

Tema Penelitian : Lingkungan

LAPORAN PENELITIAN KLUSTER

**LIMBAH INDUSTRI BATIK
MENGUNAKAN PEWARNA ALAM:
AMANKAH BAGI LINGKUNGAN?**



Penanggung jawab:
Dr. Ir. Yanisworo Wijaya Ratih, M. Si.
Prodi Agroteknologi, Fakultas Pertanian

**UNIVERSITAS PEMBANGUNAN NASIONAL "VETERAN" YOGYAKARTA
TAHUN 2014**

A. LAPORAN HASIL PENELITIAN

LEMBAR PENGESAHAN

Judul penelitian	: Limbah industri batik menggunakan pewarna alam: Amankah bagi lingkungan?
Cakupan Bidang ilmu	: Biologi Tanah, Ilmu Tanah, Budidaya pertanian, Bioremediasi
Arah Riset	: Pengujian keamanan limbah bagi lingkungan dan rancangan teknik bioremediasi limbah industri batik pewarna alami
Ketua peneliti:	
a. Nama lengkap	: Dr. Ir. Yanisworo Wijaya Ratih, MSi
b. Jenis Kelamin	: Perempuan
c. Jabatan Fungsional	: Lektor Kepala 400
d. Fakultas/ Jurusan	: Pertanian/ Agroteknologi
Jumlah Tim Peneliti	: 3 (empat) orang
Lokasi Penelitian	: Laboratorium Biologi Tanah dan Lingkungan, Agroteknologi-Faperta UPN "Veteran" Yogyakarta
Mitra Penelitian	: -
Lama Penelitian	: 3 (tiga) tahun
Biaya yang diperlukan tahun I	
a. Sumber UPN	: Rp. 25.000.000,00
b. Sumber lain	: -
Jumlah	: Rp. 25.000.000,00

Mengetahui
Dekan Fakultas Pertanian,

Yogyakarta, 11 September 2014
Ketua Peneliti,

Partoyo, SP, MP.
NPY. 2700490031001

Dr. Ir. Yanisworo WR., MSi
NIP. 19610105 198803 1001

Menyetujui
Ketua LPPM UPN "Veteran" Yogyakarta,

Dr. Ir. Heru Sigit Purwanto, MT
NIP. 19581202 199203 1 001

LIMBAH INDUSTRI BATIK MENGGUNAKAN PEWARNA ALAMI: AMANKAH BAGI LINGKUNGAN?

ABSTRAK

Industri batik berkembang pesat karena tren pakaian batik sedang diminati oleh semua kalangan. Beberapa senyawa pewarna bersifat menghambat pertumbuhan jamur dan bakteri, sehingga sering digunakan sebagai antibiotik alami. Kemampuan senyawa tersebut menghambat pertumbuhan mikrobia perlu diwaspadai karena ada kemungkinan bahwa paparannya dalam tanah dapat mengurangi populasi mikrobia. Selama pewarnaan dilakukan proses yang disebut dengan mordanting menggunakan senyawa mordan. Beberapa mordan yang efektif dan sering digunakan mengandung logam. Apabila tidak dilakukan dengan hati-hati, proses mordanting berpotensi menimbulkan efek karsinogenik. Pemaparan limbah di alam juga berdampak terhadap perubahan pH lingkungan. Di sentra industri batik dengan pewarna alam seperti di Wukirsari, pada umumnya limbah produksi batik langsung dibuang dalam sumur resapan tanpa diberi perlakuan tertentu. Penelitian ini mempunyai tujuan mengetahui keamanan limbah di alam dengan mempelajari pengaruh limbah industri batik pewarna alami terhadap viabilitas bakteri tanah, serta mengetahui kemampuan mikrobia tanah dalam merombak senyawa pewarna alami batik tersebut. Tujuan jangka panjangnya adalah mendapatkan isolat bakteri yang mampu merombak senyawa pewarna alami serta menciptakan teknik bioremediasi yang tepat dengan menggunakan isolat bakteri unggul yang berhasil diisolasi. Dalam penelitian ini, limbah yang akan diuji dipilih berdasarkan warna dominan yang dihasilkan yaitu pewarnaan merah, biru, kuning dan warna gelap, diambil dari desa Wukirsari, Kecamatan Imogiri, Kabupaten Bantul. Masing-masing jenis limbah diuji pengaruhnya terhadap viabilitas bakteri alami tanah. Diuji pula kemampuan komunitas bakteri tanah dalam merombak senyawa dasar pewarna alam. Contoh tanah yang digunakan diambil di sekitar sentra industri terkait. Hasil penelitian menunjukkan bahwa limbah batik pewarna alami mempunyai parameter pencemar (BOD, COD, pH, kadar logam) di atas ambang batas, namun demikian jumlah bakteri total mencapai lebih dari 10^5 sel/ml dan jumlah bakteri pelarut fosfat dalam limbah tersebut relatif tinggi, yaitu mencapai sekitar 10^4 sel/ml. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang terdapat dalam limbah termasuk senyawa yang relatif mudah dirombak, bukan termasuk senyawa yang bersifat toksik, seperti logam berat. Limbah batik pewarna alam mahoni dan indigo berpengaruh positif terhadap viabilitas bakteri total, penambat nitrogen dan bakteri pelarut fosfat. Limbah batik pewarna alami jolawe berperan positif terhadap viabilitas bakteri total, namun demikian menurunkan viabilitas bakteri penambat nitrogen maupun pelarut fosfat. Diperoleh 14 isolat bakteri dari limbah batik pewarna alami. Namun demikian kemampuan dekolorisasi terhadap limbah dari isolat yang diperoleh masih rendah, sehingga masih diperlukan upaya untuk mendapatkan isolat lain. Limbah batik pewarna alami sangat prospektif untuk dimanfaatkan sebagai media untuk budidaya azolla, mengingat kadar bahan organik, kadar bakteri total dan bakteri pelarut fosfatnya relatif tinggi.

Kata kunci: Pewarna alam, limbah, bakteri, viabilitas

PRAKATA

Puji syukur atas rahmat dan karuniaNya yang telah memberi kemudahan sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan dari penelitian yang berjudul **LIMBAH INDUSTRI BATIK MENGGUNAKAN PEWARNA ALAMI:AMANKAH BAGI LINGKUNGAN?** Penelitian yang bertujuan untuk mengetahui keamanan limbah di alam dengan mempelajari pengaruh limbah industri batik pewarna alami terhadap bakteri tanah, serta mengetahui kemampuan mikrobial tanah dalam merombak senyawa pewarna alami batik ini dibiayai oleh LPPM Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Yogyakarta. Diharapkan penelitian ini dapat dilanjutkan sehingga mendapatkan isolat bakteri yang mampu merombak senyawa pewarna alami serta menciptakan teknik bioremediasi yang tepat dengan menggunakan isolat bakteri unggul yang berhasil diisolasi.

Peneliti mengucapkan rasa terima kasih kepada bapak Dr. Ir. Heru Sigit Purwanto, MT sebagai ketua LPPM, Partoyo, SP. MP. Ph D. sebagai Dekan Fakultas Pertanian, serta semua pihak yang telah membantu terselesainya penelitian dan penulisan laporan ini. Penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun. Semoga laporan ini bermanfaat bagi yang membutuhkannya.

