



Biodegradasi Pewarna Tekstil Rhodamin B oleh Bakteri Pembentuk Biofilm

Sitti Wirdhana Ahmad^{a*}, Nur Arfa Yanti^a, Fatimah Alwi Albakar^b

^aJurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Halu Oleo
Kampus Hijau Bumi Tridharma, Anduonohu Jl. H.E.A. Mokodompit, Kendari Sulawesi Tenggara 30921, Indonesia
^bMahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Halu Oleo

*Corresponding author: wirdhanaaxtalora@yahoo.com

DOI: 10.20961/alchemy.17.2.49010.151-158

Received 28 February 2021, Accepted 01 June 2021, Published 09 September 2021

Kata kunci:

biodegradasi;
bakteri pembentuk
biofilm;
Rhodamin B.

ABSTRAK. Rhodamin B merupakan salah satu pewarna yang paling sering digunakan pada industri tekstil. Limbah pewarna tekstil ini dapat mencemari lingkungan jika masuk ke lingkungan melebihi ambang batas normal. Penggunaan bakteri pembentuk biofilm sebagai agensia pendegradasi Rhodamin B sangat memungkinkan karena mampu meningkatkan degradasi senyawa melalui interaksi antar bakteri sehingga mampu melengkapi proses metabolik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri lokal pembentuk biofilm dalam mendegradasi pewarna tekstil Rhodamin B. Penelitian ini menggunakan 3 isolat bakteri pembentuk biofilm yang diperoleh dari perairan Tanjung Tiram, Kabupaten Konawe Selatan, Sulawesi Tenggara, yaitu isolat bakteri *Chromohalobacter sp.* BfTT2.1.5, *Bacillus sp.* BfTT2.11 dan *Vibrio sp.* BfTT2.14. Kemampuan biodegradasi Rhodamin B oleh isolat bakteri pembentuk biofilm dideteksi menggunakan tiga parameter yaitu dekolonisasi pewarna Rhodamin B menggunakan metode spektrofotometri, kadar CO₂ terlarut menggunakan metode titrasi dan total sel bakteri menggunakan metode *drop plate*. Berdasarkan uji kemampuan dalam mendegradasi pewarna tekstil Rhodamin B, *Chromohalobacter sp.* BfTT2.1.5 mampu mendegradasi Rhodamin B sebanyak 36,1% lebih tinggi dibanding *Bacillus sp.* BfTT2.11 (33,24%) dan *Vibrio sp.* BfTT2.14 (16,18%). Ketiga isolat bakteri pembentuk biofilm mampu menggunakan Rhodamin B sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya. Oleh karena itu, isolat bakteri pembentuk biofilm sangat berpotensi digunakan sebagai agensia bioremediasi pewarna tekstil Rhodamin B.

Keywords:

biodegradation;
biofilm-forming
bacteria;
Rhodamine B.

ABSTRACT. Biodegradation of Textile Dye Rhodamine B Using Biofilm-forming Bacteria. Rhodamine B is one of the most widely used dyes in the textile industry. This textile dye waste can pollute the environment if it enters the environment beyond the normal threshold. The use of biofilm-forming bacteria as agents to degrade Rhodamine B is possible because it can increase the degradation of compounds through interactions between bacteria to complete the metabolic process. The purpose of this study was to find out the resistance of local biofilm-forming bacteria isolates to Rhodamine B textile dyes and to find out the ability of local biofilm-forming bacterial isolates in degrading Rhodamine B textile dyes. This study used three isolates of biofilm-producing bacteria obtained from the waters of Tanjung Tiram, Konawe Selatan Regency, Southeast Sulawesi, namely *Chromohalobacter sp.* BfTT2.1.5, *Bacillus sp.* BfTT2.11 dan *Vibrio sp.* BfTT2.14 bacterial isolates. The ability of biofilm-forming bacteria isolates to degrade Rhodamine B was detected using three parameters including decolorization of Rhodamine B dye using a spectrophotometry method, dissolved CO₂ levels using the titration method, and total bacterial cells using the drop plate method. The results show that the isolate bacteria *Chromohalobacter sp.* BfTT2.1.5 is able to degrade Rhodamine B as much as 36.1% higher than *Bacillus sp.* BfTT2.11 (33.24%) and *Vibrio sp.* BfTT2.14 (16.18%). The three biofilm-forming bacteria isolates were able to use Rhodamine B as a carbon source for growth. Therefore, the local isolates biofilm-forming bacteria are potential to be used as bioremediation agents for Rhodamine B textile dyes.

