

**BIODEKOLORISASI *DIRECT RED 80* OLEH BAKTERI
TERMOFILIK DARI SUMBER AIR PANAS ASAL SEMENDO**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di
Jurusan Biologi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sriwijaya**

Oleh:

**RIJAL ABDUL HADI HARAHAP
08041281924051**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2023**

HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI

Judul Skripsi : Biodekolorisasi *Direct Red 80* Oleh Bakteri Termofilik Dari Sumber Air Panas Asal Semendo

Nama Mahasiswa : Rijal Abdul Hadi Harahap

NIM : 08041281924051

Jurusan : Biologi

Telah disetujui untuk disidangkan pada tanggal 24 Februari 2023

Indralaya, Februari 2023

Pembimbing :

Dra. Muharni, M.Si.
NIP. 196306031992032001

(..........)

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Makalah Seminar : Biodekolorisasi *Direct Red 80* Oleh Bakteri Termofilik Dari Sumber Air Panas Asal Semendo

Nama Mahasiswa : Rijal Abdul Hadi Harahap

NIM : 08041281924051

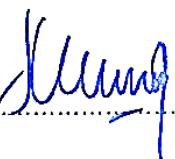
Jurusan : Biologi

Telah dipertahankan dihadapan Pembimbing dan Pembahas Sidang Sarjana Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada Tanggal 24 Februari 2023 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai dengan masukkan yang diberikan.

Indralaya, Maret 2023

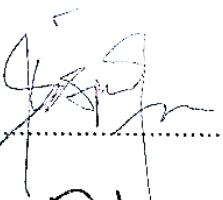
Pembimbing :

Dra. Muharni, M.Si.
NIP. 196306031992032001

(.....) 

Pembahas :

Dr. Elisa Nurnawati, S.Si., M.Si.
NIP. 197504272000122001

(.....) 
(.....) 

Dwi Hardestyariki, S.Si., M.Si.
NIP. 198812112019032012

(.....)

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sriwijaya



Dr. Arum Setiawan, S.Si., M.Si.
NIP. 197211221998031001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Rijal Abdul Hadi Harahap
NIM : 08041281924051
Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/
Biologi

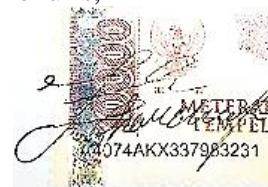
Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan Strata Satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain.

Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.



Indralaya, Maret 2023
Penulis,



Rijal Abdul Hadi Harahap
NIM. 08041281924051

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Rijal Abdul Hadi Harahap
NIM : 08041281924051
Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/
Biologi
Jenis karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “Hak bebas royaliti non-eksklusif (*non-exclusively royalty-free right*)” atas karya ilmiah saya yang berjudul:

“Biodekolorisasi *Direct Red 80* Oleh Bakteri Termofilik Dari Sumber Air Panas Asal Semendo”

Dengan hak bebas royaliti non-eksklusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih media/memformatkan, mengelolah dalam bentuk pangkalan data (*data base*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, Maret 2023
Penulis,



Rijal Abdul Hadi Harahap
NIM. 08041281924051

HALAMAN PERSEMBAHAN

Atas berkat rahmat, belas kasih, dan pengajaran dari sang Maha Agung, Allah S.W.T, sebagai Tuhan, guru, dan teman bagi diriku. Ku dedikasikan karya ini sebagai bentuk pengabdian ku untuk kejayaan sang Tuhan, tanggung jawabku kepada kedua orang tua ku, serta kontribusi ku untuk kemajuan ilmu pengetahuan dan peradaban.