Yogyakarta, 11 September 2014

Penulis

DAFTAR ISI

A.	LAPORAN HASIL PENELITIAN.....	1
	Lembar pengesahan.....	2
	Abstrak.....	3
	Prakata.....	4
	Daftar Isi.....	5
	Daftar Tabel.....	6
	Daftar Gambar.....	7
	Daftar Lampiran.....	8
	I. PENDAHULUAN.....	9
	1. Latar Belakang dan permasalahan	9
	2. Tujuan Penelitian.....	10
	II. KEBAHARUAN PENELITIAN.....	11
	III. LUARAN PENELITIAN.....	20
	IV. METODE PENELITIAN.....	21
	V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23
	VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	33
	Daftar Pustaka.....	34
	Lampiran.....	35
B.	DRAFT ARTIKEL ILMIAH.....	38
C.	SINOPSIS PENELITIAN LANJUTAN.....	50

DAFTAR TABEL

	Hal.
Tabel 1. Sifat kimiawi limbah batik pewarna alami.....	23
Tabel 2. Sifat tanah yang digunakan dalam penelitian.....	24
Tabel 3. pH tanah setelah ditambah dengan limbah campuran.....	24
Tabel 4. Hasil analisis pendahuluan mikrobiologis limbah batik pewarna alami.....	25
Tabel 5. Persamaan regresi pertumbuhan bakteri total dalam tanah yang ditambah dengan limbah selama inkubasi 21 hari.....	27
Tabel 6. Persamaan regresi pertumbuhan bakteri penambat nitrogen dalam tanah yang ditambah dengan limbah selama inkubasi 21 hari.....	28
Tabel 7. Persamaan regresi pertumbuhan bakteri pelarut fosfat dalam tanah yang ditambah dengan limbah selama inkubasi 21 hari.....	29
Tabel 8. Kadar flavanoid dan fenolik limbah batik pewarna alami.....	30
Tabel 9. Pengujian dekolonisasi oleh isolat bakteri dari limbah batik pewarna alami.....	32

DAFTAR GAMBAR

	Hal.
Gambar 1. Komunitas bakteri pelarut fosfat yang terdapat dalam limbah.....	25
Gambar 2. Populasi bakteri dalam limbah pewarna batik menggunakan jolawe, mahoni, indigo dan campuran.....	26
Gambar 3. Analisis viabilitas bakteri dalam tanah yang ditambah limbah pewarna batik.....	26
Gambar 4. Perubahan jumlah sel bakteri total, dalam tanah yang ditambah dengan limbah pewarna jolawe, mahoni, indigo dan campuran pada kadar 0%, 50% dan 100%.....	27
Gambar 5. Perubahan jumlah sel bakteri penambat nitrogen, dalam tanah yang ditambah dengan limbah pewarna jolawe, mahoni, indigo dan campuran pada kadar 0%, 50% dan 100%.....	28
Gambar 6. Perubahan jumlah sel bakteri pelarut P, dalam tanah yang Ditambah dengan limbah pewarna jolawe, mahoni, indigo dan campuran pada kadar 0%, 50% dan 100%.....	29
Gambar 7. Isolat bakteri yang diperoleh dari limbah batik pewarna alami.....	31
Gambar 8. Pengujian dekolorisasi oleh isolat bakteri dari limbah batik Pewarna alami.....	32

DAFTAR LAMPIRAN

	Hal.
Lampiran 1. Jumlah sel bakteri total dalam tanah yang ditambah limbah pewarna batik selama 21 hari inkubasi.....	35
Lampiran 2. Jumlah sel bakteri penambat nitrogen dalam tanah yang ditambah limbah pewarna batik selama 21 hari inkubasi.....	36
Lampiran 3. Jumlah sel bakteri pelarut p dalam tanah yang ditambah limbah pewarna batik selama 21 hari inkubasi.....	37

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang dan permasalahan

Batik yang merupakan kekayaan bangsa Indonesia saat ini telah berkembang. Industri tekstil di Indonesia, khususnya industri batik, sedang berkembang pesat karena tren pakaian batik sedang diminati oleh semua kalangan. Sentra industri batik dengan pewarna alami muncul di beberapa daerah. Di DIY sentra industri tersebut dapat dijumpai di daerah Imogiri, Bantul, dan Kulon Progo. Sentra industri batik warna alami juga muncul di Klaten, Cirebon, Pasuruhan dll.

Warna merupakan komponen penting dalam industri batik karena warna menunjang estetika produk batik sehingga menarik bagi konsumen. Terdapat dua jenis pewarna tekstil yaitu pewarna sintesis dan pewarna alam. Zat warna buatan atau sintesis dibuat melalui proses reaksi kimia dengan bahan dasar berupa turunan hidrokarbon aromatik. Beberapa pewarna sintetis terutama yang berbahan dasar pewarna *azo* bersifat karsinogenik (Prabhu and Bhute, 2012). Zat warna alam sudah digunakan sejak jaman dulu untuk mewarnai tekstil. Zat warna alam dapat diperoleh dari hasil ekstrak berbagai tumbuhan seperti: akar, kayu, daun, biji, ataupun bunga. Pewarna alami mempunyai sifat relatif lebih mudah dirombak dari pada pewarna sintetis serta bersifat nonkarsinogenik (Aminoddin and Haji, 2010).

Banyak kalangan menyebutkan bahwa batik yang diproduksi dengan pewarna alami menghasilkan limbah yang bersifat ramah bagi lingkungan dan aman untuk kesehatan karena zat-zat yang terkandung dalam pewarna alami dapat mudah terurai sehingga tidak menimbulkan polusi. **Benarkah limbah hasil pengolahan batik dengan pewarna alami bersifat ramah lingkungan?**

Proses pewarnaan batik menggunakan pewarna alami pada dasarnya mirip dengan proses pewarnaan menggunakan pewarna sintetis. Dalam hal ini yang berbeda adalah jenis pewarnanya. Secara kimiawi pewarna alami merupakan senyawa poliaromatis berbasis benzen, berupa indigoid, anthraquinon dan derivatnya, senyawa flavonoid, senyawa fenolik, tanin, anthraquinoid, di-hydropyrans, serta Anthocyanidins. Senyawa tersebut di atas akan memberikan warna dominan tertentu pada kain. **Senyawa berbahan dasar benzen merupakan senyawa yang relatif sulit dirombak**, bahkan beberapa

diantara senyawa tersebut bersifat menghambat pertumbuhan jamur dan bakteri, sehingga sering digunakan sebagai antibiotik alami (Khan *et al.*, 2003; Chengaiah *et al.*, 2010).

Kemampuan senyawa tersebut menghambat pertumbuhan mikrobia perlu diwaspadai karena paparannya di alam (tanah) kemungkinan dapat pula mengurangi populasi mikrobia dalam tanah.

Salah satu faktor pembatas pewarna alam adalah kemampuannya yang kurang dalam mewarnai kain serta tidak tahan terhadap garam yang dipakai dalam pencucian sehingga warna mudah mengalami pelunturan. Untuk mengatasi hal tersebut maka selama pewarnaan dilakukan proses yang disebut dengan mordanting menggunakan senyawa mordan yang fungsinya untuk meningkatkan afinitas pewarna ke dalam bahan/kain. Beberapa mordan yang efektif dan sering digunakan adalah potassium aluminum sulfate, $KAl(SO_4)_2$ (kadang disebut dengan alum); potassium dichromate, $K_2Cr_2O_7$ (chrome mordant); besi (II) sulfate, $FeSO_4$ (iron mordant); copper (II) sulfate, $CuSO_4$ (copper mordant); dan tin (II) chloride, $SnCl_2$ (tin mordant) (Prabhu and Buthe, 2012). Dengan demikian proses mordanting tersebut sebenarnya berpotensi menimbulkan efek karsinogenik. Tergantung dari jenis kain yang akan diwarnai dan jenis pewarnanya, mordanting membutuhkan pH tertentu, asam atau basa, sehingga pada saat mordanting juga ditambahkan senyawa asam atau basis seperti kapur dan tawas. Hal ini mengakibatkan pH limbah pewarnaan batik bersifat lebih asam atau lebih basis dari pH pewarnanya sendiri. Hasil penelitian yang sedang dilakukan peneliti menunjukkan bahwa pH limbah batik pewarna alami dari Wukirsari, Imogiri, Bantul, Yogyakarta mempunyai pH 9, meskipun pH pewarna pada umumnya berkisar antara 4 sampai dengan 5.