PENDAHULUAN

Perkembangan industri di era globalisasi saat ini memiliki peranan yang sangat penting bagi kehidupan manusia. Salah satu industri yang mengalami kemajuan pesat adalah industri tekstil dan pakaian jadi. Badan Pusat Statistik Indonesia mencatat bahwa kelompok industri tekstil mengalami pertumbuhan secara cepat dari 6,48% pada tahun 2018 menjadi 20,71% pada tahun 2019. Kemajuan industri tekstil selain menimbulkan dampak positif juga diikuti dengan dampak negatif bagi lingkungan. Dampak negatif yang ditimbulkan berupa pembuangan limbah pewarna tekstil secara langsung ke lingkungan. Pewarna tekstil ketika berada di lingkungan masih dalam keadaan berwarna dan sulit untuk didegradasi (Naimah *et al.*, 2014). Pewarna yang paling banyak digunakan oleh industri tekstil adalah Rhodamin B. Limbah pewarna ini, jika masuk ke lingkungan akan merusak penampilan fisik

perairan, menyebabkan kematian biota perairan, akumulasi logam berat dalam daging ikan dan moluska (Utari *et al.*, 2015).

Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk menangani pencemaran lingkungan yang diakibatkan oleh limbah pewarna tekstil adalah pengolahan secara biologis menggunakan bakteri. Beberapa penelitian sebelumnya yang melaporkan penggunaan bakteri untuk proses biodegradasi Rhodamin B, antara lain *Pseudomonas monteilii* (Fulekar *et al.*, 2013), *Shewanella oneidensis* MR-1 (Xiao *et al.*, 2019), *Staphylococcus aureus* NCIM 2127 (Das *et al.*, 2016), *Pasteurella sp.* B4, dan *Proteus sp.* B6 (Utari *et al.*, 2015). Bakteri pembentuk biofilm merupakan bakteri yang juga berpotensi digunakan untuk mendegradasi limbah pewarna tekstil seperti Rhodamin B. Bakteri pembentuk biofilm adalah komunitas sel bakteri yang mampu memproduksi matriks polimer ekstraseluler, yaitu *extracellular polymeric substances* (EPS), sebagai respons terhadap tekanan lingkungan (Costa *et al.*, 2018). EPS dapat mencegah difusi senyawa-senyawa toksik yang dapat membahayakan sel bakteri serta mampu mengatur pertumbuhan sel (Sastrawidana and Sukarta, 2013).

Penggunaan bakteri pembentuk biofilm untuk degradasi senyawa kimia memiliki beberapa keuntungan yaitu, menghasilkan kepadatan populasi sel yang lebih tinggi, lebih efisien terhadap penggunaan nutrisi, dan lebih tahan terhadap perubahan kondisi lingkungan, sehingga aktivitas biodegradasinya lebih tinggi (Sastrawidana and Sukarta, 2013). Isolat bakteri pembentuk biofilm berhasil diisolasi dari perairan Tanjung Tiram, Kabupaten Konawe Selatan, Sulawesi Tenggara, yaitu isolat bakteri *Chromohalobacter sp.* BfTT2.1.5, *Bacillus sp.* BfTT2.11, dan *Vibrio sp.* BfTT2.14. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ketiga isolat bakteri lokal pembentuk biofilm sebagai agensia bioremediasi pewarna tekstil, khususnya pewarna Rhodamin B.

METODE PENELITIAN

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Spektrofotometer UV-VIS, *Shaker*, *Laminar air flow* (LAF), *Hot plate*, seperangkat alat gelas, mikropipet. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri pembentuk *Biofilm* (*Chromohalobacter sp.* BfTT2.1.5, *Bacillus sp.* BfTT2.11, dan *Vibrio sp.* BfTT2.14), Rhodamin B, media NA (*Nutrient Agar*), (Merck) media LB (*Luria Bertani*) (Merck), Natrium Hipoklorit (NaOCl) (Merck), Na₂CO₃ (Merck), larutan indikator Phenolftalein (PP), dan akuades.

Penyiapan Alat dan Bahan

Pembuatan media NA (*Nutrient Agar*), Media LB (*Luria Bertani*), dilanjutkan sterilisasi peralatan dan bahan yang digunakan pada penelitian menggunakan metode sterilisasi uap bertekanan menggunakan autoklaf bertekanan 1 atm 121 °C, selama 20 menit.

Preparasi Inokulum Bakteri

Isolat bakteri *Chromohalobacter sp.* BfTT2.1.5, *Bacillus sp.* BfTT2.11, dan *Vibrio sp.* BfTT2.14 diremajakan pada media *Nutrient agar* miring dan diinkubasi pada suhu 30 °C selama 24 jam. Inokulum bakteri dibuat dengan cara isolat bakteri yang telah diremajakan, diinokulasi sebanyak 1 loop jarum inokulasi (ose) pada 5 mL media Luria Bertani (LB) dalam tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam hingga terbentuk biofilm. Pembentukan biofilm ditandai dengan terbentuk lapisan tipis berwarna putih keruh di permukaan media cair.

Uji Kemampuan Bakteri Pembentuk Biofilm dalam Mendegradasi Rhodamin B

Uji kemampuan isolat bakteri dilakukan pada media Luria Bertani (LB) yang mengandung Rhodamin B 500 ppm. Inokulum ketiga isolat bakteri diambil sebanyak 10 mL (10%, v/v media) dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL yang berisi media LB+Rhodamin B sebanyak 100 mL, selanjutnya diinkubasi dengan digoyang pada *shaker* inkubator dengan kecepatan 140 rpm selama 8 hari (192 jam). Sampling dilakukan setiap 2 hari (48 jam) selama masa inkubasi untuk pengukuran parameter degradasi. Pada penelitian ini digunakan media tanpa inokulum bakteri sebagai kontrol.

