

## **Bioaugmentasi Konsorsium Bakteri Indigenous Perairan Singaraja untuk Bioremediasi Rhodamine B**

### **Bioaugmentation of Indigenous Bacterial Consortia in Singaraja Waters for Rhodamine B Bioremediation**

**I Kadek Agus Ripaldi<sup>1)</sup>, Ni Made Adinda Paramita<sup>1)</sup>, Putu Sasmita Anindya  
Praba Winata<sup>1)</sup>, Wayan Ananda Savitri<sup>2)</sup>, I Made Oka Riawan<sup>1)</sup>**

<sup>1)</sup>Program Studi Biologi, Jurusan Biologi dan Perikanan Kelautan, Fakultas MIPA  
Universitas Pendidikan Ganesha, Buleleng, Bali, Indonesia

<sup>2)</sup>Program Studi Pendidikan Kimia, Jurusan Kimia, Fakultas MIPA Universitas  
Pendidikan Ganesha, Buleleng, Bali, Indonesia

Email: made.oka@undiksha.ac.id

diterima : tanggal, bulan, tahun; dipublikasi : tanggal, bulan, tahun

Dikirim:, Direvisi:, Diterima:, Dipublikasi:

DOI:

#### **ABSTRAK**

Rhodamine B merupakan pewarna dalam industri tekstil yang berbahaya bagi kesehatan lingkungan dan makhluk hidup. Bioaugmentasi merupakan metode penghilangan polutan melalui introduksi bakteri biodegradator, termasuk bakteri indigenous. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi konsorsium bakteri indigenous perairan tercemar limbah di Kota Singaraja sebagai bioremediator Rhodamine B melalui bioaugmentasi. Desain penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 10 kali pengulangan. Penelitian dilakukan dengan menggunakan 2 macam konsorsium bakteri indigenous (BPTS1 dan BPTS2) yang diisolasi dari lapisan sedimen Sungai Tukad Banyumala dan Tukad Buleleng, melalui bioaugmentasi pada media NB termodifikasi Rhodamine B. Kemampuan biodegradasi Rhodamine B ditentukan menggunakan parameter biodekolorisasi dengan metode spektrofotometri UV-Visible. Hasil bioremediasi Rhodamine B menggunakan konsorsium bakteri indigenous BPTS1 dan BPTS2 memiliki efektivitas sebesar 80,27% dan 83,22%. Konsorsium bakteri indigenous mampu melakukan biodekolorisasi Rhodamine B melalui biotransformasi menjadi senyawa sederhana sebagai sumber nutrisi, sehingga meningkatkan efektivitas bioremediasi serta menunjukkan potensi besar sebagai agen bioremediasi Rhodamine B.

**Kata kunci:** Biodegradasi, Biodekolorisasi, Biotransformasi, Nutrisi

#### **ABSTRACT**

Rhodamine B is a dye used in the textile industry that is harmful to the environment and living organisms. Bioaugmentation is a method of removing pollutants through the introduction of biodegrading bacteria, including indigenous bacteria. This study aims to determine the potential of indigenous bacterial consortia from wastewater-contaminated waters in Singaraja City as bioremediators of Rhodamine B through bioaugmentation. The study design used a completely randomised design (CRD) with 10 replicates. The study was conducted using two

types of indigenous bacterial consortia (BPTS1 and BPTS2) isolated from the sediment layers of the Tukad Banyumala and Tukad Buleleng rivers, through bioaugmentation on Rhodamine B-modified NB media. The biodegradation capacity of Rhodamine B was determined using the biodecolorisation parameter with the UV-Visible spectrophotometry method. The results of Rhodamine B bioremediation using the indigenous bacterial consortia BPTS1 and BPTS2 had an effectiveness of 80.27% and 83.22%, respectively. The indigenous bacterial consortia were able to biodecolorise Rhodamine B through biotransformation into simple compounds as a source of nutrients, thereby increasing the effectiveness of bioremediation and demonstrating great potential as Rhodamine B bioremediation agents.

**Keywords:** Biodegradation, Biodecolorization, Biotransformation, Nutrients

## PENDAHULUAN

Era Revolusi Industri 4.0 yang terjadi telah mengakibatkan perkembangan dalam berbagai sektor perekonomian salah satunya adalah industri tekstil. Pada triwulan III-2024, industri tekstil di Indonesia mengalami pertumbuhan sebesar 7,43%, yang lebih tinggi dari periode triwulan sebelumnya (Kemenperin, 2024). Demikian pula dengan perkembangan industri tekstil di wilayah Bali yang mengalami pertumbuhan sebesar 2,44% pada tahun 2021 dan 3,62% pada tahun 2022 (BPS Provinsi Bali, 2024). Pertumbuhan industri tekstil mampu membawa dampak positif dalam meningkatkan perekonomian dan membuka lapangan pekerjaan bagi masyarakat. Akan tetapi, pertumbuhan industri tekstil turut memberikan dampak negatif berupa pencemaran limbah industri pada lingkungan.