MOTTO

“Glory for Allah SWT, Equality, and Liberty”

“Jangan hanya berkata kamu sudah membaca banyak buku. Tunjukkan bahwa melalui buku-buku tersebut kamu telah belajar untuk berpikir lebih baik, menjadi seseorang yang bijak memilih, memilah, dan merenung. Buku-buku bagaikan latihan beban bagi pikiran. Buku sangat membantu, tetapi sangatlah keliru jika kita mengira kita sudah menjadi lebih baik hanya dengan menghafal buku itu”

Epictetus (Discourses)

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadirat Allah S.W.T dikarenakan berkat rahmat dan karunia-Nya, maka penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Biodekolorisasi Direct Red 80 Oleh Bakteri Termofilik Dari Sumber Air Panas Asal Semendo”** sebagai syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Terima kasih kepada Ibu Dra. Muharni, M.Si. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, saran, dukungan, dedikasi, nasihat, dan kesabarannya selama pelaksanaan penelitian serta penulisan skripsi ini. Ucapan terima kasih juga penulis haturkan kepada Ibu Dr. Elisa Nurnawati, S.Si., M.Si., dan Ibu Dwi Hardetyariki, S.Si., M.Si. selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan arahan kepada penulis dalam merampungkan skripsi ini.

Penulis menyadari berkat bantuan, bimbingan, dan masukkan dari berbagai pihak, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. H. Anis Saggaf, MSCE selaku rektor Universitas Sriwijaya.
2. Prof. Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
3. Dr. Arum Setiawan, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
4. Dr. Sarno, M.Si. selaku Sekretaris Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya dan selaku pembimbing

akademik yang telah memberikan bimbingan dan nasehatnya selama proses perkuliahan.

5. Kak Agus Wahyudi, S.Si. sebagai sahabat dan guru yang selalu mengajarkan berbagai ilmu dan pengalamannya selama proses penyusunan tugas akhir berlangsung.
6. Ibu Rosmania, S.T. selaku analis Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi yang membantu penulis selama proses penelitian berlangsung.
7. Teman-teman seperjuanganku tim lembur (Anggi, Hanin, Rischa, dan Shaumi, Devi, Dhika, Uut, dan Ayu), tim kumpul-kumpul (Pringga, Nanda, dan Muthiah), Temen-temen yang bantuin revisi (Exaudi, Wahyu, Nadine, dan Iqbal), dan Kakak-kakak Biologi angkatan 2018 (Dinda Sari, Alifia, Sasti, dan Nadjun) yang telah membantu penulis selama proses penyusunan tugas akhir.
8. Seluruh dosen dan staff karyawan Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis mengharapkan skripsi ini dapat bermanfaat bagi civitas akademik dan masyarakat umum. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini, sehingga kritik dan saran terkait skripsi ini sangat diterima untuk kebaikan di masa yang akan datang.

Indralaya, Maret 2023
Penulis,



Rijal Abdul Hadi Harahap
NIM. 08041281924051

BIODECOLORIZATION of DIRECT RED 80 by THERMOPHILIC BACTERIA FROM SEMENDO HOT SPRINGS

**Rijal Abdul Hadi Harahap
08041281924051**

SUMMARY

Synthetic dye waste direct red 80 from the textile industry and textile products is very difficult to degrade in nature due to its complex structure and is highly toxic. Several microorganisms, one of which is bacteria, are known to have the ability to decolorize synthetic dyes. The condition of dye waste which tends to have an alkaline pH, high temperature, and toxic organic compounds means that not all bacteria can be used as dye-decolorizing agents. Further exploration and identification of thermophilic bacteria originating from hot springs, especially from Semendo, needs to be carried out to obtain bacteria that have the potential to be biodecolorizing agents for synthetic dyes.

This research aims to obtain isolates of thermophilic bacteria that have the potential to decolorize direct red 80 dye, determine the optimum conditions (pH, temperature, and agitation speed) for growth and biodecolorization activity of dyes, analyze the safety of products resulting from direct red 80 biodecolorization using FT-IR analysis, and identify potential thermophilic bacterial species based on the analysis of the 16S rRNA gene sequences as well as the construction of the phylogenetic tree. This research was conducted from August 2022 to January 2023 at the Genetics and Biotechnology Laboratory, Microbiology Laboratory, Physiology and Development Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University, Indralaya.