Pengukuran Parameter

Parameter yang diukur untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi Rhodamin B meliputi dekolorisasi pewarna menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 556 μm (Das *et al.*, 2016), kadar CO₂ terlarut menggunakan metode titrasi (Idrus, 2018), total sel bakteri menggunakan metode *drop plate* seperti yang dijelaskan oleh Reed dan Reed (2011).

Analisis Data

Data yang diperoleh berupa data kuantitatif yang meliputi persentase dekolonisasi Rhodamin B, kadar CO₂ terlarut, total sel bakteri dan nilai pH, dianalisis secara deskriptif. Data kuantitatif dianalisis menggunakan rumus-rumus yaitu persentase dekolonisasi (1), kadar CO₂ (2), dan total sel bakteri (3).

$$Dp_t = \frac{abs_i - ab_t}{abs_i} \times 100 \quad (1)$$

Keterangan:

DP_t = Persentase dekolonisasi (%)

Abs_i = Nilai absorbansi Rhodamin B awal

Abs_t = Nilai absorbansi Rhodamin B akhir (pada waktu tertentu)

$$CO_2 = \frac{1000}{V} \times p \times 0,045 \quad (2)$$

Keterangan:

p = Volume titran yang digunakan (mL)

V = Volume sampel yang dititrasi (mL)

0,045 = Normalitas Na₂CO₃ yang digunakan (N)

$$Total\ bakteri \left(\frac{CFU}{mL} \right) = Jumlah\ koloni \times \frac{1}{Fp \times Vol.drop} \quad (3)$$

Keterangan:

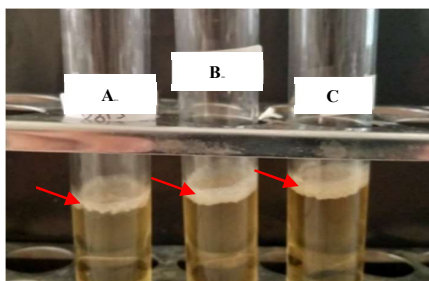
Fp = faktor pengencer

Vol. drop = volume yang didrop di atas permukaan media (μL)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembentukan *Biofilm* oleh Ketiga Isolat Bakteri

Bakteri pembentuk biofilm adalah bakteri yang mampu memproduksi eksopolisakarida (EPS). Pembentukan eksopolisakarida ditandai dengan terbentuknya pelikel pada permukaan media cair, seperti yang ditampilkan pada Gambar 1. Indikator pembentukan biofilm pada media cair oleh isolat bakteri seperti yang dilaporkan pada penelitian ini, sesuai dengan penelitian Marti *et al.* (2011) yang melaporkan bahwa isolat bakteri yang positif membentuk biofilm ditandai dengan terbentuknya pelikel pada permukaan media cair dan media kultur tetap transparan (jernih).



Gambar 1. Pembentukan biofilm oleh isolat bakteri *Chromohalobacter sp.* BfTT2.15 (A), *Vibrio sp.* BfTT2.14 (B) dan *Bacillus sp.* BfTT2.11 (C) pada media *Luria Bertani* (LB). Tanda panah menunjukkan biofilm yang terbentuk.

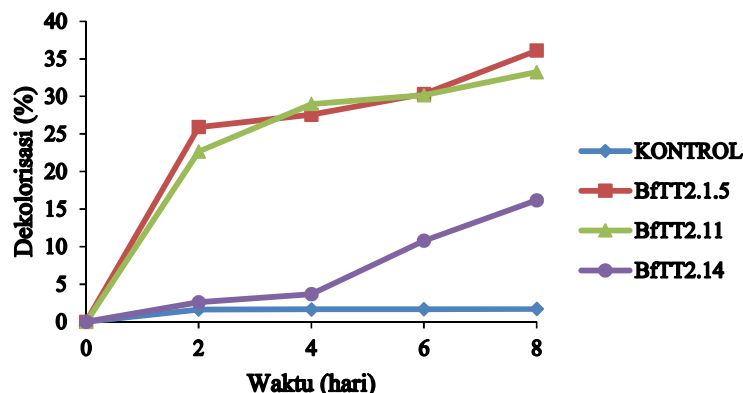
Gambar 1 menunjukkan bahwa tiga isolat bakteri uji mampu membentuk pelikel biofilm (lapisan tipis) di permukaan media. Sel bakteri yang tumbuh, berkumpul di permukaan media dan tidak tumbuh secara homogen di media, sehingga tidak menimbulkan kekeruhan pada media cair dan media tetap jernih (Gambar 1). Tortora *et al.* (2013) menyatakan bahwa biofilm merupakan kumpulan sel bakteri yang menempel pada permukaan media dan tertutup dalam matriks perekat yang merupakan produk ekskresi sel. Matriks ini merupakan campuran polisakarida, protein, dan asam nukleat yang mengikat sel secara bersama. Biofilm mengandung DNA dan protein, yang sering secara informal disebut lendir (Tortora *et al.*, 2013). Biofilm menjebak nutrisi untuk pertumbuhan mikroba dan membantu mencegah pelepasan sel pada permukaan (Jamal *et al.*, 2015).

