pada panjang gelombang 600 nm.
4. Penelitian yang dilakukan oleh (Joe et al., 2011) menunjukkan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat mendekolorisasi pewarna reaktif *Remazol Black B* yang termasuk kelompok pewarna diazo pada limbah tekstil. Hal ini terbukti bahwa efisiensi dekolorasinya sebesar 96% dengan konsentrasi pewarna 5 mg/L pada suhu 37°C; pH 7.0; kondisi statis dan gemetar aerobik, diinkubasi selama 72 jam (3 hari), serta puncak absorbansi pada panjang gelombang 595 nm.

2.3. Kerangka Konseptual

Limbah cair batik berasal dari proses pencelupan, perebusan, dan pembilasan kain saat tahap pewarnaan batik. Karakteristik limbah batik dapat diamati secara fisik, kimiawi, dan biologis. Selain itu, limbah cair batik juga mengandung berbagai jenis logam berat yang memiliki toksisitas tinggi dan mikroorganisme *indigenous local* di dalamnya. Limbah yang dihasilkan industri batik melebihi ambang batas baku mutu lingkungan standar Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan RI dan standar internasional program ZDHC (*Zero Discharge of Hazardous Chemicals*) yang terbukti dari beberapa hasil pengukuran parameter kualitas lingkungan seperti kadar BOD, COD, logam berat, dan pH di sejumlah industri batik seluruh Indonesia. Adapun penyebab tingginya toksisitas limbah disebabkan oleh kandungan pewarna sintetik azo yang cukup tinggi sekitar 75% dari keseluruhan penggunaan pewarna tersebut. Pemanfaatan pewarna sintetik pada produksi batik hampir sebagian besar mengandung senyawa azo. Oleh sebab itu, toksisitas limbah cair batik dipengaruhi oleh berbagai kandungan yang kompleks dan disebabkan oleh keberadaan zat pewarna sintetik azo.

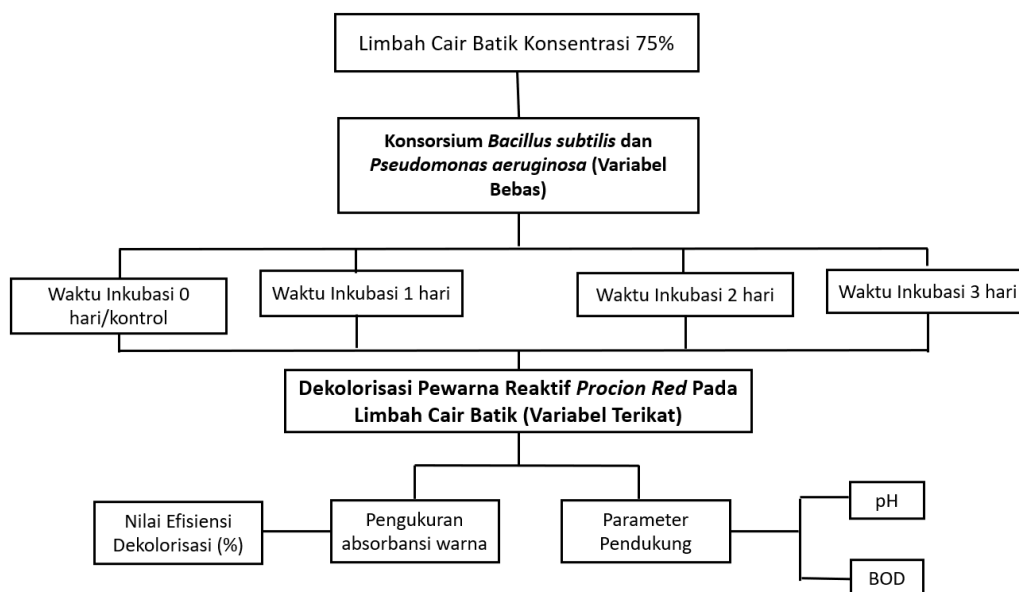
Limbah cair batik mengkonsumsi banyak penggunaan media air terutama saat tahap pewarnaan kain. Serta keberadaan pewarna dapat meningkatkan toksisitas limbah cair batik. Hal ini terjadi karena zat warna mengandung logam berat yang berbahaya seperti kromium, timbal, dan kadmium. Secara umum, pewarna yang digunakan terdiri dari pewarna sintetis dan pewarna alami. Akan tetapi, saat ini pewarna yang banyak digunakan oleh para pengrajin batik adalah pewarna sintetis. Alasannya dikarenakan pewarna sintetis dapat mempercepat proses perlekatan warna pada kain, harga relatif murah dan terjangkau, warna lebih cerah, kontras, dan bervariasi, serta mudah didapatkan. Adapun pewarna sintetis yang digunakan oleh para pengrajin batik di kawasan sentra batik Kota Tasikmalaya adalah pewarna garam naphthol, indigosol, reaktif *procion*, reaktif *remazol*, direk, dan *disperse*. Hampir sebagian besar jenis pewarna tersebut mengandung senyawa azo yang banyak digunakan pada industri tekstil. Dalam jangka panjang, keberadaan senyawa azo dapat merusak ekosistem perairan sekitar warga. Sehingga, penggunaan pewarna sintetis dan air dalam produksi batik banyak memberikan dampak yang buruk bagi lingkungan.

