

**PENGARUH SUMBER KARBON DAN NITROGEN PADA
BIODEGRADASI ZAT WARNA *DIRECT RED 80*
MENGGUNAKAN *Aeromonas jandaei* BD 02 dan
Pseudomonas guguanensis BD 14**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat mendapatkan Gelar Sarjana Sains pada
Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sriwijaya**

Oleh :

**SANI MARSELLI BR BARUS
08041281722056**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2021**

HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI

Judul Skripsi : Pengaruh Sumber Karbon dan Nitrogen pada Biodegradasi Zat Warna *Direct Red 80* Menggunakan *Aeromonas jandaei* BD 02 dan *Pseudomonas guguanensis* BD 14.

Nama Mahasiswa : Sani Marselli Br Barus

NIM : 08041281722056

Jurusan : Biologi

Telah disetujui untuk disidangkan pada tanggal juli 2021.

Indralaya, Juli 2021

Pembimbing :

1. Dra. Muharni, M. Si
NIP. 196306031992032001



(.....)

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : Pengaruh Sumber Karbon dan Nitrogen pada Biodegradasi Zat Warna *Direct Red 80* Menggunakan *Aeromonas jandaei* BD 02 dan *Pseudomonas guguanensis* BD 14

Nama Mahasiswa : Sani Marselli Br Barus

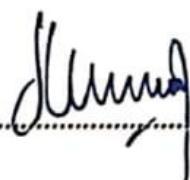
NIM : 08041281722056

Jurusan : Biologi

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Sidang Ujian Skripsi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal Juli 2021 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai dengan masukkan Panitia Sidang Ujian Skripsi.

Ketua:

1. Dra. Muhamni, M.Si
NIP. 196306031992032001

(.....


Anggota:

1. Marieska Verawaty, M.Si., Ph.D
NIP. 197503222000032001

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

3. Dr. Hary Widjajanti, M.Si
NIP. 196112121987102001

4. Drs. Hanifa Marisa, M.S
NIP. 196405291991021001

(.....

(.....

(.....

(.....




PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Sani Marselli Br Barus

NIM : 08041281722056

Fakultas/Jurusan : MIPA/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 ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.



Indralaya, Juli 2021
Penulis,

Sani Marselli Br Barus
NIM. 08041281722056

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Sani Marselli Br Barus
NIM : 08041281722056
Fakultas/Jurusan : MIPA/Biologi
Jenis Karya : Skripsi

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

“ Pengaruh Sumber Karbon dan Nitrogen pada Biodegradasi Zat Warna *Direct Red 80* Menggunakan *Aeromonas jandaei* BD 02 dan *Pseudomonas guguanensis* BD 14”

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak bebas royalty nonekslusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalihmedia/mengformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasi 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.

Inderalaya, Juli 2021

Yang menyatakan,



Sani Marselli Br Barus
NIM. 08041281722056

HALAMAN PERSEMBAHAN

*“Segala perkara dapat kutanggung di dalam Dia yang memberi ku kuatan kepadaku”
(Filipi 4:13)*

*“Mintalah maka akan diberikan kepadamu; carilah, maka kamu akan mendapat; ketoklah maka pintu akan dibukakan bagimu. Karena setiap orang yang meminta, menerima dan setiap orang yang mencari, mendapat dan setiap orang yang mengetok, baginya pintu akan dibukakan.”
(Matius 7:7-8)*

*“Janganlah kiranya kasih dan setia meninggalkan engkau! Kalungkanlah itu pada lehermu, tuliskan itu pada loh hatimu, maka engkau akan mendapat kasih dan penghargaan dalam pandangan Allah serta manusia”
(Amsal 3:3-4)*

*“To get something you never had, you have to do something you never did”
“How you ever gonna know if you never even try?”*

Skripsi ini kupersembahkan kepada:

❖ Tuhan Yesus Kristus

❖ Bapak dan Mamak yang tersayang,

Suria Barus dan Mastaria Br Ginting

yang selalu mendoakan dan mendukungku.

Adikku satu-satunya Destri Kolinta Barus

❖ Diriku

❖ Keluarga besarku, sahabat, teman

yang setia mendukungku

❖ Dosen-dosen yang kuhormati

❖ Almamaterku

Spread kindness, love mercy and walk humbly with God

KATA PENGANTAR

Puji Tuhan, segala puji dan hormat bagi Tuhanku Yesus Kristus yang telah memberkati dan melimpahkan kasih sayang-Nya sehingga penulis akhirnya dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **“ Pengaruh Sumber Karbon dan Nitrogen pada Biodegradasi Zat Warna Direct Red 80 menggunakan Aeromonas jandaei BD 02 dan Pseudomonas guguanensis BD 14 ”.**

Skripsi ini merupakan syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Bidang Studi Biologi di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam melaksanakan penelitian sampai terwujudnya skripsi ini penulis telah banyak mendapat bimbingan, pengarahan, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, terima kasih setulus hati penulis ucapan kepada orang tua tercinta atas doa, dukungan serta nasihat yang berharga dalam menyelesaikan dunia perkuliahan dan menyelesaikan skripsi ini. Ucapan terima kasih yang sebesarnya kepada Ibu Dra. Muhamni, M.Si. selaku Dosen Pembimbing I atas saran, nasihat, arahan serta telah meluangkan waktunya untuk membimbing penulis dalam pelaksanaan penelitian dan menyelesaikan skripsi ini.