Biofilm yang dibentuk oleh ketiga isolat bakteri lokal asal perairan Tanjung Tiram sangat membantu dalam mendegradasi senyawa Rhodamin B yang merupakan senyawa toksik. Menurut Mohapatra *et al.* (2019) EPS pada biofilm memiliki anion yang memungkinkan biopolimer untuk secara efisien menyerap ion logam berat dan bahan

pewarna bermuatan positif. Kehadiran senyawa yang bersifat toksik akan menginduksi gen resistensi pada biofilm sehingga mengaktifkan enzim yang akan mereduksi senyawa toksik (Mohapatra *et al.*, 2019).

Biodegradasi Rhodamin B oleh Bakteri Pembentuk Biofilm

Aktivitas biodegradasi Rhodamin B ketiga isolat bakteri pembentuk biofilm dianalisis menggunakan parameter meliputi dekolorisasi pewarna Rhodamin B untuk mengetahui pengurangan substrat (Rhodamin B), kadar CO₂ terlarut sebagai produk degradasi, dan total sel bakteri untuk menganalisis pertumbuhan bakteri. Dekolorisasi Rhodamin B oleh tiga isolat bakteri pembentuk biofilm tercantum pada Gambar 2.

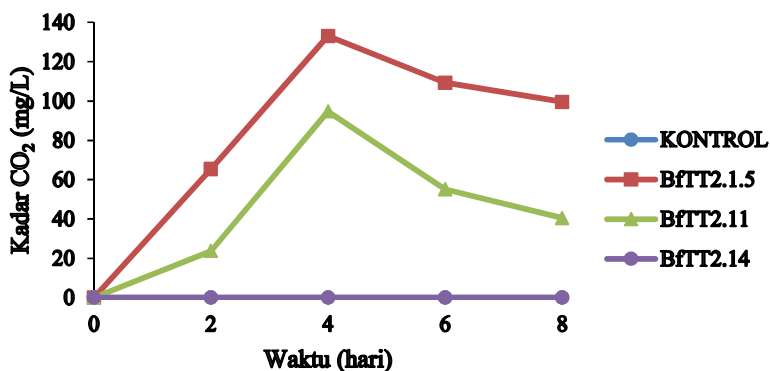


Gambar 2. Persentase dekolorisasi Rhodamin B selama 8 hari inkubasi.

Berdasarkan Gambar 2 diketahui bahwa ketiga isolat bakteri mampu melakukan dekolorisasi Rhodamin B. Isolat bakteri *Chromohalobacter sp.* BfTT2.1.5 mengalami peningkatan nilai persentase dekolorisasi Rhodamin B hingga 36,1% setelah 8 hari, sedangkan *Bacillus sp.* BfTT2.11 sebesar 33,24% dan *Vibrio sp.* BfTT2.14 sebesar 16,18% (Gambar 2). Peningkatan persentase dekolorisasi Rhodamin B yang terjadi selama masa inkubasi mengindikasikan bahwa ketiga isolat bakteri mampu mendegradasi Rhodamin B. Dekolorisasi Rhodamin B menunjukkan bahwa struktur kromofor pewarna Rodamin B mengalami pemutusan (penghancuran) sehingga terjadi penurunan intensitas zat warna. Yu *et al.* (2009) menyatakan bahwa selama proses degradasi Rhodamin B, terjadi dua proses yang berlangsung secara bersamaan yaitu deetilasi dan proses penghancuran zat warna struktur kromofor. Proses deetilasi akan menghasilkan empat zat antara, yaitu *diethylethylrhodamine* (DER), *diethylrhodamine* (DR), *ethylrhodamine* (ER) dan Rhodamin (R), sedangkan pada proses penghancuran zat warna struktur kromofor akan menghasilkan *isophthalic acid*, *benzoic acid* dan lainnya. Senyawa-senyawa yang terbentuk dari kedua proses tersebut, akan mengalami degradasi lanjutan sehingga menyebabkan terjadinya proses penghilangan warna (dekolorisasi) pada Rhodamin B.