Berdasarkan hasil survei prapenelitian, terdapat industri batik di kawasan sentra batik Kota Tasikmalaya masih berskala *home industry* serta mayoritas belum memahami pemanfaatan sistem IPAL. Kawasan sentra batik Kota Tasikmalaya berada dalam 2 kelurahan yaitu kelurahan Nagarasari dan kelurahan Parakanyasag. Limbah cair yang dihasilkan oleh 19 industri batik dibuang langsung ke selokan permukiman warga dan DAS Citanduy-Ciloseh yang masih tampak berwarna saat keluar dari pipa pembuangan. Terdapat tiga saluran IPAL (Instalasi Pengolahan Air Limbah) di kawasan sentra batik Kota Tasikmalaya yang lokasinya berada di industri batik deden dan Agnessa berupa IPAL sederhana atau mandiri, serta di bantaran DAS Citanduy-Ciloseh berupa IPAL komunal. Penggunaan IPAL yang semuanya diberikan oleh pemerintah provinsi Jawa Barat di tahun 2012 dengan dana ratusan juta rupiah tidak terealisasi dengan baik karena penempatan IPAL yang kurang memadai, kendala teknis berupa pencurian pompa IPAL, kerusakan saluran pipa yang menghubungkan pembuangan limbah berbagai industri batik yang disebabkan banjir pada tahun 2020 dan hingga kini belum diusulkan dalam

rencana pembangunan daerah (Musrenbang). Bahkan, salah satu warga menyebutkan pernah terjadi kematian pada sejumlah ikan yang berada di kolam warga disebabkan oleh kontaminasi air limbah batik. Sehingga diperlukan upaya guna meminimalisir toksisitas limbah cair batik di kawasan sentra batik Kota Tasikmalaya yang dibuang ke badan perairan.

Saat ini, upaya mengatasi permasalahan lingkungan banyak dilakukan dengan bioremediasi. Berbagai mikroorganisme yang berada pada limbah cair batik sebagian besar berupa bakteri seperti *Bacillus aereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, dan lain sebagainya. Keberadaan mikroorganisme tersebut dapat dikembangkan dalam skala laboratorium guna mengurangi toksisitas limbah batik. Penggunaan konsorsium mikroorganisme lebih efektif dibandingkan dengan isolat tunggal yang disebabkan oleh interaksi mikroorganisme dapat meningkatkan kapasitas degradasi limbah secara total. Secara tidak langsung, penurunan toksisitas limbah sejalan dengan dekolorisasi yang disebabkan oleh keberadaan pewarna sintetik meningkatkan toksisitas limbah batik. Dekolorisasi dapat mengurangi toksisitas limbah cair batik dengan cara mengurangi kadar zat warna didalamnya. Pada penelitian ini, pemanfaatan konsorsium *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa* diujicoba untuk mengukur absorbansi zat warna dengan panjang gelombang antara 400 sampai 600 nm dengan waktu inkubasi selama 0, 1, 2, dan 3 hari yang nantinya dimasukkan ke dalam rumus pengukuran persentase dekolorisasi pada limbah cair batik. Alasan penggunaan kedua bakteri tersebut adalah keduanya dikenal sebagai bakteri yang efektif dalam dekolorisasi pewarna reaktif serta efisiensi dekolorisasinya cukup tinggi berkisar 50-90% baik dalam bentuk isolat tunggal maupun konsorsium mikroorganisme yang aktivitasnya melibatkan enzim azoreduktase. Sampel diambil dari salah satu industri batik yang mewakili daerah sentra batik Kota Tasikmalaya, yaitu: Batik Sukapura berlokasi di Kampung Cigeureung yang mana menurut pemilik UMKM produksinya lebih dominan menggunakan pewarna reaktif *Procion Red*. Menurut pemilik UMKM batik Sukapura, jumlah pewarna yang ditambahkan setiap proses pewarnaan adalah ± 20 gr/L air. Adapun penghitungan efektivitas dekolorisasi limbah cair batik yang

memperlihatkan persentase absorbansi zat warna juga menggunakan parameter pendukung kualitas lingkungan seperti kadar BOD (*Biological Oxygen Demand*) dan pH. Kerangka konseptual dalam penelitian ini lebih jelasnya bisa dilihat pada gambar 2.4.



Gambar 2.4
Kerangka Konseptual
Sumber: Data Pribadi

2.4. Hipotesis Penelitian

Agar penelitian dapat terarah dan sesuai dengan tujuan penelitian, maka dirumuskan hipotesis atau jawaban sementara sebagai berikut:

H_0 : Tidak terdapat pengaruh efektivitas penggunaan konsorsium *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa* terhadap dekolorisasi pewarna sintetik pada limbah cair batik

H_a : Terdapat pengaruh efektivitas penggunaan konsorsium *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa* terhadap dekolorisasi pewarna sintetik pada limbah cair batik