The stages of the research consisted of rejuvenation, broth culture preparation, selection of thermophilic bacteria to decolorize direct red 80, measurement of decolorization ability, optimization (pH, temperature, and agitation speed), analysis of decolorized products, characterization, and genotypic identification using the 16S rRNA gene barcode. All bacterial isolates from Semendo hot springs were able to decolorize direct red 80 at a concentration of 80 ppm for 5 days with the highest decolorizing ability owned by SAA isolates of $59,82 \pm 0,89\%$. The optimum percentage of decolorization power of SAA isolates was $66,94 \pm 0,48\%$ at pH 9, temperature 75°C , with an agitation speed of 120 rpm. The results of the FT-IR spectrum analysis indicated the detection of amine groups in the direct red 80 decolorization product by SAA isolate that can be evaluated by the formation of peaks at $1635,00\text{ cm}^{-1}$, $1154,13\text{ cm}^{-1}$, and $1076,31\text{ cm}^{-1}$. The DNA sequence of Isolate SAA has a high similarity with *Paenibacillus phoenicis* strain 3PO2SA, which is 98,55%.

Keywords: Biodecolorization, Termophilic bacteria, Direct Red 80, Barcoding 16S rRNA

BIODEKOLORISASI *DIRECT RED* 80 OLEH BAKTERI TERMOFILIK DARI SUMBER AIR PANAS ASAL SEMENDO

**Rijal Abdul Hadi Harahap
08041281924051**

RINGKASAN

Limbah zat warna sintetik *direct red* 80 industri tekstil dan produk tekstil sangat sulit diuraikan di alam disebabkan strukturnya yang kompleks dan bersifat sangat toksik. Beberapa mikroorganisme salah satunya bakteri diketahui memiliki kemampuan biodekolorisasi zat warna sintetik. Kondisi limbah zat warna industri TPT yang cenderung memiliki pH basa, suhu tinggi, dan kaya akan senyawa organik toksik menyebabkan tidak semua bakteri dapat dimanfaatkan sebagai agen biodekolorisasi zat warna. Eksplorasi dan identifikasi lebih lanjut terhadap bakteri termofilik yang bersumber dari sumber air panas khususnya asal Semendo perlu dilakukan agar didapatkan bakteri yang berpotensi sebagai agen biodekolorisasi zat warna sintetik.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat bakteri termofilik yang berpotensi mendekolorisasi zat warna *direct red* 80, mengetahui kondisi optimum (pH, suhu, dan kecepatan agitasi) terhadap pertumbuhan dan aktivitas biodekolorisasi zat warna, menganalisis keamanan produk hasil biodekolorisasi *direct red* 80 dengan analisis FT-IR, dan mengetahui spesies bakteri termofilik yang berpotensi berdasarkan analisis sekuens gen 16S rRNA sekaligus konstruksi pohon filogenetiknya. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2022 sampai dengan Januari 2023 di Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Fisiologi dan Pekembangan Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya.

Tahapan penelitian terdiri dari peremajaan bakteri, pembuatan kultur cair, seleksi bakteri termofilik untuk biodekolorisasi *direct red* 80, pengukuran daya biodekolorisasi, optimasi (pH, suhu, dan kecepatan agitasi), analisis produk hasil biodekolorisasi, karakterisasi, dan identifikasi secara genotipik menggunakan *barcoding* gen 16S rRNA. Semua isolat bakteri yang berasal dari sumber air panas asal Semendo mampu mendekolorisasi *direct red* 80 pada konsentrasi 80 ppm selama 5 hari dengan persentase daya biodekolorisasi terbesar dimiliki oleh isolat SAA sebesar $59,82 \pm 0,89\%$. Persentase daya biodekolorisasi isolat SAA optimum sebesar $66,94 \pm 0,48\%$ pada pH 9, suhu 75°C, dengan kecepatan agitasi 120 rpm. Hasil analisis spektrum FT-IR mengindikasikan terdeteksinya gugus fungsi amina pada produk hasil biodekolorisasi *direct red* 80 oleh isolat SAA ditandai terbentuknya *peak* pada bilangan gelombang 1635,00 cm^{-1} , 1154,13 cm^{-1} , dan 1076,31 cm^{-1} . Sekuen Isolat SAA memiliki tingkat kemiripan yang tinggi dengan *Paenibacillus phoenicis* strain 3PO2SA yaitu sebesar 98,55%.