Pencemaran limbah cair pewarna tekstil yang dibuang menuju perairan oleh industri tekstil mampu menimbulkan ancaman bagi lingkungan. Limbah pewarna tekstil cair merupakan limbah yang berasal dari pewarnaan serat kain selama proses pembuatan pakaian dengan zat pewarna yang mengandung bahan-bahan tertentu (Pratistita et al, 2024). Limbah pewarna tekstil membutuhkan waktu degradasi yang lama karena memiliki kandungan pH yang tinggi serta tersusun atas gugus benzena yang sangat sulit untuk diuraikan (Rais & Setiawan, 2024; Das et al, 2023). Salah satu pewarna tekstil yang menjadi limbah pada lingkungan perairan adalah Rhodamine B. Rhodamine B merupakan pewarna merah terang berfluoresen dengan sifat karsinogenik dan neurotoksik, yang dapat menyebabkan infeksi pada sistem pernapasan serta berpotensi merusak tiroid dan hati (Desnita, 2022; Oladoye et al, 2023). Upaya penghilangan polutan Rhodamine B umum dilakukan menggunakan metode kimia, seperti koagulasi, flokulasi, oksidasi, fotokatalitik, dan elektrokimia, yang mana metode ini memiliki kelemahan dalam hal biaya operasional yang tinggi, efisiensi yang rendah, serta menghasilkan lumpur dan produk turunan lainnya yang menghasilkan efek samping berbahaya, sehingga metode kimia menjadi kurang layak untuk diaplikasikan secara luas dalam pengolahan limbah industri tekstil (Madhushika et al, 2022; Akansha et al, 2023).

Bioremediasi merupakan metode penanganan pencemaran limbah melalui pemanfaatan mikroorganisme, termasuk bakteri sebagai pengurai polutan (Evitasai et al, 2020). Bioaugmentasi merupakan metode bioremediasi yang dilakukan dengan menambahkan mikroorganisme tertentu untuk meningkatkan kapasitas degradasi polutan, yang mendukung pertumbuhan berkelanjutan populasi mikroorganisme bioremediasi di lingkungan (Ok et al, 2023; Sethi et al, 2024). Bioaugmentasi melalui penambahan bakteri *Chromohalobacter* sp. BfTT2.1.5, *Bacillus* sp. BfTT2.1.11, dan *Vibrio* sp. BfTT2.1.4 efektif dalam meremediasi Rhodamine B sebesar 36,1%, 33,24%, dan 16,18% (Ahmad et al, 2021). Demikian pula dengan bioaugmentasi penambahan bakteri *Brevundimonas diminuta* yang memiliki efektifitas remediasi sebesar 90–95% pada kondisi normal (Saravanan et al, 2022). Hasil penelitian tersebut menunjukkan jika agen bioremediasi berupa bakteri, efektif dalam melakukan remediasi terhadap Rhodamine B. Meskipun demikian, introduksi bakteri asing sebagai agen bioremediasi pada lingkungan dapat mengancam keanekaragaman mikroorganisme lokal melalui ancaman predasi dan kompetisi. Sehingga, dibutuhkan adanya upaya remediasi dengan menggunakan mikroorganisme alami yang berada pada lingkungan tercemar sebagai agen bioremediasi yang efektif.

Bakteri indigenous merupakan bakteri yang secara alami dapat hidup bebas pada suatu ekosistem lingkungan dan memiliki peran dalam menjaga kualitas

ekosistem. Bakteri indigenous memiliki kemampuan yang dapat mengikat polutan dengan efisiensi lebih dari 95% sehingga menjadikannya sebagai agen bioremediasi terhadap polutan pada lingkungan tercemar (Hardiyanti, 2021). Bakteri-bakteri indigenous berupa *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp., dan *Pseudomonas* sp. mampu mendegradasi dan menurunkan konsentrasi zat warna dengan kandungan logam Cr hingga sebesar 97,39%, 96,43%, dan 94,03% (Sandi et al, 2024). Mikroorganisme indigenous area tercemar mampu mengembangkan mekanisme detoksifikasi untuk mengatasi efek toksik dari polutan logam berat, kemampuan adaptasi ini memungkinkan bakteri untuk bertahan dan tumbuh pada lingkungan tercemar (Oziegbe et al, 2021). Bakteri indigenous memiliki berbagai mekanisme dalam mentoleransi dan menangani polutan. Proses biosorpsi dan bioakumulasi merupakan proses mengikat dan mengumpulkan polutan yang dilakukan oleh bakteri, sehingga mampu memisahkan dan mengurangi jumlah polutan pada lingkungan (Irawati, 2020; Hardiyanti, 2021). Selain itu, terdapat kemampuan biotransformasi yang mampu mengubah senyawa beracun menjadi bentuk yang kurang berbahaya oleh bakteri melalui aktivitas enzimatis (Khastini et al, 2022). Kemampuan yang dimiliki oleh bakteri indigenous memiliki peran penting dalam menjaga kualitas dan memulihkan kondisi lingkungan yang tercemar, sehingga berpotensi sebagai agen bioremediasi.