Di sentra industri batik dengan pewarna alam seperti di Wukirsari, pada umumnya limbah produksi batik langsung dibuang dalam sumur resapan tanpa diberi perlakuan tertentu. Dengan demikian limbah berpotensi mencemari sumber-sumber air. Hal ini perlu mendapat perhatian khusus, karena dampak pencemaran baru terasa setelah beberapa puluh tahun kemudian.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mempelajari pengaruh limbah industri batik pewarna alami terhadap viabilitas bakteri tanah.
2. Mengetahui kemampuan mikrobial tanah dalam merombak senyawa pewarna alami batik.
3. Mendapatkan isolat bakteri yang mampu merombak senyawa aktif dalam limbah batik pewarna alam.
4. Menciptakan teknik penanganan limbah yang tepat secara bioremediasi, menggunakan isolat mikroba yang mampu merombak senyawa aktif limbah batik pewarna alam.
5. Mempelajari pengaruh limbah batik pewarna alam terhadap pertumbuhan tanaman pertanian yang biasa dibudidayakan.

Dalam penelitian ini, limbah yang akan diuji dipilih berdasarkan warna dominan yang dihasilkan yaitu limbah untuk pewarnaan merah, kuning, dan biru/warna gelap. Limbah diambil dari beberapa sentra industri. Masing-masing jenis limbah diuji pengaruhnya terhadap viabilitas bakteri alami tanah, yaitu: bakteri umum, bakteri penambat nitrogen dan bakteri pelarut fosfat. Diuji pula kemampuan bakteri tanah dalam merombak senyawa dasar pewarna alam. Contoh tanah yang digunakan bervariasi jenisnya/sifatnya, diambil di sekitar sentra industri terkait.

BAB II. KEBAHARUAN PENELITIAN

1. Pewarna alam

Pada dasarnya hampir seluruh jenis tumbuhan dapat menghasilkan zat warna alami yang dapat digunakan pada proses pewarnaan batik (*Natural dyeing*). Zat warna tersebut dapat diambil dari akar, batang kulit, bunga, dan daun. Beberapa jenis tumbuhan yang dapat digunakan sebagai zat warna batik antara lain: akasia, kayu alam, secang, tegeran, mengkudu, soga, ketapang, mangga, gambir dll. Proses ekstraksi komponen pewarna dari bahan tanaman merupakan proses yang penting untuk menghasilkan warna

yang berkualitas baik. Pewarna alami dapat diekstrak dengan menggunakan air dengan atau tanpa penambahan garam/asam/alkali/alkohol, selanjutnya dikeringkan pada suhu 37-40°C, sehingga kadar airnya mencapai 10-15%. Setelah kering bahan dihaluskan sehingga berbentuk powder (Moelyono, 1995).

Berdasarkan jenis warna yang dimunculkannya, pewarna alam dapat dikelompokkan menjadi (Prabhu and Buthe, 2012):

1. Pewarna warna merah, biasanya terdapat di bagian akar atau barkas tanaman. Senyawa penyusunnya pada umumnya adalah anthraquinone dan derivatinya. Warna ini bersifat stabil terhadap sinar dan pencucian.
2. Pewarna warna kuning, warna kuning merupakan warna umum di alam. Sekitar 90% pewarna kuning berupa senyawa flavanoid.
3. Pewarna warna biru, senyawa aktifnya berupa indigan.
4. Pewarna warna gelap, biasanya diperoleh dari tanaman yang kaya akan tanin.

Berdasarkan struktur gugus fungsionalnya secara kemikal, pewarna alam dibedakan menjadi (Prabhu and Buthe, 2012):

1. Pewarna kelompok indigoid (gambar 1), senyawa indigan menghasilkan warna biru, banyak terdapat dalam tanaman *indigofera tinctoria*. Indigo juga digunakan sebagai obat anti kanker, anti inflamasi serta antiulcerous .
2. Pewarna kelompok anthraquinone, merupakan quinonoids yang tergabung pada cincin benzen (apabila jumlah cincin benzennya 3 disebut anthraquinone dan dua cincin disebut naphthaquinones). Hampir semua pewarna alam merah mempunyai struktur anthraquinoid, seperti alizarin dan purpurin (Gambar 2, 3 dan 4).
3. Alphanaphthoquinones, tanaman yang mengandung bahan aktif senyawa ini banyak tumbuh di India dan Mesir. Senyawa ini memberi warna orange. Contoh senyawa dari kelompok ini adalah junglone dan lawsone (Gambar 8 Dan 9)
4. Flavonoids, memberi warna kuning-orange. Pada umumnya warna alam kuning merupakan derivat dari hydroxyl dan methoxy substituted flavones dan isoflavones. Contoh senyawa pewarna yang termasuk dalam kelompok ini adalah luteolin, fisetin, isohamnetin, dan quersetin (Gambar 10,11,12, 13) .

5. Di-hydropyrans, sangat dekat hubungannya dengan flavones. Senyawa ini bertanggung jawab terhadap munculnya warna hitam. 13
6. Anthocyanidins, warnanya berkisar antara merah apel pada pH asam sampai dengan biru anggur. Contoh senyawanya adalah carajurin (Gambar 14) yang dapat diperoleh dari daun *Bignonia chica*.

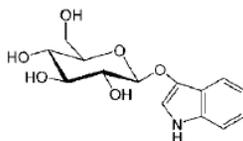


Fig. 1: Indican

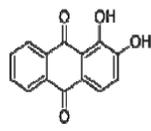


Fig. 2: Alizarin

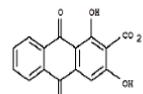


Fig. 3: Munjistin

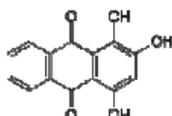


Fig. 4: Purpurin



Fig. 8: Juglone

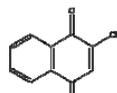


Fig. 9: Lawsone

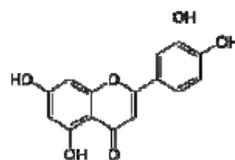


Fig. 10: Luteolin

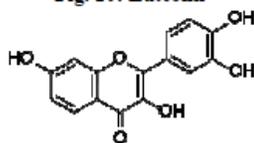


Fig. 11: Fisetin

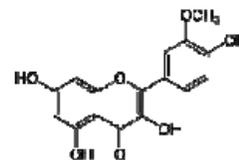


Fig. 12: Isohamnetin

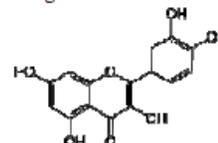


Fig. 13: Quercetin

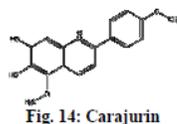


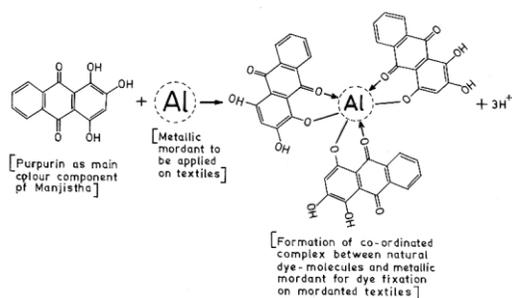
Fig. 14: Carajurin

Sumber: Prabhu and Buthe, 2012

Dapat dilihat bahwa senyawa dasar penyusun pewarna alami berupa **senyawa aromatis berstruktur dasar cincin benzen**. Pada umumnya senyawa aromatis benzen **tidak mudah mengalami perombakan**, sehingga pemaparan di alam oleh senyawa tersebut secara terus menerus dalam waktu yang lama dapat mengakitkannya terakumulasi di alam. Senyawa tersebut berpeluang menjadi senyawa yang secara laten berbahaya, dalam waktu yang relatif pendek tidak membahayakan, namun dalam jumlah yang lebih banyak, karena terjadi akumulasi, membahayakan bagi lingkungan.