Ucapan terima kasih dengan segala kerendahan hati juga penulis sampaikan kepada :

1. Prof. Dr. Ir. H. Anis Saggaff, M.S.C.E. selaku Rektor Universitas Sriwijaya.
2. 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.

5. Dr. Zazili Hanafiah, M.Sc selaku dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan saran, bimbingan dan arahan selama perkuliahan.
6. Ibu Marieska Verawaty, M.Si., Ph. , Ibu Dr. Elisa Nurnawati, M.Si., dan Ibu Dr. Hary Widjajanti, M. Si selaku Dosen Pembahas serta bapak Drs. Hanifa Marisa, M.S selaku Dosen Pengaji yang telah memberikan nasihat, saran dan masukan dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Seluruh Bapak/Ibu Dosen Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
8. Kak Agus Wahyudi, S. Si selaku analis Laboratorium Genetika dan Bioteknologi dan Ibu Rosmania, S. T selaku analis Laboratorium Mikrobiologi yang telah banyak membantu selama pelaksanaan penelitian. Pak Imam dan Ibu Imam terimakasih buat kebaikan serta bantuannya.
9. Seluruh karyawan dan staf tata usaha Jurusan Biologi yang telah membantu dalam proses administrasi selama perkuliahan.
10. Labmate (Alfiyah, Alimatussya'adah, Veni, Mawarni, Egi, Shintya, Cici dan Wijaya) yang telah membantu saya selama penelitian tugas akhir dan juga selalu memberikan semangat serta dukungan kepada saya dan juga keceriaan selama penelitian sehingga suasana dilaboratorium biasa menyenangkan. Sahabat saya (Winda, Wayan, Imel, Amma, Yahya, Fira, Cindy, Neli, Desty), Cece Adinda 14 (Endang, Merry, Regina, Noven, Helena) yang selalu menemani, mendoakan dan mendengar cerita saya, serta teman-teman lainnya yang juga selalu memberikan dukungan serta semangat dan sudah mengisi hari-hari penulis dengan canda tawa. Keluarga Biologi angkatan 2017 dan seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas segala bantuannya baik tenaga, materil, fikiran dalam penyelesaian skripsi ini.

Terima kasih banyak atas kebaikannya semoga Tuhan Yang Maha Esa melipat gandakan segala kebaikan kepada pihak-pihak yang terkait. Penulis juga berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi yang membacanya.

Indralaya, Juli 2021

Penulis

**THE EFFECT OF CARBON AND NITROGEN SOURCES ON
BIODEGRADATION OF DIRECT RED 80 USING**

***Aeromonas jandaei* BD 02 AND *Pseudomonas guguanensis* BD 14**

**Sani Marselli Br Barus
NIM: 08041281722056**

RESUME

Kain Jumputan Palembang is a commodity that is growing rapidly along with the large number of consumer demands from various parts of Indonesia and abroad. About 60-75% of synthetic dyes used in the textile industry are azo dyes. Azo dyes such as *Direct Red* have a complex structure, are soluble in water, contain metals, have an aromatic structure and have one or more azo bonds ($-N=N-$) making them difficult to degrade. The biological method is an effective dye removal method because it does its job quickly, is cost-effective, environmentally friendly and does not produce secondary contaminants. The presence of azoreductase enzyme is thought to play a role in breaking azo bonds. The need for carbon and nitrogen in the biodecolorization process is very necessary to increase the ability of the bacteria *Aeromonas jandaei* BD 02 and *Pseudomonas guguanensis* BD 14 in degrading *Direct Red 80* dye. Microorganisms need different carbon and nitrogen sources to increase the ability of biodegradation, growth and survival of microorganisms so that able to produce azoreductase enzymes that play a role in breaking azo bonds in *Direct Red 80* dye.

The research was carried out from February 2021 to May 2021, at the Genetics and Biotechnology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University. This study used a factorial Randomized Block Design with 3 treatment factors. Factor I is the type of bacteria (*Aeromonas jandaei* BD 02 and *Pseudomonas guguanensis* BD 14), factor II is the type of carbon source (glucose, sucrose, and lactose) and factor III is the type of nitrogen source (yeast extract, peptone and tryptophan). The experiment was repeated three times test.

Based on the research that has been done, it can be seen that, the addition of a 1% lactose carbon source with a nitrogen yeast extract of 0,5% resulted in the best number of bacterial cells in *Aeromonas jandaei* BD 02 bacteria reaching $4,6 \times 10^{10}$ cfu/mL and *Pseudomonas guguanensis* BD 14 reaching $5,2 \times 10^9$ cfu/mL. The addition of a carbon source 1% sucrose with tryptophan 0,5% as nitrogen source produced the highest percentage of degradation power in *Aeromonas jandaei* BD 02 of 86,66% and *Pseudomonas guguanensis* BD 14 of

84,60%. The results of biodegradation of *Direct Red 80* dye produced different chromatogram patterns. The Rf value in the control was 0,89 and in the treatment culture *Aeromonas jandaei* BD 02 + Sucrose + Tryptophan had an Rf value of 0,62 while *Pseudomonas guguanensi* BD 14 + Sucrose + Tryptophan was 0,56. The addition of carbon and nitrogen sources had a positive effect on the growth of *Aeromonas jandaei* BD 02 and *Pseudomonas guguanensis* BD 14 bacteria and increased the percentage of *Direct Red 80* dye degradation.