Perairan yang terdapat di Kota Singaraja, Kabupaten Buleleng, Bali telah banyak tercemar oleh berbagai limbah rumah tangga dan industri yang merusak serta menurunkan kualitas kesehatan sungai. Sungai-sungai seperti Sungai Tukad Buleleng dan Tukad Banyumala merupakan sungai di Kota Singaraja yang menerima berbagai limbah domestik dari masyarakat sekitar yang dapat menurunkan kualitas air dan ekosistem sekitarnya. Indeks pencemaran Sungai Buleleng menunjukkan peningkatan dari hulu ke hilir, yang pada bagian hilir terjadi peningkatan sebesar 2,09 yang menunjukkan adanya penurunan kualitas air secara signifikan (Dinas Lingkungan Hidup Kabupaten Buleleng, 2023). Pada kedua sungai tersebut, telah ditemukan adanya pencemaran air yang berpotensi menyebabkan kanker bagi masyarakat yang menggunakan air sungai sebagai air konsumsi (Tabelak, 2022).

Penanganan pencemaran limbah pewarna Rhodamine B penting untuk dilakukan guna mencegah akumulasi lebih lanjut pada lingkungan. Efek toksisitas yang mampu dihasilkan oleh Rhodamine B memiliki urgensi dan membutuhkan perhatian khusus dalam upaya penanganannya agar tidak membahayakan kesehatan lingkungan dan kelestarian makhluk hidup. Konsorsium bakteri indigenous yang terdapat pada perairan tercemar limbah di Kota Singaraja dapat dimanfaatkan sebagai kandidat mikroorganisme agen bioremediasi polutan zat warna Rhodamine B guna menemukan kandidat agen mikroorganisme pengurai yang efektif. Pemilihan kedua sungai tersebut sebagai sumber isolasi konsorsium bakteri indigenous didasari oleh kondisi sungai yang paling tercemar dan berbahaya dibandingkan dengan sungai-sungai kecil lainnya yang berada di wilayah Kota Singaraja. Eksplorasi potensi bakteri indigenous pada perairan tercemar limbah di wilayah Kota Singaraja sebagai agen bioremediasi belum pernah dilakukan sebelumnya, sehingga terdapat urgensi untuk mengevaluasi potensi yang dimiliki oleh bakteri indigenous asal perairan tercemar limbah di wilayah Kota Singaraja sebagai mikroorganisme lokal agen bioremediasi.

Selain memberikan solusi terkait pencemaran lingkungan oleh pewarna Rhodamine B, penelitian ini juga sejalan dengan tematik PKM 2025 nomor 8 yakni **Pelestarian Lingkungan dan Mitigasi Bencana** yang memiliki tujuan untuk mengkaji potensi-potensi yang ada demi kelestarian ekosistem. Tujuan pelaksanaan riset ini

adalah untuk mengetahui potensi konsorsium bakteri indigenous yang diisolasi dari perairan tercemar limbah di Kota Singaraja sebagai agen mikroorganisme pengurai zat warna tekstil Rhodamine B. Hasil pelaksanaan riset yang diperoleh diharapkan dapat memberikan keberlanjutan pada riset lain yang relevan atau berkaitan dengan bioremediasi Rhodamine B, baik pada skala laboratorium maupun penerapannya pada skala lingkungan secara langsung.

## METODE

Pelaksanaan riset dilakukan secara in-vitro bertempat di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi dan Perikanan Kelautan, Universitas Pendidikan Ganesha selama 1 bulan pada Desember tahun 2024. Bahan yang digunakan dalam pelaksanaan riset mencakup sampel sedimen perairan tercemar limbah, media pertumbuhan NB, dan zat warna Rhodamine B. Peralatan yang digunakan mencakup *centrifuge*, inkubator, dan spektrofotometri UV-Visible. Desain riset menggunakan desain eksperimen rancangan acak lengkap (RAL) dengan 10 kali pengulangan pada setiap perlakuan yang diberikan.

Isolasi konsorsium bakteri indigenous pada wilayah perairan tercemar di Kota Singaraja dilakukan pada Sungai Tukad Banyumala (-8,1158071, 115,0758360) dan Sungai Tukad Buleleng (-8,1079336, 115,0928965). Tahapan isolasi dilakukan dengan mengambil lapisan sedimen pada perairan sungai menggunakan Van Veen *bottom grab sampler* pada beberapa titik dan dilakukan pencampuran sampel sedimen untuk menghasilkan sampel komposit (Dissanayake *et al*, 2021; Phulpoto *et al*, 2021; Custodio *et al*, 2022). Isolasi bakteri indigenous dilakukan dengan mengambil sampel komposit sedimen perairan sebanyak 1 g kemudian diinokulasikan pada 100 ml *nutrient broth*, disertai dengan penambahan nystatin sebagai antifungi sehingga mikroorganisme yang tumbuh pada media *nutrient broth* (NB) dapat dipastikan merupakan konsorsium bakteri indigenous asal sedimen komposit. Media *nutrient broth* (NB) selanjutnya diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam dalam kondisi anaerob fakultatif (Chaijak *et al*, 2023). Pengamatan pertumbuhan dilakukan setelah masa inkubasi yang mana kemunculan endapan pada media *nutrient broth* menandakan adanya pertumbuhan positif bakteri indigenous.