Efektivitas dekolorisasi Rhodamin B isolat bakteri *Chromohalobacter sp.* BfTT2.1.5 yang mencapai 36,1%, paling tinggi dibandingkan dengan *Bacillus sp.* BfTT2.11 (33,24%), dan *Vibrio sp.* BfTT2.14 (16,18%) (Gambar 2). Dekolorisasi Rhodamin B yang dilakukan oleh isolat bakteri *Chromohalobacter sp.* BfTT2.1.5 (36,1%) dan *Bacillus sp.* BfTT2.11 (33,24%) yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan beberapa isolat bakteri pembentuk biofilm pada penelitian sebelumnya, seperti *Proteus sp.* (31,35%), *Pseudomonas sp.* (22,63%) oleh Utari *et al.* (2015), namun lebih rendah dibandingkan efektivitas dekolorisasi *Pasteurella sp.* (40,55%) oleh Utari *et al.* (2015) dan isolat bakteri *Staphylococcus aureus* NCIM 2127 sebesar 49,05% (Das *et al.*, 2016).

Produk yang terbentuk sebagai hasil akhir dari degradasi Rhodamin B secara sempurna atau proses mineralisasi yang dilakukan oleh isolat bakteri salah satunya yaitu karbon dioksida (CO₂). Pengukuran kadar karbon dioksida (CO₂) terlarut dilakukan menggunakan metode titrasi (Idrus, 2018). Parameter yang diamati berupa perubahan warna bening menjadi merah muda pada sampel, yang dititrasi menggunakan titran Natrium karbonat (Na₂CO₃) 0,045 N. Kadar karbon dioksida (CO₂) terlarut hasil degradasi Rhodamin B isolat bakteri selama 8 hari inkubasi tercantum pada Gambar 3.

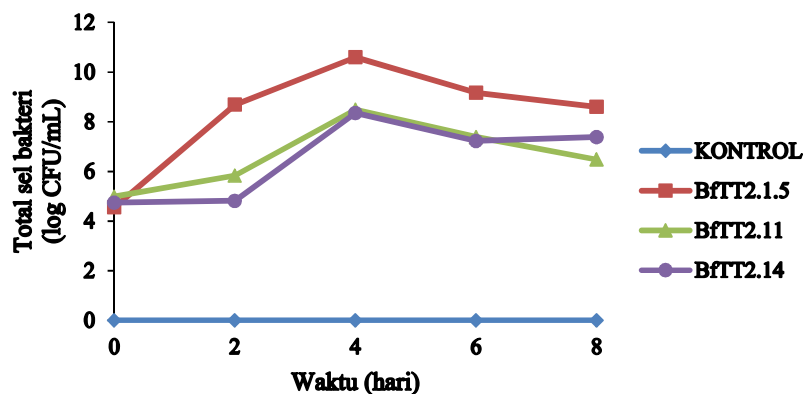


Gambar 3. Kadar Karbon dioksida (CO_2) terlarut hasil degradasi Rhodamin B selama waktu inkubasi.

Berdasarkan Gambar 3 diketahui bahwa kadar CO_2 yang dihasilkan oleh isolat bakteri *Chromohalobacter sp.* BfTT2.1.5 dan *Bacillus sp.* BfTT2.11 mengalami peningkatan hingga hari ke-4 inkubasi dan setelah itu kadar CO_2 mengalami penurunan. Gambar 3 juga menunjukkan bahwa isolat bakteri *Vibrio sp.* BfTT2.14 tidak menghasilkan CO_2 dari awal inkubasi sampai berakhirnya waktu inkubasi. Hal ini mengindikasikan bahwa isolat bakteri *Chromohalobacter sp.* BfTT2.1.5 dan *Bacillus sp.* BfTT2.11 mampu mendegradasi Rhodamin B dalam media sampai ke tahap mineralisasi sehingga menghasilkan produk akhir berupa CO_2 , sedangkan *Vibrio sp.* BfTT2.14 mampu mendegradasi namun tidak sampai ke tahap mineralisasi. Menurut Xiao, *et al.* (2019), proses degradasi yang terjadi pada Rhodamin B akan menghasilkan senyawa *diethylethylrhodamine* (DER), *ethylethylrhodamine* (EER), *diethylrhodamine* (DR), *ethylrhodamine* (ER), dan Rhodamin (R). Kelima senyawa tersebut akan terdegradasi secara berurutan oleh pemutusan berbagai ikatan dan akhirnya mengarah pada pembentukan produk akhir menjadi CO_2 , H_2O , dan NH_4^+ .

Kadar CO_2 yang dihasilkan oleh isolat bakteri *Chromohalobacter sp.* BfTT2.1.5 dan *Bacillus sp.* BfTT2.11 setelah 4 hari inkubasi mengalami penurunan, karena pada awal inkubasi (2–4 hari) aktivitas kedua isolat bakteri dalam mendegradasi Rhodamin B sangat tinggi dan diakhir masa inkubasi (6–8 hari) aktivitasnya mulai menurun. Hal ini diperkuat dengan data persentase dekolonisasi Rhodamin B pada Gambar 2 yang menunjukkan bahwa dekolonisasi Rhodamin B oleh kedua isolat bakteri tersebut meningkat cukup tinggi pada hari ke-2 inkubasi dan mulai berkurang aktivitasnya setelah hari ke-4. Hasil ini didukung oleh pernyataan Lubna dan Sembiring (2013), bahwa pada awal inkubasi terjadi aktivitas tertinggi dari mikroorganisme dalam memanfaatkan substrat yang berada dalam media. Setelah itu kadar CO_2 mengalami penurunan hingga akhir waktu inkubasi yang disebabkan karena persediaan substrat yang berada dalam media semakin sedikit dan menyebabkan aktivitas mikroorganisme juga semakin kecil sehingga CO_2 yang dihasilkan juga semakin sedikit. Analisis total sel bakteri dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan isolat bakteri selama proses degradasi Rhodamin B. Pertumbuhan isolat bakteri pembentuk biofilm pada media Rhodamin B selama 8 hari disajikan pada Gambar 4.