Keywords: Azoreductase, Biodegradation, Carbon and Nitrogen Sources, *Direct Red Dyes*, Indigenous bacteria.

**PENGARUH SUMBER KARBON DAN NITROGEN PADA
BIODEGRADASI ZAT WARNA *DIRECT RED 80* MENGGUNAKAN
Aeromonas jandaei BD 02 DAN *Pseudomonas guguanensis* BD 14**

**Sani Marselli Br Barus
NIM: 08041281722056**

RINGKASAN

Kain jumputan Palembang adalah komoditi yang tumbuh pesat bersamaan dengan banyaknya permintaan konsumen dari berbagai wilayah Indonesia maupun mancanegara. Sekitar 60-75% pewarna sintetis yang digunakan dalam industri tekstil adalah pewarna azo. Pewarna azo seperti zat warna *Direct Red* memiliki struktur yang kompleks, bersifat larut dalam air, mengandung logam, memiliki struktur aromatik dan memiliki satu atau lebih ikatan azo ($-N=N-$) sehingga sulit untuk didegradasi. Metode biologis merupakan metode penghilangan pewarna yang efektif karena melakukan tugasnya dengan cepat, hemat biaya, ramah lingkungan dan tanpa menghasilkan kontaminan sekunder. Keberadaan enzim azoreduktase diduga berperan dalam pemutusan ikatan azo. Kebutuhan karbon dan nitrogen pada proses biodekolorisasi sangat diperlukan untuk meningkatkan kemampuan bakteri *Aeromonas jandaei* BD 02 dan *Pseudomonas guguanensis* BD 14 dalam mendegradasi zat warna *Direct Red 80*. Mikroorganisme membutuhkan sumber karbon dan nitrogen yang berbeda untuk dapat meningkatkan kemampuan biodegradasi, pertumbuhan dan kelangsungan hidup mikroorganisme sehingga mampu menghasilkan enzim azoreduktase yang berperan dalam pemutusan ikatan azo pada zat warna *Direct Red 80*.

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2021 sampai Mei 2021, bertempat di Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan 3 faktor perlakuan. Faktor I adalah jenis bakteri (*Aeromonas jandaei* BD 02 dan *Pseudomonas guguanensis* BD 14), faktor II adalah jenis sumber karbon (glukosa, sukrosa, dan laktosa) dan faktor III adalah jenis sumber nitrogen (yeast ekstrak, pepton dan triptofan) percobaan diulang sebanyak tiga ulangan.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa, penambahan sumber karbon laktosa 1% dengan sumber nitrogen yeast ekstrak 0,5% menghasilkan jumlah sel bakteri tertinggi pada bakteri *Aeromonas jandaei* BD 02 mencapai $4,6 \times 10^{10}$ cfu/mL dan *Pseudomonas guguanensis* BD 14 mencapai

$5,2 \times 10^9$ cfu/mL. Penambahan sumber karbon sukrosa 1% dengan sumber nitrogen triptofan 0,5% menghasilkan persentase daya degradasi tertinggi pada bakteri *Aeromonas jandaei* BD 02 sebesar 86,66% dan *Pseudomonas guguanensis* BD 14 sebesar 84,60%. Hasil biodegradasi zat warna *Direct Red 80* menghasilkan pola kromatogram yang berbeda. Nilai Rf pada kontrol sebesar 0,89 dan pada kultur perlakuan *Aeromonas jandaei* BD 02 + Sukrosa + Triptofan memiliki nilai Rf sebesar 0,62 sedangkan *Pseudomonas guguanensi* BD 14 + Sukrosa + Triptofan sebesar 0,56. Penambahan sumber karbon dan nitrogen memberikan pengaruh positif terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas jandaei* BD 02 dan *Pseudomonas guguanensis* BD 14 serta meningkatkan persentase daya degradasi zat warna *Direct Red 80*.

Kata Kunci: Azoreduktase, Bakteri indigen, Biodegradasi, *Direct Red*, Sumber Karbon dan Nitrogen.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH.....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
SUMMARY	ix
RINGKASAN	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
 BAB 1. PENDAHULUAN	 1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	5
1.3. Tujuan.....	5
1.4. Manfaat.....	6
 BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	 7
2.1. Limbah Industri Tekstil.....	7
2.2. Pewarna Azo dan Zat Warna <i>Direct Red 80</i>	9
2.3. Teknik Pengolahan Limbah Industri Tekstil.....	11
2.4. Bakteri Indigen.....	14
2.4.1. <i>Aeromonas jandaei</i>	16
2.4.2. <i>Pseudomonas guguanensis</i>	17
2.5. Biodekolorisasi.....	19
2.6. Biodegradasi.....	20
2.7. Mekanisme Biodegradasi Zat Warna	22
2.8. Faktor yang Mempengaruhi Biodegradasi Zat Warna Sintetik....	25
2.8.1. Struktur dan konsenterasi Zat Warna.....	25
2.8.2. Temperatur	26
2.8.3. pH.....	26
2.8.4. Oksigen Terlarut dan Kecepatan Guncangan.....	27
2.8.5. Pengaruh Pemberian Sumber Karbon dan Nitrogen	27
2.9. Kromatografi Lapis Tipis	32
 BAB 3. METODE PENELITIAN.....	 34
3.1. Waktu dan Tempat	34