Modifikasi media *nutrient broth* (NB) untuk pengujian bioremediasi oleh bakteri indigenous dilakukan dengan menambahkan zat warna Rhodamine B pada media NB (Ahmad *et al*, 2021). Sebanyak 100 mg zat warna Rhodamine B dilarutkan dalam 1.000 ml media NB kemudian dihomogenkan hingga berwarna merah terang. Uji bioremediasi zat warna Rhodamine B secara in-vitro dilakukan melalui bioaugmentasi dengan menambahkan bakteri pada media pertumbuhan yang termodifikasi dengan Rhodamine B (Ahmad *et al*, 2021; Chaijak *et al*, 2023). Sebanyak 10 ml inokulum konsorsium bakteri indigenous yang telah diperoleh diinokulasikan pada 100 ml media pertumbuhan NB termodifikasi Rhodamine B 100 ppm (Ahmad *et al*, 2021). Media NB selanjutnya diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam dalam kondisi anaerob fakultatif. Sampling hasil perlakuan bioremediasi melalui bioaugmentasi konsorsium bakteri indigenous dilakukan setelah 48 jam atau setelah 2 hari masa inkubasi berlangsung guna mengukur efisiensi degradasi yang dapat dihasilkan. Media *nutrient broth* tanpa diberikan perlakuan bioaugmentasi konsorsium bakteri indigenous digunakan sebagai kelompok kontrol dalam riset.

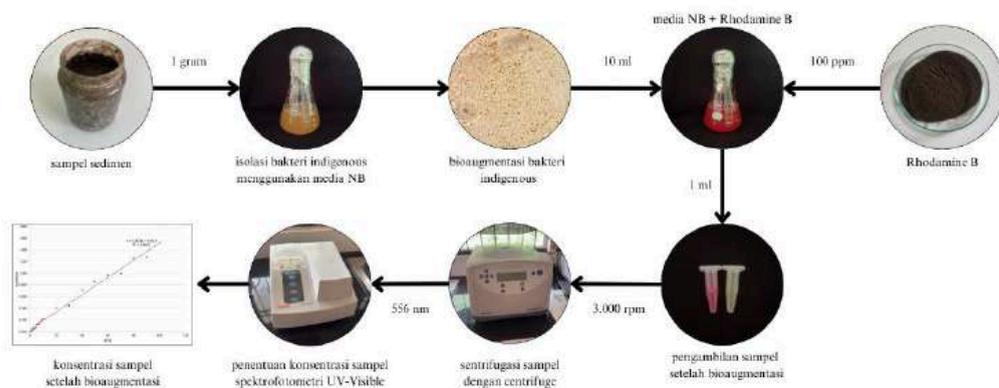
Penentuan konsentrasi zat warna Rhodamine B pada media *nutrient broth* setelah perlakuan bioaugmentasi dilakukan melalui sentrifugasi untuk memisahkan

pelet dan supernatan. Sebanyak 1 ml media NB termodifikasi zat warna Rhodamine B setelah perlakuan bioaugmentasi bakteri indigenous dengan waktu inkubasi selama 48 jam diambil lalu dimasukkan ke dalam tube. Sampel media NB selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit menggunakan *centrifuge* (Bararah, 2021). Supernatan yang diperoleh selanjutnya dilakukan penghitungan nilai absorbansi pada panjang gelombang 556 nm menggunakan spektrofotometri UV-Visible. Penentuan konsentrasi zat warna Rhodamine B dilakukan dengan menghitung nilai absorbansi yang dihasilkan oleh spektrofotometri UV-Visible dengan kurva standar Rhodamine B.

Data kuantitatif berupa konsentrasi Rhodamine B pada media *nutrient broth* setelah perlakuan bioaugmentasi dianalisis menggunakan rumus persentase bioremediasi (Ahmad *et al*, 2021).

$$\% \text{ Bioremediasi} = \frac{\text{Konsentrasi Rh-B Awal} - \text{Konsentrasi Rh-B Akhir}}{\text{Konsentrasi Rh-B Awal}} \times 100\% \quad (1)$$

Metode analisis data statistika dilakukan dengan menggunakan uji ANOVA *One Way* pada taraf signifikansi sebesar 0,05 untuk pengujian hipotesis. Perlakuan bermakna signifikan apabila nilai  $p < 0,05$  yang mana terdapat perbedaan yang signifikan pada setiap perlakuan bioaugmentasi. Apabila terdapat perbedaan yang signifikan maka tahapan analisis data statistika akan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Test* menggunakan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui perbedaan efektivitas pada seluruh perlakuan yang diberikan.



Gambar 1. Alur Tahapan Pelaksanaan Riset Bioaugmentasi Konsorsium Bakteri Indigenous dalam Bioremediasi Pewarna Rhodamine B