Kata Kunci: Biodekolorisasi, Bakteri Termofilik, *Direct Red* 80, *Barcoding* 16S rRNA

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH.....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
SUMMARY.....	ix
RINGKASAN.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Pewarna Sintetik Golongan Azo.....	6
2.2 <i>Direct Red 80</i>	8
2.3 Bakteri Termofilik.....	9
2.4 Biodegradasi Pewarna Azo Dengan Bakteri.....	10
2.5 DNA <i>Barcoding</i>	13
2.6 Gen 16S rRNA.....	14
2.7 <i>Polymerase Chain Reaction</i>	15
2.8 Elektroforesis Gel Agarosa.....	16
2.9 Analisis Filogenetik.....	17
2.10 <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)</i>	19
BAB III METODE PENELITIAN.....	21
3.1 Waktu dan Tempat.....	21
3.2 Alat dan Bahan.....	21
3.2.1 Alat.....	21
3.2.2 Bahan.....	22
3.3 Cara Kerja.....	22
3.3.1 Peremajaan Bakteri.....	22
3.3.2 Pembuatan Kultur Cair.....	23
3.3.3 Seleksi Kemampuan Bakteri Termofilik Untuk Mendekolorisasi Zat Warna <i>Direct Red 80</i>	23
3.3.4 Pengukuran Daya Biodekolorisasi Zat Warna.....	24
3.3.5 Optimasi Pertumbuhan Bakteri Untuk Meningkatkan Daya Biodekolorisasi Zat Warna <i>Direct Red 80</i>	25

3.3.5.1 Optimasi pH.....	25
3.3.5.2 Optimasi Suhu.....	25
3.3.5.3 Optimasi Kecepatan Agitasi.....	26
3.3.6 Analisis Produk Hasil Biodekolorisasi <i>direct red 80</i>	27
3.3.6.1 Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	27
3.3.6.2 Analisis <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i> (FT-IR).....	27
3.3.7 Karakterisasi dan Identifikasi.....	28
3.3.7.1 Karakterisasi Morfologi Bakteri.....	28
3.3.7.1.1 Pengamatan Morfologi Koloni.....	28
3.3.7.1.2 Pewarnaan Gram.....	28
3.3.7.1.3 Pewarnaan Endospora.....	29
3.3.7.2 DNA <i>Barcode</i> Gen 16S rRNA.....	30
3.3.7.2.1 Ekstraksi DNA.....	30
3.3.7.2.2 Amplifikasi Gen 16S rRNA.....	31
3.3.7.2.3 Elektroforesis.....	32
3.3.7.2.4 Sekuensing.....	32
3.3.7.2.5 Analisis BLAST dan Konstruksi Pohon Filogenetik.....	32
3.3.8 Analisis Data.....	33
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	34
4.1 Hasil Seleksi Bakteri Termofilik.....	34
4.2 Optimasi Pertumbuhan Isolat Bakteri Termofilik Untuk Meningkatkan Kemampuan Biodekolorisasi <i>Direct Red 80</i>	35
4.2.1 Optimasi pH.....	35
4.2.2 Optimasi Suhu.....	36
4.2.3 Optimasi Kecepatan Agitasi.....	37
4.3 Analisis Produk Hasil Biodekolorisasi <i>Direct Red 80</i>	39
4.3.1 Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	39
4.3.2 Analisis <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i> (FT-IR).....	40
4.4 Hasil Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri.....	42
4.4.1 Karakterisasi Morfologi Bakteri.....	42
4.4.2 <i>Barcode</i> Gen 16S rRNA.....	43
4.4.2.1 Ekstraksi DNA Genom Isolat Bakteri Termofilik Yang Berpotensi Sebagai Agen Biodekolorisasi <i>Direct Red 80</i>	43
4.4.2.2 Amplifikasi Gen 16S rRNA Isolat Bakteri Termofilik Yang Berpotensi Sebagai Agen Biodekolorisasi <i>Direct Red 80</i>	45
4.4.2.3 Identifikasi dan Analisis Kekerabatan Isolat Bakteri Termofilik Yang Berpotensi Sebagai Agen Biodekolorisasi <i>Direct Red 80</i>	45
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	49
5.1 Kesimpulan.....	49
5.2 Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA.....	51
LAMPIRAN.....	63