3.2. Alat dan Bahan	34
3.3. Rancangan Percobaan	35
3.4. Cara Kerja	36
3.4.1. Pembuatan Medium	36
3.4.2. Peremajaan Bakteri	38
3.4.3. Pembuatan Kultur Cair.....	38
3.4.4. Pembuatan kurva Standar.....	38
3.4.5. Pembuatan Zat Warna <i>Direct Red 80</i> konsenterasi 80 ppm	40
3.4.6. Pembuatan Kultur Perlakuan.....	40
3.4.7. Uji Biodegradasi dan Perhitungan Rf	41
3.4.7.1. Pengukuran Daya Degradasi	41
3.4.7.2. Uji Biodegradasi.....	42
3.5. Analisis dan Penyajian Data.....	43
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	45
4.1. Pengaruh Sumber Karbon dan Nitrogen pada Biodegradasi Zat Warna <i>Direct Red 80</i>	45
4.2. Pengaruh Penambahan Sumber Karbon dan Nitrogen Terhadap Jumlah Sel Bakteri	51
4.3. Analisis Pola Kromatogram	59
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	67
5.1. Kesimpulan	67
5.2. Saran.....	67
DAFTAR PUSTAKA	68
LAMPIRAN	73
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	81

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Karakter bakteri indigen hasil isolasi dari limbah industri tekstil kain jumputan	15
Tabel 4.1. Persentase daya degradasi <i>Aeromonas jandaei</i> BD 02 dan <i>Pseudomonas guguanensis</i> BD 14 pada perlakuan sumber karbon dan nitrogen berbeda.....	46
Tabel 4.2. Jumlah sel bakteri <i>Aeromonas jandaei</i> BD 02 dan <i>Pseudomonas</i> <i>guguanensis</i> BD 14 pada perlakuan sumber karbon dan nitrogen yang Berbeda	52
Tabel 4.3. Perbandingan nilai Rf hasil migrasi pada plat KLT.....	61

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1. Struktur molekul pewarna <i>Direct Red 80</i>	11
Gambar 2.2. Mekanisme biodegradasi pewarna azo dan senyawa amina aromatik.....	22
Gambar 4.1. Penampakan visual hasil perlakuan terhadap biodegradasi zat warna <i>Direct Red 80</i>	55
Gambar 4.2. Diagram Nilai Daya Degradasi dan Log Jumlah Sel Bakteri.....	57
Gambar 4.3. Pola kromatogram	59

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Komposisi medium.....	73
Lampiran 2. Analisis data	74
Lampiran 3. Uji lanjut LSD (Least Significant Difference) pada variabel daya degradasi dan jumlah sel bakteri.....	75
Lampiran 4. Kurva standart pertumbuhan bakteri	77
Lampiran 5. Hasil pengamatan dan proses penelitian.....	79

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kain jumputan Palembang adalah komoditi yang tumbuh pesat bersamaan dengan banyaknya permintaan konsumen dari berbagai wilayah Indonesia maupun mancanegara (Susmanto *et al.*, 2020). Pada proses pembuatan kain jumputan banyak menggunakan zat warna sintetis yang bersifat toksik dan karsinogenik sehingga dapat mengganggu kesehatan, meracuni biota air di dalam perairan, dan menyebabkan terganggunya estetika apabila limbah cair zat warna sintetis tersebut dibuang langsung ke perairan (Fitriana & Kuswytasari, 2013).

Perusahaan industri kain jumputan lebih memilih menggunakan zat warna sintetis dibandingkan menggunakan zat warna alami disebabkan karena zat warna sintetis memiliki keunggulan dalam hal intensitas warna yang lebih tinggi, variasi warna lebih banyak, harga lebih terjangkau, tersedia dalam jumlah banyak serta mudah dalam penggunaannya (Susmanto *et al.*, 2020). Sekitar 60-75% pewarna sintetis yang digunakan dalam industri tekstil adalah pewarna azo. Pewarna azo seperti zat warna *Direct Red* memiliki struktur yang kompleks, bersifat larut dalam air, mengandung logam, memiliki struktur aromatik dan memiliki satu atau lebih ikatan azo ($-N=N-$) sehingga zat warna tersebut sulit untuk didegradasi (Widjajanti *et al.*, 2013).

Industri pembuatan kain jumputan sebagian besar merupakan industri rumahan yang belum memiliki pengolahan limbah cair yang cukup baik sehingga air limbah yang ada dibuang begitu saja ke lingkungan tanpa melalui tahap

pengolahan limbah terlebih dahulu (Susmanto *et al.*, 2020). Metode penghilangan zat warna yang ada saat ini diklasifikasikan menjadi tiga kategori utama yaitu metode fisik, oksidasi, dan biologis. Metode biologis merupakan metode penghilangan pewarna yang efektif karena melakukan tugasnya dengan cepat, hemat biaya, ramah lingkungan dan tanpa menghasilkan kontaminan sekunder (Morsy *et al.*, 2020).

Proses biodekolorisasi memiliki dua mekanisme yaitu biodegradasi dan bioabsorbsi. Pada biodegradasi proses penghilangan warna melibatkan enzim serta terbentuk senyawa-senyawa lain sedangkan pada bioabsorbsi terjadi penyerapan zat warna oleh dinding sel mikroba. Biodegradasi zat warna azo berlangsung melibatkan reaksi reduktif dari pemutusan ikatan pewarna azodan menghasilkan struktur senyawa amina aromatik. Keberadaan enzim azoreduktase diduga berperan dalam pemutusan ikatan azo (Joshi *et al.*, 2020).