Berdasarkan Gambar 4 diketahui bahwa pada awal waktu inkubasi yaitu pada hari ke-2 hingga hari ke-4 ketiga isolat bakteri pembentuk biofilm meningkat pertumbuhannya, hal ini mengindikasikan bahwa ketiga isolat bakteri dapat menggunakan Rhodamin B sebagai nutrisi untuk pertumbuhannya. Indikasi ini diperkuat dengan data persentase dekolonisasi Rhodamin B pada Gambar 2 yang meningkat hingga hari ke-4 inkubasi. Peningkatan persentase dekolonisasi yang diiringi dengan peningkatan pertumbuhan bakteri tersebut mengindikasikan bahwa degradasi senyawa Rhodamin B dilakukan oleh isolat bakteri untuk digunakan untuk pertumbuhannya. Menurut Sorta *et al.* (2012) bakteri dapat tumbuh dengan memanfaatkan nutrisi dari limbah cair pewarna untuk menghasilkan energi dan sumber karbon, dengan cara memecah limbah pewarna menjadi senyawa sederhana yang dapat digunakan untuk pertumbuhannya. Namun, semakin lama waktu inkubasi maka jumlah bakteri juga akan semakin menurun. Hal ini dapat disebabkan karena nutrisi dalam media semakin berkurang, dengan adanya jumlah sel yang semakin bertambah sehingga mengakibatkan terjadinya kompetisi perebutan nutrisi dalam media (Kusumaningati *et al.*, 2013).



Gambar 4. Pertumbuhan isolat bakteri pembentuk biofilm pada media Rhodamin B.

Berdasarkan data persentase dekolonisasi (Gambar 2), kadar CO_2 terlarut (Gambar 3) dan pertumbuhan bakteri (Gambar 4) diketahui bahwa isolat bakteri *Chromohalobacter sp.* BfTT2.15 memiliki kemampuan mendegradasi Rhodamin B lebih tinggi dibanding *Bacillus sp.* BfTT2.11 dan *Vibrio sp.* BfTT2.14. Isolat bakteri *Chromohalobacter sp.* BfTT2.15 mampu mendekolorisasi Rhodamin B hingga 36,10%, dan menghasilkan kadar CO_2 terlarut sebesar 133,05 mg/L dengan jumlah sel bakteri tertinggi sebesar $4,0 \times 10^{10}$ CFU/mL. *Bacillus sp.* BfTT2.11 mampu mendekolorisasi hingga 33,24% menghasilkan kadar CO_2 terlarut sebesar 94,72 mg/L dengan jumlah sel bakteri tertinggi sebesar $3,0 \times 10^8$ CFU/mL, sedangkan *Vibrio sp.* BfTT2.14 hanya mampu mendekolorisasi Rhodamin B sebesar 16,18%, tanpa menghasilkan CO_2 dan jumlah sel tertinggi adalah $2,2 \times 10^8$ CFU/mL.

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa isolat bakteri *Chromohalobacter sp.* BfTT2.15 dan *Bacillus sp.* BfTT2.11 melakukan proses mineralisasi Rhodamin B atau degradasi secara sempurna. Hal ini dibuktikan dengan peningkatan persentase dekolonisasi Rhodamin B sebagai substrat seiring dengan meningkatnya jumlah sel bakteri dan CO_2 yang dihasilkan sebagai produk akhir degradasi terdeteksi pada media pertumbuhan. Hasil ini sesuai dengan penelitian Zhou *et al.* (2020) yang melaporkan bahwa mineralisasi Rhodamin B menghasilkan produk akhir CO_2 , H_2O , NO_3^- , dan NH_4^+ . Isolat bakteri *Vibrio sp.* BfTT2.14 melakukan degradasi namun tidak sampai ke tahapan mineralisasi atau proses degradasi Rhodamin B tidak sempurna. Hal ini ditunjukkan dengan adanya peningkatan nilai dekolonisasi seiring dengan peningkatan jumlah sel, namun tidak ada CO_2 yang dihasilkan. Penelitian Xiao *et al.* (2019) mendukung hasil penelitian ini, yang melaporkan bahwa proses degradasi Rhodamin B yang tidak sempurna ditunjukkan dengan terjadinya dekolonisasi Rhodamin B, namun produk akhir dari proses mineralisasi Rhodamin B berupa CO_2 tidak ditemukan pada media uji.