## HASIL DAN PEMBAHASAN

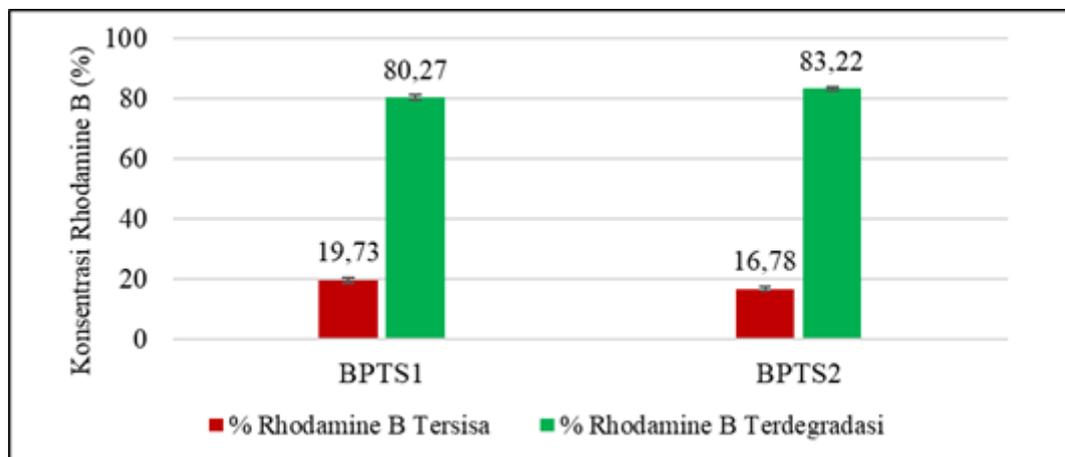
Hasil isolasi konsorsium bakteri indigenous pada wilayah perairan tercemar di Kota Singaraja yang dilakukan dengan mengambil sedimen perairan sungai pada Sungai Tukad Banyumala dan Sungai Tukad Buleleng, menunjukkan pertumbuhan positif setelah 48 jam inkubasi pada suhu 30°C dalam kondisi lingkungan anaerob fakultatif. Pertumbuhan positif bakteri indigenous ditandai dengan adanya endapan berwarna putih keruh pada media NB. Konsorsium bakteri indigenous yang diisolasi dari sedimen Sungai Tukad Banyumala diberikan kode BPTS1 sedangkan yang berasal dari sedimen Sungai Tukad Buleleng diberikan kode BPTS2. Kedua konsorsium bakteri indigenous

tersebut kemudian diuji kemampuan bioremediasinya melalui bioaugmentasi pada media NB dengan Rhodamine B 100 mg/L.

Perlakuan bioaugmentasi konsorsium bakteri indigenous dari wilayah perairan tercemar limbah di Kota Singaraja terhadap bioremediasi zat warna Rhodamine B pada media NB menunjukkan adanya efektivitas bioremediasi yang signifikan setelah 48 jam masa inkubasi. Konsorsium bakteri indigenous BPTS1 yang diisolasi dari sedimen Sungai Tukad Banyumala memiliki efektivitas bioremediasi Rhodamine B sebesar 80,27%, dengan konsentrasi akhir Rhodamine B yang tersisa pada media NB berjumlah sebanyak  $19,73 \pm 0,798$  mg/L (Tabel 2 dan Gambar 1). Efektivitas bioremediasi zat warna Rhodamine B tertinggi pada media NB terdapat pada konsorsium bakteri indigenous BPTS2 yang diisolasi dari sedimen Sungai Tukad Buleleng. Konsorsium bakteri indigenous BPTS2 memiliki efektivitas bioremediasi zat warna Rhodamine B sebesar 83,22% dengan konsentrasi akhir yang tersisa pada media NB sebanyak  $16,78 \pm 0,701$  mg/L (Tabel 2 dan Gambar 1).

**Tabel 1.** Konsentrasi Zat Warna Rhodamine B setelah Perlakuan dengan Bioaugmentasi Konsorsium Bakteri Indigenous selama 48 jam

Konsorsium	Absorbansi	Konsentrasi (mg/L)	% Bioremediasi
BPTS1	$0,332 \pm 0,012$	$19,73 \pm 0,798$	80,27%
BPTS2	$0,288 \pm 0,010$	$16,78 \pm 0,701$	83,22%



**Gambar 2.** Grafik Persentase Bioremediasi Zat Warna Rhodamine B setelah Perlakuan dengan Bioaugmentasi Konsorsium Bakteri Indigenous selama 48 jam

Berdasarkan hasil uji hipotesis yang telah dilakukan dengan uji ANOVA *One Way*, diperoleh nilai F sebesar 4,927 dan nilai p sebesar 0,0001 (Tabel 3). Nilai p tersebut lebih kecil dari 0,05 ( $p < 0,05$ ), yang bermakna bahwa terdapat pengaruh signifikan dari bioaugmentasi konsorsium bakteri indigenous dari wilayah perairan tercemar limbah terhadap bioremediasi zat warna Rhodamine B secara *in vitro* pada media *nutrient broth*.

**Tabel 3.** Hasil Analisis Statistika Bioremediasi Zat Warna Rhodamine B setelah Perlakuan Bioaugmentasi dengan Menggunakan Uji ANOVA *One Way*

Variabel	F	p	Keterangan
Konsentrasi Rhodamine B	4,927	0,0001	Signifikan

**Tabel 4.** Nilai p pada Analisis Statistika dengan uji BNT terhadap Bioremediasi Zat Warna Rhodamine B setelah Perlakuan Bioaugmentasi Konsorsium Bakteri

Perlakuan	Kontrol	BPTS1	BPTS2
<b>Kontrol</b>	-	0,0001	0,0001
<b>BPTS1</b>	0,0001	-	0,0001
<b>BPTS2</b>	0,0001	0,0001	-