Secara alamiah, bakteri yang berpotensi dalam proses biodegradasi dapat diisolasi dari limbah itu sendiri yang dikenal sebagai bakteri indigen. Bakteri indigen dapat memanfaatkan senyawa-senyawa cemaran seperti zat warna sintetis yang terdapat pada limbah tekstil sebagai sumber karbon dan nitrogen sehingga dapat menyebabkan terjadinya proses biodegradasi (Fidiastuti & Endang, 2017). Pada penelitian Aditama (2019), telah diidentifikasi bakteri indigen pendegradasi zat warna sintetis dari limbah cair industri tekstil menggunakan DNA-*barcoding* Gen 16S rRNA. Berdasarkan hasil penelitian tersebut terdapat 8 isolat yang telah diidentifikasi, 2 diantaranya adalah isolat BD 02 yang memiliki kemiripan dengan

Aeromonas jandaei strain CDC0787-80 sebesar 97% dan isolat BD 14 memiliki kemiripan dengan *Pseudomonas guguanensis* strain CCG9A sebesar 76%.

Proses biodekolorisasi membutuhkan nutrisi berupa sumber karbon dan nitrogen untuk menunjang pertumbuhan mikroba dalam meningkatkan populasi mikroba sehingga mikroba yang berperan memiliki energi untuk menghasilkan enzim azoreduktase yang digunakan mikroba untuk melakukan proses pemutusan ikatan azo pada pewarna *Direct Red 80*. Berdasarkan penelitian Firliana (2020), telah didapatkan hasil daya degradasi mencapai 51-53% dengan pengoptimasian parameter lingkungan pada biodegradasi zat warna *Direct Red 80* menggunakan bakteri *Aeromonas jandaei* BD 02 dan *Pseudomonas guguanensis* BD 14 yaitu dengan perlakuan konsenterasi zat warna 80 ppm, suhu 34°C, dan pH 6. Penelitian tersebut menggunakan medium mineral yang hanya memiliki sumber nitrogen dalam bentuk ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan tidak memiliki sumber karbon.

Berdasarkan pada penelitian (Lalnunhlimi & Veenagayathri, 2016) penambahan kombinasi sumber karbon 1%(w/v) dan sumber nitrogen 0.5%(w/v) akan meningkatkan dekolorisasi pewarna campuran (*Direct Blue 151* dan *Direct Red 31*) mencapai 94% setelah inkubasi selama 5 hari pada *Mineral Salt Medium*. Glukosa adalah sumber karbon berupa monosakarida yang paling banyak digunakan dalam media pertumbuhan mikroorganisme dan efektif untuk ekspresi banyak enzim (Ottoni *et al.*, 2016). Selain itu, sumber karbon sederhana seperti glukosa atau yang lebih kompleks seperti sukrosa, laktosa merupakan substrat primer yang berfungsi sebagai penyumbang elektron dalam dekolorisasi zat warna

azo karena kehadiran donor elektron merupakan prasyarat dalam reduksi pewarna azo (Van Der Zee&Villaverde, 2005).

Sukrosa dapat meningkatkan pertumbuhan mikroorganisme dan yeast ekstrak dianggap sebagai media suplement penting untuk regenerasi NADH yang bertindak sebagai donor elektron untuk reduksi pewarna azo oleh mikroorganisme (Lalnunhilmi & Krishnaswamy, 2016). Pepton kaya akan asam-asam amino bebas dan peptida pendek yang mudah untuk digunakan oleh mikroba sehingga dapat mendukung pertumbuhan sel mikroba (Kumar & Chandra, 2018). Asam amino triptofan merupakan komponen asam amino yang umumnya terdapat pada protein, sehingga asam amino triptofan ini dapat dengan mudah digunakan oleh mikroorganisme sebagai sumber energi (Pattuju *et al.*, 2014). Keberadaan triptofan ini mungkin berperan dalam pembentukan enzim azoreduktase yang digunakan mikroorganisme dalam proses degradasi pewarna azo. Berdasarkan hal yang telah disebutkan maka pada penelitian ini dilakukan penambahan sumber karbon berupa glukosa, sukrosa, laktosa dengan konsenterasi 1% (w/v) bersama dengan sumber nitrogen berupa yeast ekstrak, pepton, triptofan dengan konsenterasi 0,5% (w/v).

Proses biodegradasi yang berjalan dengan baik ditandai dengan terbentuknya senyawa amina aromatik yang berasal dari hasil pemutusan ikatan azo pada pewarna *Direct Red 80* dalam kondisi aerob, oleh sebab itu dilakukan uji kromatografi lapis tipis untuk melihat pola kromatogram yang terdapat pada plat KLT dengan sinar UV 254 nm dan 366 nm. Terbentuknya pola kromatogram pada

plat KLT menandakan terbentuknya senyawa baru setelah dilakukan penambahan bakteri, sumber karbon serta sumber nitrogen.