DAFTAR TABEL

Tabel.3.1. Daftar primer yang digunakan.....	22
Tabel.4.1. Hasil pengamatan morfologi koloni isolat SAA.....	42
Tabel.4.2. Hasil pengamatan morfologi Sel isolat SAA.....	43
Tabel.4.3. Hasil identifikasi isolat SAA dengan teknik BLAST	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Berbagai keabnormalan pada sel insang ikan <i>Catla catla</i> yang terpapar pewarna azo RR120.....	7
Gambar 2.2. Struktur kimia 2D dari <i>direct red 80</i>	9
Gambar 2.3. Mekanisme pemutusan ikatan Azo <i>direct red 80</i> oleh enzim azoreduktase.....	13
Gambar 2.4. Daerah spektrum <i>mid-IR</i>	20
Gambar 4.1. Hasil seleksi uji biodekolorisasi <i>direct red 80</i> oleh isolat bakteri termofilik dari sumber air panas asal Semendo.....	34
Gambar 4.2. Pengaruh pemberian seri perlakuan pH terhadap isolat SAA.....	35
Gambar 4.3. Pengaruh pemberian seri perlakuan suhu terhadap isolat SAA.....	37
Gambar 4.4. Pengaruh pemberian seri perlakuan kecepatan agitasi terhadap isolat SAA.....	38
Gambar 4.5. Analisis kromatografi lapis tipis (KLT) produk hasil Biodekolorisasi isolat SAA.....	39
Gambar 4.6. Spektrum FT-IR produk hasil biodekolorisasi isolat SAA....	41
Gambar 4.7. Elektroforegram hasil ekstraksi DNA genom isolat SAA (pada agarose 1%).....	44
Gambar 4.8. Elektroforegram DNA hasil PCR gen 16S rRNA isolat SAA.....	45
Gambar 4.9. Pohon filogenetik isolat SAA berdasarkan analisis <i>neighbor-joining</i>	47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Komposisi Media <i>Mineral Salt Medium</i> (MSM).....	63
Lampiran 2.	Komposisi buffer TBE 1X.....	64
Lampiran 3.	Morfologi koloni bakteri termofilik dari sumber air panas asal Semendo.....	65
Lampiran 4.	Morfologi sel bakteri isolat SAA.....	67
Lampiran 5.	Hasil uji biodekolorisasi <i>direct red</i> 80 oleh isolat bakteri termofilik dari sumber air panas asal Semendo.....	68
Lampiran 6.	Data hasil pengukuran dengan spektrofotometer pada $\lambda=600$ nm (OD600).....	69
Lampiran 7.	Data jumlah bakteri (CFU/ml) setelah 5 hari inkubasi.....	70
Lampiran 8.	Data hasil pengukuran konsentrasi <i>direct red</i> 80 dengan spektrofotometer pada $\lambda=524$ nm.....	71
Lampiran 9.	Data persentase daya dekolorisasi <i>direct red</i> 80.....	72
Lampiran 10.	Analisis FT-IR produk hasil biodekolorisasi <i>direct red</i> 80...	73
Lampiran 11.	Hasil uji kuantitatif hasil ekstraksi DNA genom bakteri isolat SAA dengan spektrofotometer (<i>NanoDrop Lite, ThermoScientific</i>).....	74
Lampiran 12.	Hasil <i>alignment</i> pada laman NCBI antara sekuen isolat SAA dengan <i>Paenibacillus phoenicis</i> strain 3PO2SA.....	75
Lampiran 13.	Analisis <i>pairwise distance</i> sekuen isolat SAA dengan 10 sekuen bakteri uji dari <i>data base</i>	77