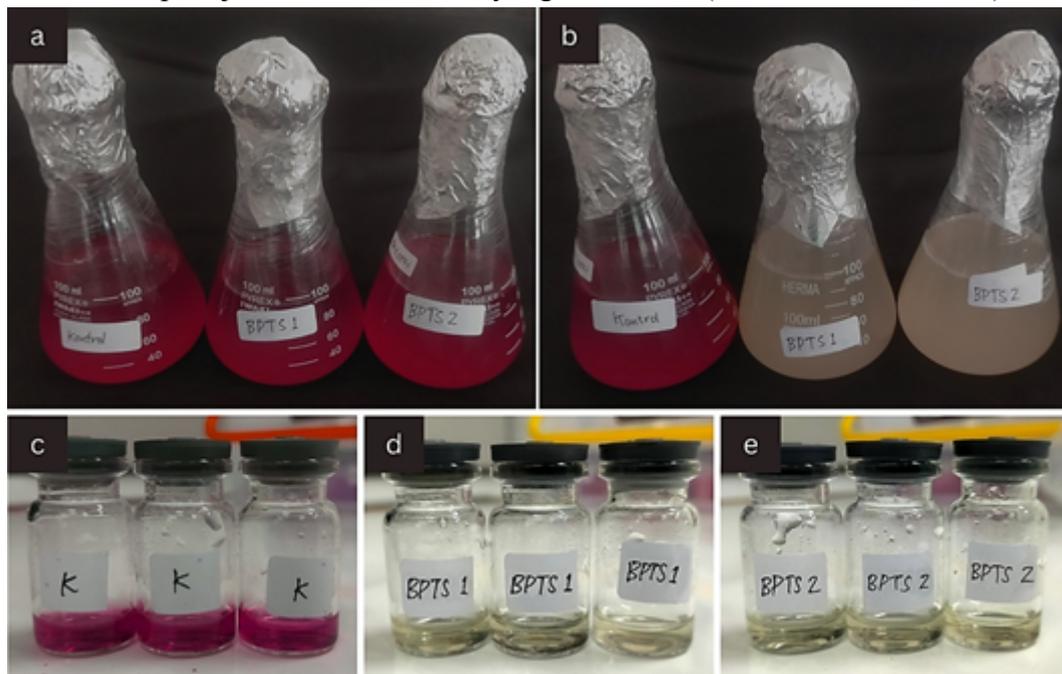
Hasil uji Post Hoc Test dengan uji Beda Nyata Terkecil (uji BNT) menunjukkan bahwa perlakuan kontrol tanpa bioaugmentasi konsorsium bakteri indigenous memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan perlakuan bioaugmentasi konsorsium bakteri indigenous BPTS1 dan BPTS2, dengan masing-masing nilai p sebesar 0,0001 (Tabel 4). Nilai p yang lebih kecil dari 0,05 ( $p < 0,05$ ) menunjukkan bahwa perbedaan tersebut bermakna signifikan secara statistik. Perlakuan bioremediasi melalui bioaugmentasi konsorsium bakteri indigenous BPTS1 dan BPTS2 memiliki perbedaan rerata yang bermakna signifikan, dengan nilai p sebesar 0,0001 ( $p < 0,05$ ). Hasil uji BNT menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan bioaugmentasi berbeda signifikan. Ditinjau berdasarkan efektivitas bioremediasi yang diperoleh, bioaugmentasi konsorsium bakteri indigenous BPTS2 memiliki efektivitas tertinggi yang berbeda secara signifikan dengan perlakuan bioaugmentasi konsorsium bakteri indigenous BPTS1 dan perlakuan kontrol. Sementara itu, bioaugmentasi konsorsium bakteri indigenous BPTS1 juga menunjukkan efektivitas secara signifikan lebih tinggi dibandingkan perlakuan kontrol tanpa bioaugmentasi bakteri indigenous.

Proses biodegradasi yang terjadi pada Rhodamine B oleh bakteri melibatkan pemecahan struktur kompleks pewarna menjadi senyawa yang lebih sederhana dan kurang beracun. Pemecahan zat warna Rhodamine B mampu menghasilkan  $\text{CO}_2$  sebagai produk akhir dari proses biodegradasi (Ahmad *et al.*, 2021). Hasil pemecahan senyawa tersebut kemudian dimanfaatkan oleh bakteri sebagai sumber karbon. Disamping itu, zat warna Rhodamine B juga memiliki unsur nitrogen yang merupakan unsur esensial dalam pertumbuhan bakteri. Mekanisme yang berlangsung dalam proses bioremediasi melalui bioaugmentasi bakteri adalah biodegradasi dengan biotransformasi, yang mana struktur senyawa yang bersifat kompleks diuraikan menjadi bentuk senyawa lain dengan struktur yang lebih sederhana.

Selama proses degradasi Rhodamine B, terjadi dua proses yang berlangsung secara bersamaan yaitu distilasi dan proses penghancuran zat warna struktur kromofor. Proses distilasi menghasilkan senyawa diethylethylrhodamine (DER), ethylethylrhodamine (EER), diethylrhodamine (DR), ethylrhodamine (ER), dan Rhodamine (R). Sedangkan, proses penghancuran zat warna struktur kromofor akan menghasilkan *isophthalic acid*, dan *benzoic acid*, yang mana pemutusan struktur kromofor Rhodamin B akan menurunkan intensitas zat warna yang ditunjukkan dengan dekolorisasi Rhodamin B. Senyawa-senyawa yang terbentuk akan mengalami proses

degradasi lanjutan dan menyebabkan penghilangan warna atau peristiwa dekolorisasi pada pewarna Rhodamine B.