Proses degradasi Rhodamin B yang dilaporkan oleh Isari and Fattahi (2018) terdiri atas beberapa tahapan, yaitu deetilasi, pemutusan struktur kromofor, pembukaan struktur cincin dan mineralisasi, seperti yang ditampilkan pada Gambar 5. Xiao *et al.* (2019) melaporkan pula bahwa bakteri akan mendegradasi Rhodamin B melalui dua cara yaitu proses deetilasi dan pemutusan struktur kromofor. Proses deetilasi adalah proses penghilangan gugus etil pada struktur kimia Rhodamin B dan menghasilkan *N-diethyl-N'-ethylrhodamine* (DER). Senyawa intermediet yang dihasilkan selanjutnya akan terdegradasi secara berurutan melalui pemutusan berbagai ikatan dan akhirnya mengarah pada pembentukan produk akhir. Kedua cara tersebut terjadi secara berurutan dan dapat menyebabkan molekul Rhodamin B menuju senyawa tidak berwarna dan akhirnya menjadi CO_2 dan H_2O (Isari and Fattahi, 2018; Xiao *et al.*, 2019).

Pembentukan biofilm yang terjadi karena interaksi antar sel bakteri bermanfaat secara fisik dan fisiologis dalam proses degradasi pewarna Rhodamin B. Sel-sel bakteri yang membentuk biofilm, akan terlindungi oleh matriks ekstraseluler sehingga mampu beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang tercemar oleh pewarna tekstil bersifat toksik dan menjaga kelangsungan hidup sel bakteri untuk melakukan proses degradasi polutan tersebut (Decho, 2000; Wewriandini and Martani, 2019; Haque *et al.*, 2021). Wewriandini and Martani (2019) melaporkan bahwa biofilm yang dibentuk oleh konsorsium sel mikroba, dapat meningkatkan kemampuan dekolonisasi pewarna tekstil Vat Violet 1. Haque *et al.* (2021) juga melaporkan bahwa pembentukan biofilm oleh konsorsium bakteri dapat meningkatkan kemampuan dekolonisasi dan degradasi pewarna tekstil *methyl orange*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa tiga isolat bakteri pembentuk biofilm mampu mendegradasi pewarna Rhodamin B. Isolat bakteri *Chromohalobacter sp. BfTT2.1.5* dan isolat BfTT2.11 mampu mendegradasi Rhodamin B secara sempurna sedangkan isolat bakteri *Vibrio sp. BfTT2.14* melakukan degradasi tidak sempurna. Efektivitas dekolonisasi Rhodamin B isolat bakteri *Chromohalobacter sp. BfTT2.1.5* lebih tinggi dibandingkan isolat bakteri BfTT2.11 dan isolat bakteri *Vibrio sp. BfTT2.14*. Dengan demikian, ketiga isolat bakteri pembentuk biofilm berpotensi digunakan sebagai agensia bioremediasi limbah pewarna tekstil Rhodamin B di lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Costa, C.Y.A., Raaijmakers, J.M., and Kuramae, E.E., 2018. Microbial Extracellular Polymeric Substances: Ecological Function and Impact on Soil Aggregation. *Frontiers in Microbiology*, 9: 1636-1637. doi: 10.3389/fmicb.2018.01636.
- Das, R., De, A., Poddar, S., and Bhattacharjee, C., 2016. Decolorization Of Selective Textile Dyes Using Waterborne Pathogenic Bacterial Strains. *Global Journal of Engineering Science and Research Management*, 3(12): 98-107. doi: 10.5281/zenodo.225190.
- Decho, A. W. 2000. Microbial Biofilms in Intertidal Systems: an Overview. *Continental Shelf Research*, 20: 1257–1273. doi: 10.1016/S0278-4343(00)00022-4.
- Fulekar, M.H., Wadgaonkar, S.L., and Singh, A., 2013. Decolourization of Dye Compounds by Selected Bacterial Strains isolated from Dyestuff Industrial Area. *International Journal of Advancements in Research & Technology*, 2(7): 57-68. doi: 10.1016/S0168-1656(02)00303-6.
- Haque, M.M., Haque, M.A., Mosharaf, M.K., and Marcus, P.K., 2021. Decolorization, Degradation, and Detoxification of Carcinogenic Sulfonated Azo Dye Methyl Orange by Newly Developed Biofilm Consortia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28: 793-804. doi: 10.1016/j.sjbs.2020.11.012.
- Idrus, S.W.A., 2018. Analisis Kadar Karbon Dioksida di Sungai Ampenan Lombok. *Jurnal Pijar MIPA*, 13: 167-170. doi: 10.29303/jpm.v13.i2.760.
- Isari, A., and Fattahi, M., 2018. Photocatalytic Degradation of Rhodamine B And Real Textile Wastewater Using Fe-Doped TiO₂ Anchored on Reduced Graphene Oxide (Fe-TiO₂ /rGO): Characterization and Feasibility, Mechanism and Pathway Studies. *Applied Surface Science*, 462: 549-564. doi: 10.1016/j.apsusc.2018.08.133.
- Jamal, M., Ufaq, T., Hussain, T., and Andleeb, S., 2015. Bacterial Biofilm: Its Composition, Formation and Role in Human Infections. *Research & Reviews: Journal of Microbiology and Biotechnology*, 4: 1-14.
- Kusumaningati, M.A., Nurhatika, S., and Muhibuddin, A., 2013. Pengaruh Konsentrasi Inokulum Bakteri *Zymomonas mobilis* dan Lama Fermentasi pada Produksi Etanol dari Sampah Sayur dan Buah Pasar Wonokromo Surabaya. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 2: 218-222. doi: 10.12962/j23373520.v2i2.4298.
- Lubna, D., and Sembiring, E., 2013. Emisi CO₂ dan Penurunan Karbon Organik pada Campuran Tanah dan Kompos (Skala Laboratorium). *Jurnal Teknik Lingkungan*, 19: 24-32.
- Martí, S., Rodríguez-Baño, J., Catel-Ferreira, M. Jouenne, T., Vila, J., Seifert, H., and De, E., 2011. Biofilm Formation at The Solid-Liquid and Air-Liquid Interfaces by Acinetobacter Species. *BMC Research Notes*, 4(5):1-4. doi:10.1186/1756-0500-4-5.
- Mohapatra, R.K., Behera, S.S., Patra, J.K., Thatoi, H., and Parhi, P.K., 2019. Potential Application of Bacterial Biofilm for Bioremediation of Toxic Heavy Metals and Dye-Contaminated Environments. *Microbial Biotechnology and Bioengineering: Microbial Biofilms*, 7: 1-10. doi: 10.1016/B978-0-444-64279-0.00017-7.
- Naimah, S., Ardhanie A.S., Jati, B.N., Aidha, N.N. and Arianita C.A., 2014. Degradasi Zat Warna pada Limbah Cair Industri Tekstil dengan Metode Fotokatalitik Menggunakan Nanokomposit TiO₂-Zeolit. *Jurnal Kimia Kemasan*, 36: 225-236. doi: 10.24817/jkk.v36i2.1889.
- Reed, R. and Reed, G., 2011. Drop Plate Method of Counting Viable Bacteria. *Canadian Journal of Research*, 26: 317-326. doi: 10.1139/cjr48e-020.
- Sastrawidana, D., and Sukarta, I.N., 2013. Uji Coba Teknologi Biofilm Konsorsium Bakteri pada Reaktor Semi anaerob-Aerob untuk Pengolahan Air Limbah di Industri Pencelupan Tekstil Skala Rumah Tangga. *Jurnal Sains dan Teknologi*, 2: 193-201. doi: 10.23887/jst-undiksha.v1i1.1424.
- Sorta, R.R.T., Lestari, S., and Dewi, R.S., 2012. Dekolorisasi Berbagai Macam Limbah Cair Batik Menggunakan Limbah Baglog *Pleurotus ostreatus* dengan Waktu Inkubasi Berbeda. *Biosfera*, 29: 136-139. doi: 10.20884/1.mib.2012.29.3.249.