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Industri Tekstil dan Produk Tekstil (TPT) berperan penting dalam membantu pertumbuhan ekonomi di Indonesia dimana pada tahun 2019 industri ini menyumbang sebesar 8,66% dari total ekspor non-migas nasional (Putra *et al.*, 2021). Dalam kegiatan produksinya, industri TPT sangat bergantung pada penggunaan zat warna sintetik khususnya dari golongan azo. Salah satu jenis pewarna azo yang umum digunakan dalam industri TPT adalah *direct red 80* (Christiany *et al.*, 2019).

Zat warna sintetik yang dapat berikatan dengan serat tekstil hanya sekitar 85-90% dan sisanya terbuang ke lingkungan sebagai limbah. Limbah zat warna memiliki kandungan logam berat yang tinggi sehingga apabila mencemari badan air dapat memicu peningkatan nilai pH, *Biological Oxygen Demand* (BOD), dan *Chemical Oxygen Demand* (COD). Selain itu, senyawa toksik yang terkandung pada pewarna azo bersifat karsinogenik dan mutagenik bagi berbagai hewan air maupun darat (Sarkar *et al.*, 2017). Pengolahan limbah secara biologis dengan bakteri sebagai agen biodekolorisasi perlu dilakukan untuk mengurangi efek negatif yang disebabkan oleh limbah zat warna (Pinheiro *et al.*, 2022).

Suhu limbah zat warna yang tinggi (50-80°C) menyebabkan tidak semua jenis bakteri dapat dimanfaatkan sebagai agen biodekolorisasi zat warna sintetik. Bakteri termofilik dinilai berpotensi sebagai agen biodekolorisasi disebabkan memiliki

beberapa keunggulan, seperti mampu tumbuh optimal pada suhu tinggi (45-112°C), pH antara 7,5-8,5, toleransi yang tinggi terhadap bahan organik, dan mampu menghasilkan enzim termostabil (Pandey *et al.*, 2015). Enzim termostabil pada bakteri termofilik berperan penting dalam proses biodegradasi dan detoksifikasi, dimana kinerjanya cenderung meningkat pada suhu lingkungan yang relatif tinggi (Mahmood *et al.*, 2015).

Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Muharni *et al.* (2018), menunjukkan bakteri termofilik yang diisolasi dari sumber air panas Tanjung Sakti (Sumatera Selatan) mampu mendekolorisasi zat warna sintetik *direct blue*. *Anoxybacillus rupiensis* memiliki daya biodekolorisasi sebesar 83,25% pada konsentrasi limbah 80% (v/v) dan *Anoxybacillus flavithermus* sebesar 69% pada konsentrasi limbah 40% (v/v). Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Rajashekharappa *et al.* (2022), menunjukkan *Geobacillus thermoleovorans* KNG 112 yang diisolasi dari sumber air panas Bandaru (India) mampu medekolorisasi *amaranth* RI sebesar 60% dan *fast red E* sebesar 75% masing-masing di pH 7 dan 8 pada suhu 55°C.

Bakteri termofilik juga diketahui mampu mendekolorisasi zat warna sintetik yang sangat toksik bagi organisme lain, seperti *direct black G* dan juga mampu bertahan pada lingkungan dengan kandungan logam berat yang tinggi (Aragaw *et al.*, 2022). Penelitian lain yang dilakukan oleh Gianolini *et al.* (2021), mengkonfirmasi bahwa enzim termostabil, yaitu lakase yang diisolasi dari *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 10149 mampu mendekolorisasi *remazol*

brilliant blue R sampai 90% dan mempertahankan 70% aktivitas awalnya sampai 24 hari perlakuan dengan rentang suhu 25-60°C.