Degradasi Rhodamine B melibatkan proses kompleks yang menghasilkan produk akhir berupa  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , dan  $\text{NH}_4$  (Ahmad *et al*, 2021). Amonium atau  $\text{NH}_4$  dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi bagi bakteri untuk melakukan berbagai proses biosintesis makromolekul dalam sel. Amonium merupakan sumber nutrisi yang murah dan mudah secara metabolik yang oleh bakteri dapat dimanfaatkan sebagai sumber nitrogen (Yao *et al*, 2020; Darnajoux *et al*, 2022). Keberadaan nitrogen digunakan sebagai sumber produksi berbagai macam enzim, asam amino, protein, serta sintesis asam nukleat sehingga sangat penting untuk pertumbuhan bakteri. Produk  $\text{CO}_2$  yang dihasilkan dari hasil pemecahan Rhodamine B juga dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi oleh bakteri indigenous yang digunakan sebagai agen bioremediasi. Bakteri memiliki kemampuan dalam memanfaatkan  $\text{CO}_2$  sebagai sumber karbon melalui proses metabolisme sehingga memungkinkannya digunakan sebagai sumber materi untuk pertumbuhan serta menghasilkan produk-produk metabolisme lainnya (MacLean *et al*, 2024; Santos *et al*, 2024). Karbon merupakan unsur yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi esensial dan pembentuk biomassa bakteri. Kelimpahan sumber karbon yang tersedia memiliki korelasi positif terhadap jumlah biomassa sel bakteri yang dihasilkan. Semakin tinggi ketersediaan sumber karbon maka semakin besar pula jumlah biomassa sel yang dihasilkan (Wulandari *et al*, 2020).



**Gambar 3.** Kondisi Media NB Termodifikasi Rhodamine B yang Diberikan Perlakuan Bioaugmentasi Konsorsium Bakteri Indigenous Asal Wilayah Perairan Tercemar di Kota Singaraja: a. Kondisi Awal setelah Perlakuan (Kontrol, BPTS1, BPTS2), b. Kondisi Akhir setelah Perlakuan selama 48 Jam (Kontrol, BPTS1, BPTS2), c. Supernatan Media NB Termodifikasi Perlakuan Kontrol, d. Supernatan Media NB Termodifikasi Perlakuan BPTS1, dan e. Supernatan Media NB Termodifikasi Perlakuan BPTS2

Hasil yang diperoleh dari bioremediasi Rhodamine B melalui bioaugmentasi konsorsium bakteri indigenous yang diisolasi dari dua sedimen perairan tercemar

limbah di Kota Singaraja menunjukkan efektivitas degradasi sebesar 80,27% pada konsorsium bakteri BPTS1 dan 83,22% pada konsorsium bakteri BPTS2. Tingkat degradasi yang diperoleh menunjukkan jika konsorsium bakteri indigenous BPTS1 dan BPTS2 mampu mendegradasi Rhodamine B secara signifikan hingga melebihi nilai 80%. Efektivitas yang dihasilkan juga menunjukkan tingkat bioremediasi Rhodamine B yang tinggi melalui pengamatan secara kualitatif yang menunjukkan adanya proses penghilangan warna atau biodekolorisasi signifikan pada media NB termodifikasi (Gambar 2). Perubahan warna media NB termodifikasi Rhodamine B melalui mekanisme biodekolorisasi mengindikasikan jika terdapat degradasi pewarna yang menyebabkan penghilangan warna. Kompleks senyawa Rhodamine B akan diuraikan menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga zat warna merah pada media NB termodifikasi akan memudar atau menghilang.

Hasil pemecahan senyawa Rhodamine B hingga pada tahap mineralisasi akan membentuk produk akhir yang selanjutnya dapat digunakan oleh bakteri agen bioremediasi sebagai sumber nutrisi dan energi dalam proses pertumbuhan. Semakin tinggi substrat yang digunakan, dalam hal ini adalah tingginya persentase dekolorisasi Rhodamine B yang terjadi, maka semakin tinggi pula pertumbuhan bakteri yang terjadi akibat pemanfaatan substrat (Ahmad *et al*, 2021). Pemanfaatan Rhodamine B oleh bakteri agen bioremediasi sebagai sumber energi pertumbuhan didapat melalui jalur metabolisme dalam kondisi aerobik dan anaerobik dengan mensekresi enzim-enzim seperti azoreductase, laccase atau peroxidase untuk mengkatalisis Rhodamine B (Al-Tohamy *et al*, 2022). Karena hasil pemecahan zat warna Rhodamine B digunakan sebagai sumber energi dalam proses pertumbuhan, maka reaksi yang terjadi tergolong sebagai reaksi metabolisme sekunder yang menguraikan senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Kemudian senyawa sederhana tersebut digunakan sebagai sumber nutrisi dan energi dalam reaksi metabolisme primer untuk mendukung pertumbuhan bakteri indigenous.