- Tortora, G.J., Funke, B.R., and Christine L.C., 2013. *Microbiology An Introduction*, 11th Edition, pp.160-161.
- Utari, S.A.S.S.L., Darmayasa, I.B.G., and Suyasa, I.W.B. 2015. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Potensi Bakteri yang Berperan pada Pengolahan Air Limbah yang Mengandung Rhodamin B dalam Biosistem Tanaman. *Jurnal Simbiosis*, 3: 301-310.
- Wevriandini, L., and Martani, E., 2019. Decolorization of Vat Violet 1 Dye from Textile Industrial Wastewater using Biofilm of Fungal and Bacterial Consortium. *Jurnal Riset Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri*, 10(2): 1-6. doi: 10.21771/jrtppi.2019.v10.no.2.p1-6.
- Xiao, X., Ma, X.L., Liu, Z.Y., Li, W.W., Yuan, H., Ma, X.B., Li, L.X., and Yu, HQ., 2019. Degradation of Rhodamine B in a Novel Bio-Photoelectric Reductive System Composed of *Shewanella oneidensis* MR-1 and Ag₃PO₄. *Environment International* 126, 560–567. doi: 10.1016/j.envint.2019.03.010.
- Yu, K., Yang, S., He, H., Sun, C., Gu, C., and Ju, Y., 2009. Visible Light-Driven Photocatalytic Degradation of Rhodamine B over NaBiO₃: Pathways and Mechanism. *Journal of Physics and Chemical*, 113: 10024–10032. doi: 10.1021/jp905173e.
- Zhou, C., Liu, Z., Fang, L., Guo, Y., Feng, Y., and Yang, M., 2020. Kinetic and Mechanistic Study of Rhodamine B Degradation by H₂O₂ and Cu/Al₂O₃/g-C₃N₄ Composite. *Catalysts*, 10(3): 317. doi: 10.3390/catal10030317.