Eksplorasi lebih lanjut terhadap bakteri termofilik dari sumber air panas sebagai agen biodekolorisasi zat warna, khususnya *direct red* 80 penting untuk dilakukan. Selain itu, optimasi pH, suhu, dan kecepatan agitasi perlu dilakukan untuk mengetahui kondisi terbaik bakteri termofilik dalam mendekolorisasi zat warna. Sumatera Selatan diketahui memiliki beberapa sumber air panas terutama di sekitar Kecamatan Semendo, Kabupaten Muara Enim. Suhu sumber air panas asal Semendo berkisar 60-85°C dengan pH air 4-8,5. Kondisi lingkungan ini sangat potensial untuk didapatkannya berbagai jenis bakteri termofilik yang berpotensi sebagai agen biodekolorisasi zat warna.

Pengidentifikasiannya melalui pendekatan genotipik dengan DNA *barcoding* dapat dilakukan untuk memberikan informasi yang lebih spesifik dan akurat tentang spesies bakteri termofilik yang berpotensi. DNA *Barcode* memanfaatkan sekuen pendek DNA dari *standard region* pada genom dan biomarker salah satunya gen 16S rRNA (Wirawan *et al.*, 2021). Penggunaan gen 16S rRNA sebagai biomarker memiliki berbagai keuntungan, seperti bersifat identik pada berbagai organisme dan ubikuitas, dapat digunakan sebagai kronometer evolusi karena jarak evolusinya dapat berubah, memiliki bagian yang konservatif untuk merekonstruksi pohon filogenetik universal, dan memiliki bagian yang *hyper variable region* yang memudahkan identifikasi bakteri (Akihary dan Beivy, 2020).

1.2 Rumusan Masalah

Limbah zat warna sintetik *direct red* 80 industri TPT sangat sulit diuraikan di alam disebabkan strukturnya yang kompleks dan bersifat sangat toksik. Beberapa organisme khususnya bakteri, diketahui memiliki kemampuan biodekolorisasi zat warna sintetik. Namun, kondisi limbah zat warna industri TPT yang cenderung memiliki pH basa, suhu tinggi (50-80°C), dan kaya akan senyawa organik toksik menyebabkan tidak semua bakteri dapat dimanfaatkan sebagai agen biodekolorisasi zat warna. Eksplorasi dan identifikasi lebih lanjut terhadap bakteri termofilik yang bersumber dari air panas khususnya asal Semendo perlu dilakukan agar didapatkan bakteri yang mampu mendekolorisasi zat warna khususnya yang mampu hidup pada rentang pH yang luas, suhu tinggi, tahan terhadap senyawa organik toksik, dan menguraikannya menjadi senyawa yang kurang toksik. Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah isolat bakteri yang diisolasi dari sampel air dan lumpur sumber air panas asal Semendo mampu mendekolorisasi zat warna sintetik *direct red* 80?
2. Bagaimana pengaruh suhu, pH, dan kecepatan agitasi yang berbeda terhadap pertumbuhan dan aktivitas dekolorisasi zat warna sintetik *direct red* 80 isolat bakteri termofilik dari sumber air panas asal Semendo?
3. Apakah produk hasil biodekolorisasi zat warna sintetik *direct red* 80 oleh isolat bakteri termofilik dari sumber air panas asal Semendo mengandung senyawa yang bersifat toksik bagi lingkungan berdasarkan analisis FT-IR?

4. Apa jenis atau spesies bakteri termofilik yang berpotensi sebagai agen biodekolorisasi zat warna sintetik *direct red* 80 berdasarkan analisis sekuens gen 16S rRNA serta hubungan filogenetiknya?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memperoleh isolat bakteri termofilik yang berpotensi mendekolorisasi zat warna sintetik *direct red* 80
2. Mengetahui suhu, pH, dan kecepatan agitasi yang optimum untuk pertumbuhan bakteri termofilik dan aktivitas biodekolorisasi zat warna sintetik *direct red* 80 isolat bakteri termofilik dari sumber air panas asal Semendo
3. Menganalisis terbentuk atau tidaknya senyawa yang bersifat toksik pada produk hasil biodekolorisasi zat warna sintetik *direct red* 80 oleh bakteri termofilik dengan analisis FT-IR
4. Mengetahui jenis atau spesies bakteri termofilik yang berpotensi sebagai agen biodekolorisasi zat warna sintetik *direct red* 80 berdasarkan analisis sekuens gen 16S rRNA sekaligus konstruksi pohon filogenetiknya