1.2. Perumusan Masalah

Bakteri *Aeromonas jandaei* BD 02 dan *Pseudomonas guguanensis* BD 14 membutuhkan sumber karbon dan nitrogen untuk dapat meningkatkan kemampuan biodegradasi, pertumbuhan dan kelangsungan hidup mikroorganisme yang berperan dalam pemutusan ikatan azo pada zat warna *Direct Red 80*. Penambahan jenis bakteri, jenis sumber karbon dan jenis sumber nitrogen berbeda dilakukan untuk melihat pengaruh sumber karbon dan sumber nitrogen terhadap peningkatan persentase daya degradasi serta jumlah sel bakteri yang berperan. Salah satu cara untuk mengetahui bahwa proses biodegradasi telah berjalan atau tidak adalah dengan melihat terbentuknya senyawa antara yang tidak berwarna seperti senyawa amina aromatik. Terbentuknya senyawa antara tersebut dapat diketahui dengan dilakukan uji kromatografi lapis tipis dan melihat pola kromatogram yang terdapat pada plat KLT dengan menggunakan sinar UV 254 nm dan 366 nm.

1.3. Tujuan

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui pertumbuhan sel bakteri *Aeromonas jandaei* BD 02 dan *Pseudomonas guguanensis* BD 14 pada sumber karbon dan nitrogen berbeda.
2. Mengetahui kemampuan biodegradasi zat warna *Direct Red 80* oleh bakteri *Aeromonas jandaei* BD 02 dan *Pseudomonas guguanensis* BD 14 pada sumber karbon dan nitrogen berbeda.

3. Membandingkan pola kromatografi hasil biodegradasi zat warna *Direct Red 80* pada perlakuan penambahan jenis bakteri, jenis sumber karbon dan jenis sumber nitrogen yang menghasilkan daya degradasi tertinggi.

1.4. Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang pengaruh jenis sumber karbon dan nitrogen berbeda terhadap pertumbuhan sel bakteri *Aeromonas jandaei* BD 02 dan *Pseudomonas guguanensis* BD 14 serta kemampuannya dalam biodegradasi zat warna *Direct Red 80*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adithama, R. 2019. Identifikasi Bakteri Pendegradasi Zat Warna Sintetis dari Limbah Cair Industri Tekstil Menggunakan DNA-barcoding Gen 16S rRNA. *Skripsi*. Universitas Sriwijaya.
- Babuponnusami, A. & Muthukumar, K. 2014. A review on Fenton and improvements to the Fenton process for wastewater treatment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(1): 557–572. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1016/j.jece.2013.10.011>.
- Balapure, K.H., Jain, K., Chattaraj, S., Bhatt, N.S. & Madamwar, D. 2014. Co-metabolic degradation of diazo dye-Reactive blue 160 by enriched mixed cultures BDN. *Journal of Hazardous Materials*, 279: 85–95. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.06.057>.
- Beaz-Hidalgo, R. & Figueras, M.J. 2013. Aeromonas spp. whole genomes and virulence factors implicated in fish disease. *Journal of Fish Diseases*, 36(4): 371–388.
- Bräm, S. & Wolfram, E. 2017. Recent Advances in Effect-directed Enzyme Assays based on Thin-layer Chromatography. *Phytochemical Analysis*, 28(2): 74–86.
- Chong, C., Zaharah, I., Madihah, M., Noor, A., Adibah, Y., Wui, J. 2006. Decolourization of Azo Dye Direct Blue 15 Using Culture of *Klebsiella* sp. *Petroleum and Natural Resources Process*. 1(1): 596-600
- Crini, G. & Lichtfouse, E. 2019. Advantages and disadvantages of techniques used for wastewater treatment. *Environmental Chemistry Letters*, 17(1): 145–155. Tersedia di <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0785-9>.
- Enrico 2019. Dampak Limbah Cair Industri Tekstil Terhadap Lingkungan dan Aplikasi Teknik Eco Printing sebagai Usaha Mengurangi Limbah. *Moda*, 1(1): 5–13.
- Eslami, H., Shariatifar, A., Rafiee, E., Shiranian, M., Salehi, F., Hosseini, S.S., Eslami, G., Ghanbari, R. & Ebrahimi, A.A. 2019. Decolorization and biodegradation of reactive Red 198 Azo dye by a new Enterococcus faecalis–Klebsiella variicola bacterial consortium isolated from textile wastewater sludge. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(3): 0. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-019-2608-y>.
- Fernández-Bravo, A. & Figueras, M.J. 2020. An update on the genus *Aeromonas*: Taxonomy, epidemiology, and pathogenicity. *Microorganisms*,
- Fidiastuti, H. & Endang, S. 2017. Potensi Bakteri Indigen dalam Mendegradasi Limbah Cair Pabrik Kulit Secara In Vitro. *Bioeksperimen*. 3(1): 1-10.
- Firliana, W. 2020. Biodegradasi Zat Warna Direct Red 80 Menggunakan Bakteri