Berdasarkan efektivitas bioremediasi Rhodamine B yang dihasilkan, konsorsium bakteri indigenous BPTS2 (83,22%) memiliki efektivitas degradasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan konsorsium bakteri indigenous BPTS1 (80,27%). Hasil yang diperoleh mengindikasikan bahwa konsorsium bakteri indigenous BPTS2 memiliki kebutuhan nutrisi yang lebih tinggi dibandingkan dengan konsorsium bakteri indigenous BPTS1, yang mana zat warna Rhodamine B dimanfaatkan dalam jumlah yang lebih tinggi sebagai sumber nutrisi potensial dalam media pertumbuhan. Sedangkan, aktivitas konsorsium bakteri indigenous BPTS1 lebih rendah dalam mendegradasi Rhodamine B sebagai sumber nutrisi potensial. Efektivitas bioremediasi memiliki kaitan erat dengan kemampuan mikroorganisme dalam memanfaatkan keberadaan polutan sebagai sumber nutrisi (Chen *et al*, 2024). Bakteri yang mampu memanfaatkan polutan hidrokarbon sebagai sumber energi dapat meningkatkan efektivitas bioremediasi hidrokarbon (Luo *et al*, 2024).

Dalam bioaugmentasi, kemampuan bakteri dalam memanfaatkan polutan sebagai nutrisi dapat meningkatkan efektivitas bioremediasi sehingga memungkinkan terjadinya degradasi yang lebih efisien pada lingkungan (Mehta *et al*, 2024). Efektivitas bioremediasi bakteri berkaitan dengan kemampuan mereka dalam memanfaatkan polutan sebagai sumber nutrisi melalui berbagai metabolisme yang memungkinkan terjadinya proses degradasi, sehingga akan meningkatkan efektivitas penghilangan polutan dari lingkungan yang mengalami kontaminasi (Sarhan, 2023). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa konsorsium bakteri indigenous BPTS1 memiliki

kemampuan yang lebih rendah dalam memanfaatkan Rhodamine B sebagai sumber nutrisi dibandingkan dengan konsorsium bakteri indigenous BPTS2.

Pemilihan bakteri indigenous sebagai agen bioremediasi merupakan solusi yang paling efektif dalam penurunan konsentrasi polutan zat warna. Bakteri indigenous mampu bertahan pada konsentrasi polutan yang tinggi tanpa menimbulkan efek jangka panjang yang merugikan bagi ekosistem (Irawati *et al*, 2023). Pemanfaatan bakteri indigenous mampu meminimalkan resiko masuknya spesies mikroorganisme non-asli yang berpotensi mengganggu ekosistem alami. Meskipun demikian, aktivitas degradasi bakteri indigenous di alam cenderung stagnan karena dipengaruhi oleh berbagai faktor penghambat, sedangkan aktivitas degradasi yang efisien biasanya terjadi pada kondisi lingkungan yang terkontrol. Aktivitas bioremediasi bakteri indigenous dapat mengalami keterbatasan nutrisi di lingkungan alaminya, sehingga menghambat proses metabolisme dan menurunkan kemampuan degradasinya (Okafor *et al*, 2021). Keberadaan racun yang tidak mampu ditoleransi oleh bakteri indigenous di alam, seperti beberapa jenis logam berat dan hidrokarbon dapat turut menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri, yang mengurangi efektivitasnya dalam upaya biodegradasi (Bekele *et al*, 2023). Untuk mengoptimalkan aktivitas degradasi, upaya biodegradasi dapat dilakukan dengan menggunakan bakteri indigenous sebagai agen bioremediasi pengolahan air limbah tekstil melalui kondisi lingkungan yang terkontrol. Kultur bakteri indigenous dalam laboratorium yang terkontrol, seperti pengaturan suhu inkubasi dan ketersediaan nutrisi, dapat membantu meningkatkan aktivitas degradasi secara signifikan (Quinones-Cerna *et al*, 2024). Melalui kondisi lingkungan yang terkontrol dalam bioreaktor, aktivitas bioremediasi dapat ditingkatkan sehingga penggunaan agen bakteri indigenous sebagai agen pengurai memiliki prospek tinggi untuk bioremediasi Rhodamine B ataupun pewarna azo lainnya.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, dapat disimpulkan jika konsorsium bakteri indigenous yang diisolasi dari wilayah perairan tercemar limbah di Kota Singaraja memiliki persentase efektivitas yang tinggi dalam meremediasi zat warna Rhodamine B. Konsorsium bakteri BPTS1 dan BPTS2 menunjukkan efektivitas bioremediasi masing-masing sebesar 80,27% dan 83,22% dalam uji invitro di laboratorium, yang mengindikasikan potensi keduanya sebagai agen bioremediasi. Di antara keduanya, BPTS2 memiliki efektivitas tertinggi (83,22%), sehingga berpotensi lebih besar untuk digunakan sebagai agen bioremediasi berdasarkan efektivitas bioremediasi yang dihasilkan. Proses bioremediasi yang terjadi menunjukkan adanya biodekolorisasi zat warna Rhodamine B yang signifikan pada media NB.

## DAFTAR PUSTAKA