Beberapa di antara senyawa tersebut bahkan bersifat menghambat pertumbuhan jamur dan bakteri, sehingga sering digunakan sebagai antibiotik alami. Pengujian terhadap ekstrak tanaman penghasil warna: *acacia catechu*, *kerria lacca*, *quercus infectoria*, *rubia cordifolia* dan *rumex maritimus* terhadap bakteri penyebab penyakit seperti *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* dan *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan bahwa pada kadar mulai 5 to 40 µg bersifat menghambat pertumbuhannya (Chengaiyah *et al.*, 2011). Pertanyaan yang menarik adalah, **apakah senyawa pewarna juga bersifat menghambat pertumbuhan mikrobia tanah yang di antaranya berperan positif dalam kesuburan?**

Senyawa besifat aman apabila mudah dirombak oleh organisme yang terdapat di lingkungan. Apabila senyawa pewarna yang ditambahkan berlebihan sehingga tidak terikat pada bahan kain, maka keberadaan mordan akan mengakibatkan terjadinya ikatan antara senyawa pewarna, sehingga menjadi lebih kompleks dan semakin sulit untuk dirombak (Gambar 15).



Sumber: Prabhu and Buthe, 2012

Dengan demikian pertanyaan dasar yang harus segera dijawab adalah apakah senyawa penyusun dasar pewarna alam bersifat ramah sehingga aman bagi lingkungan?

2.2. Proses pewarnaan batik

Proses membatik dikenal pula sebagai pewarnaan kain serat alami dengan menggunakan teknik celup rintang. Langkah awal proses membatik adalah memberi corak atau motif pada kain, selanjutnya dilakukan penempelan bahan perintang pada corak tersebut. Bagian kain menjadi bercorak karena pada waktu dicelupkan dalam cairan warna, terdapat bagian yang sengaja dirintangi. Bagian kain yang dirintangi itulah yang menimbulkan corak motif batik. Merintang kain saat dicelupkan kedalam cairan warna menggunakan berbagai cara dan berbagai jenis bahan perintang warna. Sejak zaman pra sejarah batik sudah mulai dibuat dengan menggunakan bahan kanji ketan sebagai bahan perintang warna. Namun demikian, perkembangan pengetahuan dan teknologi pembatikan berkembang terus menuju kemajuan. Dahulu batik menggunakan bahan perintang kanji ketan dengan teknik dan cara yang sederhana, kini cara itu sudah tidak digunakan lagi. Bahan perintang yang digunakan saat sekarang sudah menggunakan malam batik. Cara membubuhkan malam batik pada lembar kain dikenal dengan beberapa cara: dituliskan dengan menggunakan alat yang disebut canting, dituliskan dengan menggunakan kuas dan dicapkan dengan menggunakan cap logam (tembaga). Cara yang pertama menghasilkan kain batik tulis, sedangkan cara yang kedua akan menghasilkan batik cap. Sebetulnya karya batik tulis dan batik dalam proses pewarnaannya sama. Namun demikian, batik tulis dianggap karya batik yang memiliki nilai yang lebih tinggi dari batik cap. Proses berikutnya disebut medel yaitu pencelupan warna dasar kain pada pewarna, dilanjutkan dengan ngerok atau menghilangkan malam klowongan dan penggunaan malam berikutnya disambung dengan menyoga /pencelupan zat warna yang kedua, dan memfiksasi kain dengan fiksator (dikenal pula sebagai proses mordanting). Proses tersebut dilakukan berkali-kali sampai mendapatkan warna yang diinginkan. Langkah berikutnya adalah mbabar/nglorod yaitu pembersihan seluruh malam yang menempel di kain dengan cara dimasak dalam air mendidih dengan ditambah air tapioka lalu dicuci dan dikeringkan dengan tidak terkena sinar matahari secara langsung. Limbah yang dihasilkan dari proses nglorod dengan demikian mengandung bahan organik yang berasal dari senyawa malam/lilin serta amilum/tapioka (Ruwandi dan Suharno, 2000).

Hasil penelitian yang dilakukan peneliti bersama dengan mahasiswa bimbingan menunjukkan bahwa kadar bahan organik limbah batik dengan pewarna alam di desa Wukirsari mencapai 6,7%. Keberadaan bahan organik ini mampu memacu pertumbuhan bakteri tanah pada awal inkubasi. Namun demikian perlu diperhatikan bahwa struktur kimiawi dari malam/lilin dan amilum jauh lebih sederhana dibandingkan dengan pewarna alam. Apabila senyawa pewarna bercampur dengan malam dan amilum, mikroorganisme cenderung memanfaatkan senyawa yang lebih sederhana. **Hal ini dapat mengakibatkan semakin lama senyawa pewarna menjadi terakumulasi di alam, sehingga bersifat laten, suatu saat akan menimbulkan masalah.**

2.3. Senyawa Mordan

Salah satu faktor pembatas pewarna alam adalah kemampuannya yang kurang dalam mewarnai kain serta tidak tahan terhadap garam yang dipakai dalam pencucian sehingga warna mudah mengalami peluntran. Untuk mengatasi hal tersebut maka selama pewarnaan dilakukan proses yang disebut dengan mordanting yang fungsinya untuk meningkatkan afinitas pewarna ke dalam bahan/kain. Senyawa yang digunakan dalam proses mordanting disebut mordan. Proses mordanting sangat penting dalam pewarnaan batik. Penggunaan tipe mordan yang berbeda dapat menghasilkan warna yang berbeda walaupun jenis pewarna yang digunakan adalah sama.

Mordan dikelompokkan berdasarkan kategori sebagai berikut (Prabhu and Buthe, 2012):

1. Mordan logam, biasanya berupa garam logam dari aluminium $KAl(SO_4)_2$, chromium $K_2Cr_2O_7$, iron $FeSO_4$, copper $CuSO_4$ dan tin $SnCl_2$. Mordan berupa garam aluminium berharga murah, mudah digunakan dan bersifat aman. Mordan kromium lebih mahal, serta Cr^{3+} atau Cr^{6+} membahayakan bagi kulit manusia, sehingga mordan jenis ini jarang digunakan. Tin (stannous chloride), menghasilkan warna yang cerah. Namun demikian mudah teroksidasi. Copper (cupric sulphate), dikenal juga sebagai blue vitriol, mudah larut dalam air dan penggunaannya mudah. Namun demikian karena mengandung logam berat Cu, maka penggunaannya harus hati-hati. Iron (ferrous sulphate), merupakan mordan yang mudah larut air, digunakan untuk *darkening /browning* dan *blackening* dari

- warna. FeSO_4 ini banyak dijumpai dan merupakan mordan yang sudah digunakan sejak dari dulu.
- 2 Tanin. Dikenal dengan ‘tanning agent’ tanin adalah senyawa polyphenolic, dapat pula terdapat dalam bentuk hydrolysable pyrogallol tannins disebut pula dengan asam tanin.
 - 3 Mordan tipe minyak, minyak dari buah-buahan yang disebut dengan *Turkey red oil* (TRO) merupakan salah satu contoh dari mordan tipe minyak. Mordan TRO terutama digunakan untuk mordanting warna merah tua. Fungsi utama dari TRO adalah membentuk kompleks dengan Al ketika mordan logam Al digunakan.