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan mampu menjadi sumber data mengenai bakteri termofilik yang mampu mendekolorisasi zat warna sintetik terutama *direct red* 80 yang selanjutnya dapat dimanfaatkan sebagai agen biodekolorisasi limbah zat warna sintetik industri TPT sekaligus mengurangi dampak negatif dari cemaran pewarna tekstil dan lebih aman saat dibuang ke lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Akihary, C. V., & Kolondam, B. J. (2020). Pemanfaatan Gen 16S rRNA Sebagai Perangkat Identifikasi Bakteri Untuk Penelitian-Penelitian di Indonesia. *pharmacon*, 9(1), 16-22.
- Aragaw, T. A., Bogale, F. M., & Gessesse, A. (2022). Adaptive response of thermophiles to redox stress and their role in the process of dye degradation from textile industry wastewater. *Frontiers in Physiology*, 1220.
- Christiany, A. (2019). Potensi Teknis-Ekonomis Daur Ulang Air Limbah Industri Tekstil Menggunakan Aplikasi Arang Aktif. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan (Journal of Natural Resources and Environmental Management)*, 9(2), 229-240.
- Gianolini, J. E., Britos, C. N., Mulreedy, C. B., & Trelles, J. A. (2020). Hyperstabilization of a thermophile bacterial laccase and its application for industrial dyes degradation. *3 Biotech*, 10(6), 1-7.
- Mahmood, S., Khalid, A., Arshad, M., Mahmood, T., & Crowley, D. E. (2016). Detoxification of azo dyes by bacterial oxidoreductase enzymes. *Critical reviews in biotechnology*, 36(4), 639-651.
- Muharni, M., Yohandini, H., & Rivai, M. Y. (2018). Biodecolorization of textile industrial waste by thermophilic bacteria Anoxybacillus rupiensis TS04 and Anoxybacillus flavithermus TSAA5. *BIOVALENTIA: Biological Research Journal*, 4(1), 1-4.
- Pandey, A., Dhakar, K., Sharma, A., Priti, P., Sati, P., & Kumar, B. (2015). Thermophilic bacteria that tolerate a wide temperature and pH range colonize the Soldhar (95°C) and Ringigad (80°C) hot springs of Uttarakhand, India. *Annals of microbiology*, 65(2), 809-816.
- Pinheiro, L. R. S., Gradíssimo, D. G., Xavier, L. P., & Santos, A. V. (2022). Degradation of Azo Dyes: bacterial potential for bioremediation. *Sustainability*, 14(3), 1510.
- Putra, H. S., Sa'bani, S. R., Ananda, S., & Vidriza, U. (2021). Peran Perkembangan Sektor Keuangan terhadap Industrialisasi di Indonesia. *JDEP (Jurnal Dinamika Ekonomi Pembangunan)*, 4(2), 119-126.

- Rajashekharappa, K. K., Mahadevan, G. D., Neelagund, S. E., Sathynarayana, M., Vijaya, D., & Mulla, S. I. (2022). Decolorization of amaranth RI and fast red E azo dyes by thermophilic *Geobacillus thermoleovorans* KNG 112. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 97(2), 482-489.
- Sarkar, S., Banerjee, A., Halder, U., Biswas, R., & Bandopadhyay, R. (2017). Degradation of synthetic azo dyes of textile industry: a sustainable approach using microbial enzymes. *Water Conservation Science and Engineering*, 2(4), 121-131.
- Wirawan, I. G. P., Sasadara, M. M. V., Wijaya, I. N., & Krinandika, A. A. K. (2021). DNA barcoding in molecular identification and phylogenetic relationship of beneficial wild Balinese red algae, Bulung sangu (*Gracilaria* sp.). *Bali Medical Journal*, 10(1), 82-88.