- Indigen Dari Limbah Industri Kain Jumputan. *Skripsi*. Universitas Sriwijaya.
- Fitriana, A. & Kuswytasari, N.D. 2013. Potensi Isolat Kapang Koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Biologi ITS Dalam Mendegradasi Pewarna Azo Orange II. *Jurnal Sains Dan Seni Pomits*, 2(2): 51–54.
- Ghodake, G.S., Kalme, S.D., Jadhav, J.P. & Govindwar, S.P. 2009. Purification and partial characterization of lignin peroxidase from *Acinetobacter calcoaceticus* NCIM 2890 and its application in decolorization of textile dyes. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 152(1): 6–14.
- Gupta, V.K., Gupta, B., Rastogi, A., Agarwal, S. & Nayak, A. 2011. A comparative investigation on adsorption performances of mesoporous activated carbon prepared from waste rubber tire and activated carbon for a hazardous azo dye-Acid Blue 113. *Journal of Hazardous Materials*, 186(1): 891–901. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.11.091>.
- Hadibarata, T., Syafiuddin, A., Al-Dhabaan, F.A., Elshikh, M.S. & Rubiyatno 2018. Biodegradation of Mordant orange-1 using newly isolated strain *Trichoderma harzianum* RY44 and its metabolite appraisal. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 41(5): 621–632. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1007/s00449-018-1897-0>.
- Hijriani, A., Muludi, K. & Andini, E.A. 2016. Implementasi Metode Regresi Linier Sederhana Pada Penyajian Hasil Prediksi Pemakaian Air Bersih Pdam Way Rilau Kota Bandar Lampung Dengan Sistem Informasi Geografis. *Informatika Mulawarman : Jurnal Ilmiah Ilmu Komputer*, 11(2): 37.
- Holkar, C.R., Jadhav, A.J., Pinjari, D. V., Mahamuni, N.M. & Pandit, A.B. 2016. A critical review on textile wastewater treatments: Possible approaches. *Journal of Environmental Management*, 182: 351–366. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.07.090>.
- Jamee, R. & Siddique, R. 2019. Biodegradation of synthetic dyes of textile effluent by microorganisms: an environmentally and economically sustainable approach. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 9(4): 114–118.
- Joshi, A.U., Hinsu, A.T., Kotadiya, R.J., Rank, J.K., Andharia, K.N. & Kothari, R.K. 2020. Decolorization and biodegradation of textile di-azo dye Acid Blue 113 by *Pseudomonas stutzeri* AK6. *3 Biotech*, 10(5). Tersedia di <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02205-5>.
- Krishnan, J., Arvind Kishore, A., Suresh, A., Madhumeetha, B. & Gnana Prakash, D. 2017. Effect of pH, inoculum dose and initial dye concentration on the removal of azo dye mixture under aerobic conditions. *International Biodegradation and Biodegradation*, 119: 16–27. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.11.024>.

- Kumar, V. & Chandra, R. 2018. Characterisation of manganese peroxidase and laccase producing bacteria capable for degradation of sucrose glutamic acid-Maillard reaction products at different nutritional and environmental conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34(2): 0. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-018-2416-9>.
- Lalnunhlimi, S. & Veenagayathri, K. 2016. Decolorization of azo dyes (Direct Blue 151 and Direct Red 31) by moderately alkaliphilic bacterial consortium. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(1): 39–46. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2015.11.013>.
- Lau, J., Tran, C., Licari, P. & Galazzo, J. 2004. Development of a high cell-density fed-batch bioprocess for the heterologous production of 6-deoxyerythronolide B in *Escherichia coli*. *Journal of Biotechnology*, 110(1): 95–103.
- Leba, M. 2017. *Buku Ajar Ekstraksi Dan Real Kromatografi*. Yogyakarta: Deepublish.
- Liu, Y.C., Young, L. Sen, Lin, S.Y., Hameed, A., Hsu, Y.H., Lai, W.A., Shen, F.T. & Young, C.C. 2013. *Pseudomonas guguanensis* sp. nov., a gammaproteobacterium isolated from a hot spring. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63(PART 12): 4591–4598.
- 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. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.3109/07388551.2015.1004518>.
- Margono 2010. Kinetika Pertumbuhan Bakteri *Bacillus* Sp . Dalam Medium Glukosa Sebagai Sumber Karbon Dan Amonium Sulfat Sebagai Dx Dt □ □ *X. ekuilibrium*, 9(2): 57–61.
- Martínez-Murcia, A., Beaz-Hidalgo, R., Navarro, A., Carvalho, M.J., Aravena-Román, M., Correia, A., Figueras, M.J. & Saavedra, M.J. 2016. *Aeromonas lusitana* sp. nov., Isolated from Untreated Water and Vegetables. *Current Microbiology*, 72(6): 795–803.
- Morsy, S.A.G.Z., Ahmad Tajudin, A., Ali, M.S.M. & Shariff, F.M. 2020. Current Development in Decolorization of Synthetic Dyes by Immobilized Laccases. *Frontiers in Microbiology*, 11(September): 1–8.
- Neetha, N., Sandesh, K., K., G.K., Chidananda, B. & Ujwal, P. 2019. Optimization of Direct Blue-14 dye degradation by *Bacillus fermus* (Kx898362) an alkaliphilic plant endophyte and assessment of degraded metabolite toxicity. *Journal of Hazardous Materials*, 364(October 2018): 742–751. Tersedia di <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.10.074>.
- Noviar, I. 2019. Limbah Perebusan Batik. *Tesis*. Universitas Sumatera Utara.
- Ottoni, C., Simões, M.F., Fernandes, S., Santos, C.R. & Lima, N. 2016. High