Dengan memperhatikan komposisi senyawa mordan di atas, yang mengandung logam berat, maka penggunaannya yang tidak terkontrol dapat menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan. Di samping mordan yang disebut di atas, senyawa berikut: tawas, jeruk nipis, garam apur, gula kelapa, gula jawa, asam jawa, kapur, tunjung, air kelapa, cuka dapat digunakan pula sebagai mordan (Wijaya, 2010). Nilai pH limbah batik pewarna alam di desa Wukirsari mencapai 9, sedangkan pH untuk ekstrak pewarna alam berkisar antara 4-5. Peningkatan pH terjadi karena dalam proses pewarnaan digunakan kapur sebagai mordan. **Tingginya pH juga perlu diperhatikan, karena paparannya secara terus menerus akan mengakibatkan peningkatan pH lingkungan.**

2.4. Bakteri penambat nitrogen dan bakteri pelarut fosfat

Dalam penelitian ini, jenis mikrobial alam yang akan diuji viabilitasnya adalah bakteri yang bersifat umum, bakteri penambat N, serta bakteri pelarut fosfat.

Bakteri penambat nitrogen udara.

Nitrogen merupakan nutrisi yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah yang banyak, digunakan untuk menyusun bagian sel seperti protein, asam nukleat serta biomolekul penting lainnya. Lebih dari 80 % nitrogen terdapat di atmosfer, namun tidak dapat dimanfaatkan tanaman secara langsung. N udara perlu dikonversi terlebih dahulu menjadi amonia supaya dapat dimanfaatkan tanaman. Proses penambatan nitrogen dilakukan oleh enzim nitrogenase yang dikendalikan gen *nif* (Saharan dan Nehra, 2011). **Bakteri**

penambat nitrogen mampu mereduksi N_2 menjadi amonia (NH_3) yang dapat dimanfaatkan tanaman.

Beberapa kelompok bakteri mampu menambat nitrogen udara, baik secara simbiosis dan asosiasi dengan akar tanaman maupun hidup bebas dalam tanah. *Rhizobium* dan *Frankia* berturut-turut merupakan salah satu contoh bakteri penambat N yang bersimbiosis dengan tanaman legum dan tanaman berkayu non legum, *Achromobacter*, *Enterobacter* merupakan penambat N asosiatif yang hidup pada permukaan akar dan *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Acetobacter diazotrophicus*, cyanobacteria dll merupakan contoh bakteri penambat N yang hidup bebas.

Bakteri penambat N juga diketahui mampu menghasilkan fitohormon, melarutkan P serta mensintesis vitamin. Secara tidak langsung beberapa bakteri penambat N juga melindungi tanaman dari serangan patogen tanaman karena kemampuannya mensintesis antibiotik dan atau fungisidal. (Dobbelaere *et al.* 2003). Beberapa penelitian lain menunjukkan bahwa *Paenibacillus polymyxa* (Guemouri-Athmani *et al.* 2000), *Arthrobacter* sp., *Bacillus* sp. (Smit *et al.* 2001) dan organisme anggota gamma-proteobacteria seperti *Pseudomonas* sp., *Stenotrophomonas* sp., *Enterobacter* sp., *Arthrobacter* sp., *Cupriavidus* sp. dan *Stenotrophomonas*. juga mampu menambat nitrogen udara (Erturk *et al.*, 2010).

Bakteri pelarut fosfat

Unsur P merupakan elemen utama dalam tanaman namun dalam tanah di daerah tropikal, P terlarut biasanya terdapat dalam jumlah yang sangat rendah (Saharan dan Nehra, 2011). P total dapat mencapai jumlah 400–1200 mg·kg² tanah, namun konsentrasi P terlarut dalam tanah biasanya sangat rendah, kurang dari 1 ppm. Sel menyerap P dalam beberapa bentuk. Pada umumnya dalam bentuk $H_2PO_4^-$ atau HPO_4^{2-} . Mikroorganisme memegang peranan penting dalam proses pelarutan P anorganik tidak terlarut menjadi P terlarut (tersedia) bagi tanaman.

Cadangan terbesar P adalah batuan dan deposit berupa mineral primer Apatit serta mineral primer lainnya seperti hydroxyapatite dan oxyapatite (Rodríguez dan Fraga, 1999). P yang terdapat dalam mineral tersebut bersifat tidak terlarut, namun sangat potensial untuk menjadi bentuk terlarut yang dapat dimanfaatkan tanaman. Mineral fosfat

juga dapat dijumpai berasosiasi dengan permukaan oksida Fe, Al dan Mn yang sangat rendah kelarutannya.

Beberapa mikroorganisme mempunyai kemampuan melarutkan P anorganik tak terlarut sehingga menjadi tersedia bagi tanaman. Kemampuannya melarutkan fosfat karena mikroorganisme menghasilkan asam organik dan mensekresikannya ke luar sel. Asam organik secara langsung melarutkan fosfat alam karena pH lingkungan yang menurun atau gugus fungsional asam organik mengkhelasi ion kalsium, Fe, Mg atau Al sehingga P yang terikat batuan fosfat menjadi lepas dan terlarut (Chen *et al.*, 2006). Di antara asam organik yang dikeluarkan, asam glukonik merupakan asam yang umumnya dihasilkan oleh bakteri pelarut fosfat. Beberapa bakteri seperti *Pseudomonas* sp., *Erwinia herbicola*, *Pseudomonas cepacia*, *Burkholderia cepacia* diketahui mensekresikan asam glukonat. Asam organik lain yang dihasilkan pelarut fosfat *Rhizobium leguminosarum*, *Rhizobium meliloti*, *Bacillus firmus* adalah asam 2-ketoglukonik. Strain dari *Bacillus liqueniformis* dan *Bacillus amyloliquefaciens* diketahui menghasilkan campuran asam berupa laktat, isovalerik, isobutirik, dan asetat. Asam lain seperti glikolik, oksalik, malonik dan suksinik juga teridentifikasi pada jasad pelarut fosfat (Rodríguez dan Fraga, 1999). Beberapa strain dari genus *Pseudomonas*, *Bacillus* and *Rhizobium* diketahui merupakan pelarut P yang kuat Begitu pula dengan *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aereobacter*, *Flavobacterium* dan *Erwinia*. Mikroorganisme tersebut dapat dijumpai di dalam tanah maupun pada rhizosfer tanaman (Rodríguez dan Fraga, 1999).

Bakteri penambat nitrogen dan pelarut fosfat berperan penting dalam membantu tanaman memenuhi kebutuhan nitrogen dan fosfat. **Faktor lingkungan yang tidak sesuai akan mengakibatkan berkurangnya jumlah bakteri penambat nitrogen dan pelarut fosfat dengan demikian juga akan berdampak negatif pada pertumbuhan tanaman.**

Banyak kalangan menyebutkan bahwa batik yang diproduksi dengan pewarna alami menghasilkan limbah yang bersifat ramah bagi lingkungan dan aman untuk kesehatan karena zat-zat yang terkandung dalam pewarna alami dapat mudah terurai sehingga tidak menimbulkan polusi. Pernyataan tersebut perlu dipelajari secara hati-hati. Hal ini karena pewarna alam tersusun atas senyawa aromatis berdasar benzen yang

merupakan senyawa organik yang relatif sulit terombak. Proses pewarnaan juga melibatkan senyawa kimiawi yang mengandung logam. Hasil penelitian ini akan memberi gambaran seberapa aman limbah industri batik pewarna alam bagi lingkungan, sehingga dapat dilakukan tindakan yang tepat untuk penanganan limbah. Temuan lain yang ditargetkan adalah mendapatkan isolat bakteri yang mampu merombak dengan cepat senyawa pewarna alam batik, sehingga teknik pengelolaan limbah yang aman bagi lingkungan secara bioremediasi dapat diciptakan. Sejauh ini penelitian tentang pengelolaan limbah batik warna alam masih sangat sedikit, penelitian banyak dilakukan terhadap pengelolaan limbah tekstil namun berbahan pewarna sintetik.