- laccase expression by *Trametes versicolor* in a simulated textile effluent with different carbon sources and PHs. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(8).
- Pakshirajan, K. & Kheria, S. 2012. Continuous treatment of coloured industry wastewater using immobilized *Phanerochaete chrysosporium* in a rotating biological contactor reactor. *Journal of Environmental Management*, 101: 118–123. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.02.008>.
- Pattuju, S.M., . F. & Manampiring, A. 2014. Identifikasi Bakteri Resisten Merkuri Pada Urine, Feses Dan Kalkulus Gigi Pada Individu Di Kecamatan Malalayang, Manado, Sulawesi Utara. *Jurnal e-Biomedik*, 2(2): 532–540.
- Prasad, S.S. & Aikat, K. 2014. Study of bio-degradation and bio-decolourization of azo dye by *Enterobacter* sp. SXCR. *Environmental Technology (United Kingdom)*, 35(8): 956–965.
- Purwanti, I.F., Abdullah, S.R.S., Hamzah, A., Idris, M., Basri, H., Mukhlisin, M. & Latif, M.T. 2015. Biodegradation of diesel by bacteria isolated from *Scirpus mucronatus* rhizosphere in diesel-contaminated sand. *Advanced Science Letters*, 21(2): 140–143.
- Routoula, E. & Patwardhan, S. V. 2020. Degradation of Anthraquinone Dyes from Effluents: A Review Focusing on Enzymatic Dye Degradation with Industrial Potential. *Environmental Science and Technology*, 54(2): 647–664.
- Rubyanto, D. 2017. *Metode Kromatografi Prinsip Dasar, Praktikum Dan Pendekatan Pembelajaran Kromatografi*. Yogyakarta: Deepublish.
- Rusnaeni, Desy Ilmawati Sinaga, Fitria Lanuru, Imelda Meriyanti Payungallo, I.I.U. 2016. Identifikasi Asam Mefenamat Dalam Jamu Rematik Yang Beredar Di Distrik Heram Kota Jayapura, Papua. *Pharmacy*, 13(01): 84–91.
- Sahasrabudhe, M.M., Saratale, R.G., Saratale, G.D. & Pathade, G.R. 2014. Decolorization and detoxification of sulfonated toxic diazo dye C.I. Direct Red 81 by *Enterococcus faecalis* YZ 66. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 12(1): 1–13.
- Santiago, M. & Strobel, S. 2013. *Thin layer chromatography*. 1 ed. *Methods in Enzymology*, Elsevier Inc. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-420067-8.00024-6>.
- Senthilkumar, S., Perumalsamy, M. & Janardhana Prabhu, H. 2014. Decolourization potential of white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* on synthetic dye bath effluent containing Amido black 10B. *Journal of Saudi Chemical Society*, 18(6): 845–853. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1016/j.jscs.2011.10.010>.
- Srinivasan, S. & Sadasivam, S.K. 2021. Biodegradation of textile azo dyes by textile effluent non-adapted and adapted *Aeromonas hydrophila*. *Environmental Research*, 194: 110643. Tersedia di

- [https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110643.](https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110643)
- Susmanto, P., Dila, A.P. & Pratiwi, D.R. 2020. Pengolahan Zat Warna Direk Limbah Cair Industri Jumputan Menggunakan Karbon Aktif Limbah Tempurung Kelapa pada Kolom Adsorpsi. *Jurnal Riset Sains dan Teknologi*, 4(2): 77–87.
- Tomás, J.M. 2012. The Main Aeromonas Pathogenic Factors . *ISRN Microbiology*, 2012: 1–22.
- Tripathi, A. & Srivastava, S.K. 2011. Ecofriendly Treatment of Azo Dyes: Biodecolorization using Bacterial Strains. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, 1(1): 37–40.
- Wang, X., Xia, K., Yang, X. & Tang, C. 2019. Growth strategy of microbes on mixed carbon sources. *Nature Communications*, 10(1): 1–7. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-019-09261-3>.
- Widjajanti, E., Marfuatun & Yuanita, D. 2013. Pola Adsorpsi Pewarna Azo Oleh Biosorben Dari Kulit Pisang. *Jurnal Sains Dasar*, 2(2): 8–16.
- Wignyanto. 2020. *Bioremediasi dan Aplikasinya*. Malang: UB Press.
- Xie, X., Liu, N., Ping, J., Zhang, Q., Zheng, X. & Liu, J. 2018. Illumina MiSeq sequencing reveals microbial community in HA process for dyeing wastewater treatment fed with different co-substrates. *Chemosphere*, 201: 578–585.
- Yadav, S. & Chandra, R. 2012. Biodegradation of organic compounds of molasses melanoidin (MM) from biomethanated distillery spent wash (BMDS) during the decolourisation by a potential bacterial consortium. *Biodegradation*, 23(4): 609–620.
- Van Der Zee, F.P. & Villaverde, S. 2005. Combined anaerobic-aerobic treatment of azo dyes - A short review of bioreactor studies. *Water Research*, 39(8): 1425–1440.
- Zhang, Q., Xie, X., Liu, Y., Zheng, X., Wang, Y., Cong, J., Yu, C., Liu, N., He, Z., Liu, J. & Sand, W. 2019a. Sugar sources as Co-substrates promoting the degradation of refractory dye: A comparative study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 184(June): 109613. Tersedia di <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109613>.
- Zhang, Q., Xie, X., Liu, Y., Zheng, X., Wang, Y., Cong, J., Yu, C., Liu, N., Liu, J. & Sand, W. 2019b. Fructose as an additional co-metabolite promotes refractory dye degradation: Performance and mechanism. *Bioresource Technology*, 280(January): 430–440. Tersedia di <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.02.046>.