PENELITIAN PENDAHULUAN YANG SUDAH DILAKUKAN

Peneliti bersama mahasiswa bimbingan sedang melakukan penelitian tentang pengaruh limbah industri batik warna alam dari Wukirsari terhadap viabilitas bakteri tanah. Hasil sementara penelitian menunjukkan bahwa limbah yang ditambahkan ke dalam tanah mampu meningkatkan viabilitas selama satu minggu inkubasi dan selanjutnya mengalami penurunan. Kadar bahan organik dalam limbah mencapai 6,7%. Limbah mempunyai pH 9, meningkatkan pH tanah dari 5 menjadi 6,7.

BAB III. LUARAN PENELITIAN

1. Makalah yang akan diterbitkan dalam jurnal terakreditasi Jurnal Manusia dan Lingkungan. Pusat Studi Lingkungan Hidup. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
2. Sejauh ini penelitian tentang dampak mikrobiologis limbah batik dengan pewarna alami serta bioremediasi menggunakan isolat terpilih belum banyak dilakukan. Hasil penelitian ini diharapkan membuka peluang untuk dilakukan penelitian lebih lanjut.
3. Hasil penelitian akan mengungkapkan sejauh mana keamanan limbah industri batik dengan menggunakan pewarna alami terhadap lingkungan, sehingga apabila berpotensi merusak lingkungan, limbah akan tertangani secara lebih dini.
4. Teknik bioremediasi yang sesuai yang dihasilkan dari penelitian ini diharapkan dapat mengurangi dampak negatif limbah atau bahkan meningkatkan nilai limbah.

BAB IV. METODE PENELITIAN

Pelaksanaan penelitian

Bahan:

1. Limbah pewarna alami berdasar warna merah, kuning, biru dan warna gelap yang diperoleh dari beberapa sentra industri batik dengan pewarna alam yang berada di DIY dan sekitarnya.
2. Sampel tanah: dengan jenis tanah/sifat yang bervariasi, diambil di sekitar lokasi sentra industri batik pewarna alam.
3. Bahan untuk analisis laboratorium: Jumlah bakteri umum, bakteri penambat nitrogen dan bakteri pelarut fosfat, dll

Tata laksana penelitian:

1. **Karakterisasi limbah**, parameter yang diamati adalah:

BOD, COD, pH, BO, kadar senyawa flavanoid, fenolik dan indigan/tanin, kadar logam: Al, Fe, Cr, dan Ca, jumlah bakteri. Analisis fenolik dilakukan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu dengan asam gallac sebagai internal standart. Senyawa diekstrak menggunakan etanol 95%. Ekstrak ditambah reagen Folin-Ciocalteu dan larutan sodium carbonate. Selanjutnya diamati absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 760 nm. Flavanoid dianalisis menggunakan metode kolorimetri aluminium chloride setelah dilakukan ekstraksi menggunakan methanol 75%, dengan internal standart berupa lutin. Ekstrak ditambah dengan Na-asetat. Selanjutnya diamati absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 415 nm. Tanin dianalisis dengan metode tetrimetrik menggunakan KmnO₄ dengan standart berupa Indigo carmine (Chang *et al.*, 2002; Atanassova and Christova-Bagdassarian, 2009; Chet, 2009; Huo *et al.*, 2011, Baisha *et al.*, 2012; Carlsen *et al.*, 2012). COD dianalisis menggunakan metode kolorimetri. BOD diamati menggunakan metode Wrinkler. Kadar logam diamati menggunakan AAS. Jumlah bakteri diamati secara taburan pada media Nutrien agar.

2. **Karakterisasi tanah**, parameter yang diamati adalah:

pH, BO, tekstur, jumlah bakteri

3. **Pengujian pengaruh limbah terhadap viabilitas mikroorganisme** (Grover, 2003; Nenwani *et al.*, 2010), (Belimov *et al.*, 1995; Sachdev *et al.*, 2009).

Tanah dari beberapa tempat diatur kelembabannya pada 75% WHC menggunakan masing-masing jenis limbah. Kadar limbah yang digunakan adalah 0, 50 serta 100%. Selanjutnya tanah diinkubasikan selama 30 hari. Ditentukan jumlah sel bakteri total menggunakan medium Nutrien Agar, bakteri penambat nitrogen menggunakan medium Jensen's serta bakteri pelarut fosfat menggunakan medium Pikovskaya. Pengamatan dilakukan pada hari inkubasi 0, 15 dan 30 hari, menggunakan metode taburan .

4. **Isolasi mikroorganisme perombak senyawa pewarna** (Grekova-Vasileva *et al.*, 2009).

Sumber isolat berasal dari sampel tanah pada point 3. Untuk isolasi jamur, media yang digunakan adalah Saboraud dextrose, sedangkan untuk bakteri menggunakan media Nutrien Agar. Media dituang dalam petridish, setelah padat permukaannya dilapisi dengan larutan pewarna yang biasa digunakan oleh pengrajin batik, yaitu yang berbasis warna merah, kuning, biru dan gelap, pada kadar sekitar 50 ppm. Dibuat seri pengenceran dari sampel tanah, dari 10 sampai dengan 1000 kali, dari masing-masing seri pengenceran sebanyak 1 ml disebarakan pada permukaan media. Setelah dilakukan inkubasi diamati pertumbuhan koloninya. Koloni bakteri atau jamur yang disekitarnya menunjukkan zone jernih atau penurunan intensitas warna menunjukkan bahwa koloni tersebut mampu merombak senyawa pewarna dan diisolasi.

5. **Penentuan kecepatan dekolorisasi oleh isolat yang dipilih** (Balan and Monteiro, 2001, Ponraj *et al.*, 2011).

Masing-masing koloni yang menunjukkan kemampuan dekolorisasi yang baik diisolasi, selanjutnya diuji kecepatan dekolorisasinya, menggunakan media cair Saboraud dextrose untuk jamur atau Nutrien Agar untuk bakteri atau media mineral cair. Masing-masing media ditambah pewarna yang pewarna yang biasa digunakan oleh pengrajin batik, yaitu yang berbasis warna merah, kuning, biru dan gelap,

selanjutnya diinokulasi dengan isolat yang dipilih dan diinkubasikan selama 8 hari. Intensitas warna diamati menggunakan spektrofotometer. Kecepatan dekolorisasi ditentukan menggunakan persamaan:

$$\text{Kecepatan dekolorisasi} = \frac{\text{Nilai absorbansi awal} - \text{nilai absorbansi setelah inkubasi}}{\text{Nilai absorbansi awal}} \times 100$$

Mikrobia yang mempunyai nilai kecepatan dekolorisasi tinggi digunakan untuk penelitian selanjutnya. Secara kuantitatif penurunan kadar pewarna ditentukan dengan membandingkannya menggunakan senyawa murni sebagai standart.

BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis terhadap sifat kimiawi limbah disajikan pada tabel 1. Sesuai dengan Keputusan Menteri KLH no.-03/MENKLH/H/1991 tentang baku mutu air limbah industri, parameter logam menunjukkan bahwa limbah termasuk dalam kategori baik-sedang. Namun demikian berdasarkan nilai BOD dan COD maka limbah termasuk dalam kategori kurang baik. Logam yang terdapat dalam limbah kemungkinan berasal dari penggunaan mordan berupa tawas ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$), kapur (CaCO_3), tunjung (FeSO_4), dan krom ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). penggunaan kapur juga mengakibatkan kenaikan pH, sehingga limbah batik dengan pewarna alami ini mempunyai pH sekitar 9. Mordan berupa gula jawa juga sering digunakan oleh pengrajin batik di desa Wukirsari.

Tabel 1. Sifat kimiawi limbah batik pewarna alami

Parameter	Limbah batik menggunakan pewarna		
	Indigo	Mahoni	Jolawe
BOD (ppm)	1585	2870	2430
COD (ppm)	4028	8345	7650
pH	9,0	8,5	9,4
BO (%)	7,13	7,23	7,74
Al(ppm)	3,431	2,32	3,11
Fe (ppm)	1,020	0,75	2,10
Ca(ppm)	4,56	4,86	5,01
Cr total (ppm)	0,21	0,16	0,18

Nilai BOD dan COD limbah tinggi. Hal ini karena dalam proses pematangan digunakan lilin/malam untuk mengemblok kain sehingga pada saat proses pewarnaan bagian kain yang terblok tidak akan terwarnai oleh pewarna yang tidak dikehendaki. Setelah proses pewarnaan selesai, lilin yang menempel selanjutnya dilorot menggunakan air panas dengan ditambah air tapioka (Ruwandi dan Suharno, 2000). Oleh sebab itu maka kadar bahan organik limbah termasuk dalam kategori tinggi. Penggunaan gula jawa sebagai mordant juga menyumbang tingginya kadar bahan organik dalam limbah.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan contoh tanah yang berasal dari desa Wukirsari. Jenis tanahnya adalah Latosol. Contoh tanah mempunyai kadar bahan organik rendah, pH sedikit masam. Penambahan limbah meningkatkan pH tanah sehingga menjadi mendekati netral (Tabel 3). Jumlah bakteri sekitar 10^6 sel/g tanah. Jumlah bakteri penambat nitrogen maupun pelarut fosfat dalam tanah masing-masing mencapai sekitar 10^4 sel/g tanah (Tabel2).

Tabel 2. Sifat tanah yang digunakan dalam penelitian

Parameter yang dianalisis	Jumlah
Bahan organik	1,9 %
pH	5
Mikrobia total	$1,7 \times 10^6$ sel/g
Mikrobia penambat nitrogen	$2,8 \times 10^4$ sel/g
Mikrobia pelarut fosfat	$6,0 \times 10^4$ sel/g

Tabel 3. pH tanah setelah ditambah dengan limbah campuran

No	Konsentrasi Limbah	pH (H ₂ O)
1	0%	5
2	50%	5.5
3	100%	6.7

Sebelum diaplikasikan ke dalam tanah, dilakukan analisis terhadap populasi bakteri yang terdapat dalam masing-masing limbah pewarna alami dari jolawe, mahoni, indigo dan campuran (Gambar 1). Jumlah bakteri total dalam limbah berkisar antara $2,3 \times 10^5$ sel/ml atau \log_{10} 5,36 sampai dengan $7,9 \times 10^5$ sel/ml atau \log_{10} 5,89, sedangkan jumlah bakteri penambat nitrogen berkisar antara \log_{10} 4,11 sampai dengan \log_{10}

4,65, dan jumlah bakteri pelarut fosfat berkisar antara log (10) 3,48 sampai dengan log (10) 4,95.

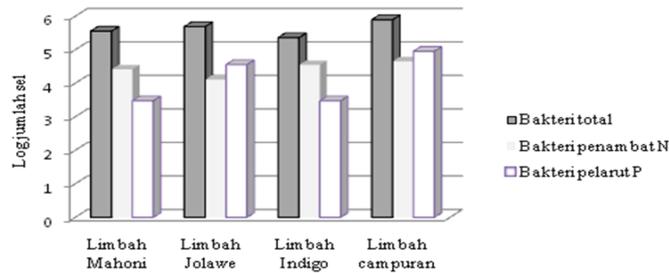
Pengujian viabilitas sel bakteri total, penambat nitrogen dan pelarut fosfat dilakukan dalam contoh tanah yang ditambah limbah hasil pewarnaan menggunakan jolawe, mahoni dan indigo hingga kelembabannya mencapai 75% WHC. Perubahan jumlah sel bakteri total, bakteri penambat nitrogen dan bakteri pelarut fosfat selama tiga minggu inkubasi pada contoh tanah yang ditambah limbah batik pewarna berturut-turut disajikan pada gambar 2, 3 dan 4, sedangkan persamaan regresi antara waktu inkubasi (sumbu x) dengan perubahan jumlah sel (sumbu y) dapat dilihat pada tabel 4,5 dan 6.

4. Hasil analisis pendahuluan mikrobiologis limbah batik pewarna alami

Jenis limbah	Jumlah bakteri (sel/ml)		
	Total	Penambat N	Pelarut P
Mahoni	36.10^4	26.10^3	3.10^3
Jolawe	79.10^4	13.10^3	$3,6.10^4$
Indigo	23.10^4	35.10^3	3.10^3
Campuran	49.10^4	45.10^3	9.10^4



Gambar 1. Komunitas bakteri pelarut fosfat yang terdapat dalam limbah



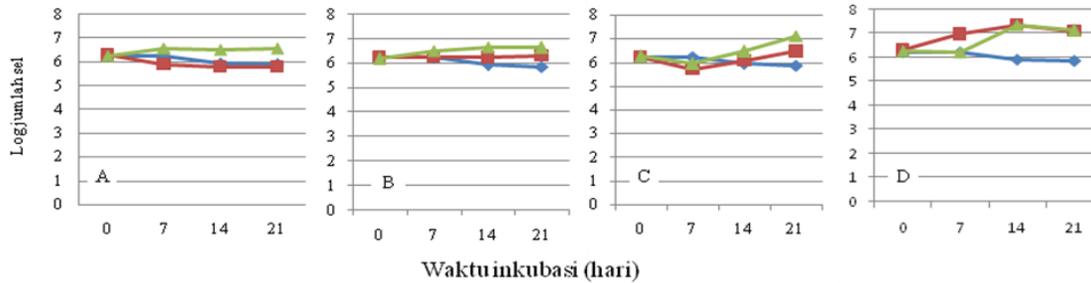
Gambar 1. Populasi bakteri dalam limbah pewarnaan batik menggunakan jolawe, mahoni, indigo dan campuran

Jumlah bakteri dalam limbah relatif tinggi, lebih dari 10^3 sel/ml limbah. Hal ini menunjukkan bahwa limbah tidak mengandung bahan yang bersifat toksik, seperti logam berat. Demikian pula dengan jumlah bakteri penambat nitrogen dan pelarut fosfat. Bakteri pelarut fosfat yang terdapat dalam limbah mempunyai kemampuan pelarutan yang tinggi (Gambar tidak dicantumkan). Zone jernih yang ditimbulkan di sekeliling koloni mempunyai diameter yang lebar dibandingkan dengan diameter koloni bakterinya.

Pengujian viabilitas sel bakteri total, penambat nitrogen dan pelarut fosfat dilakukan dalam contoh tanah yang ditambah limbah hasil pewarnaan menggunakan jolawe, mahoni dan indigo hingga kelembabannya mencapai 75% WHC. Perubahan jumlah sel bakteri total, bakteri penambat nitrogen dan bakteri pelarut fosfat selama tiga minggu inkubasi pada contoh tanah yang ditambah limbah batik pewarna berturut-turut disajikan pada gambar 2, 3 dan 4, sedangkan persamaan regresi antara waktu inkubasi (sumbu x) dengan perubahan jumlah sel (sumbu y) dapat dilihat pada tabel 3,4 dan 5.



Gambar 3. Analisis viabilitas bakteri dalam tanah yang ditambah limbah pewarna batik

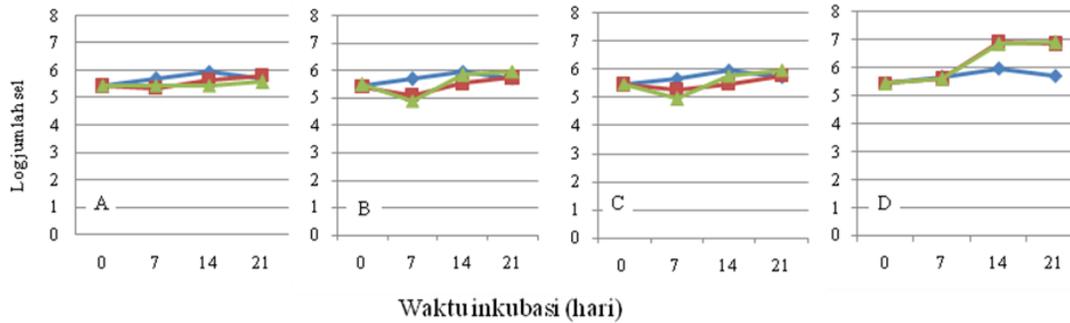


Gambar 2. Perubahan jumlah sel bakteri total dalam tanah yang ditambah dengan limbah pewarna jolawe (A), mahoni (B), indigo (C), dan campuran (D) pada kadar masing-masing 0% (◇), 50% (□), dan 100% (Δ)

Tabel 5. Persamaan regresi pertumbuhan bakteri total dalam tanah yang ditambah dengan limbah selama inkubasi 21 hari

Jenis limbah	Persamaan
Jolawe 0%	$y = -0,137x + 6,407$
Jolawe 50%	$y = -0,151x + 6,324$
Jolawe 100%	$y = 0,084x + 6,267$
Mahoni 0%	$y = -0,137x + 6,407$
Mahoni 50%	$y = 0,016x + 6,231$
Mahoni 100%	$y = 0,149x + 6,125$
Indigo 0%	$y = -0,137x + 6,407$
Indigo 50%	$y = 0,104x + 5,856$
Indigo 100%	$y = 0,304x + 5,676$
Campuran 0%	$y = -0,137x + 6,407$
Campuran 50%	$y = 0,279x + 6,235$
Campuran 100%	$y = 0,367x + 5,824$

Setelah 21 hari inkubasi, jumlah sel bakteri total dalam tanah yang ditambah dengan limbah batik pewarna jolawe, mahoni, Indigo maupun campuran lebih tinggi daripada jumlahnya dalam tanah yang tidak ditambah limbah (Gambar 2). Koefisien persamaan regresi pertumbuhan bakteri total dalam tanah terutama yang ditambah dengan limbah batik pewarna jolawe, mahoni, Indigo maupun campuran 100% bernilai positif dan lebih tinggi daripada koefisien regresi dalam tanah yang tidak ditambah dengan limbah (tabel 3). Berdasarkan Keputusan Menteri KLH no.-03/MENKLH/H/1991 tentang baku mutu air limbah industri, parameter logam menunjukkan bahwa limbah termasuk dalam kategori baik-sedang serta mempunyai kandungan bahan organik yang tinggi. Hal ini berpengaruh positif terhadap bakteri total tanah.

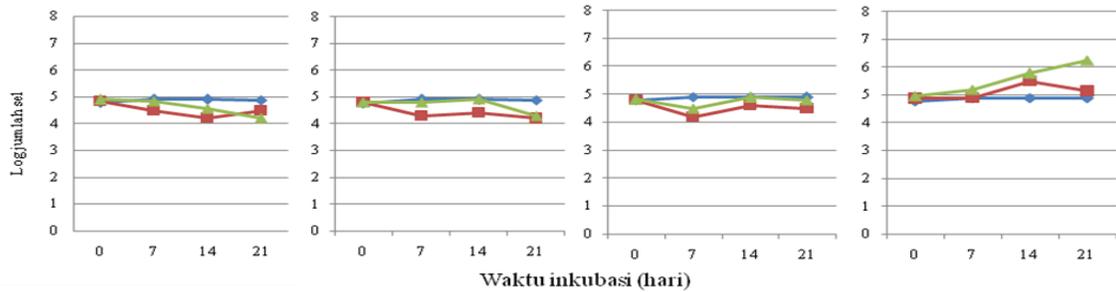


Gambar 3. Perubahan jumlah sel bakteri penambat nitrogen dalam tanah yang ditambah dengan limbah pewarna jolawe(A), mahoni (B), indigo (C), dan campuran (D) pada kadar masing-masing 0% (○), 50% (□), dan 100% (Δ)

Tabel 6. Persamaan regresi pertumbuhan bakteri penambat nitrogen dalam tanah yang ditambah dengan limbah selama inkubasi 21 hari

Jenis limbah	Persamaan
Jolawe 0%	$y = 0,130x + 5,317$
Jolawe 50%	$y = 0,141x + 5,199$
Jolawe 100%	$y = 0,040x + 5,386$
Mahoni 0%	$y = 0,130x + 5,317$
Mahoni 50%	$y = 0,145x + 5,084$
Mahoni 100%	$y = 0,245x + 4,937$
Indigo 0%	$y = 0,130x + 5,317$
Indigo 50%	$y = 0,121x + 5,193$
Indigo 100%	$y = 0,234x + 4,955$
Campuran 0%	$y = 0,130x + 5,317$
Campuran 50%	$y = 0,551x + 4,827$
Campuran 100%	$y = 0,558x + 4,817$

Seperti halnya pada bakteri total, pada umumnya limbah batik pewarna alami berpengaruh positif terhadap bakteri penambat nitrogen dalam tanah. Koefisien regresi persamaan pertumbuhan bakteri dalam tanah yang ditambah limbah mempunyai nilai yang lebih tinggi daripada pertumbuhan bakteri tersebut dalam tanah yang tidak ditambah dengan limbah. Keberadaan senyawa logam maupun bahan organik dan aktif yang terdapat dalam pewarna alami batik tidak berdampak negatif pada bakteri penambat nitrogen dalam tanah.



Gambar 4. Perubahan jumlah sel bakteri pelarut fosfat dalam tanah yang ditambah dengan limbah pewarna jolawe (A), mahoni (B), indigo (C), dan campuran (D) pada kadar masing-masing 0% (\diamond), 50% (\square), dan 100% (\triangle)

Tabel 7. Persamaan regresi pertumbuhan bakteri pelarut fosfat dalam tanah yang ditambah dengan limbah selama inkubasi 21 hari

Jenis limbah	Persamaan
Jolawe 0%	$y = 0,030x + 4,789$
Jolawe 50%	$y = -0,137x + 4,485$
Jolawe 100%	$y = -0,238x + 5,223$
Mahoni 0%	$y = 0,030x + 4,780$
Mahoni 50%	$y = -0,171x + 4,861$
Mahoni 100%	$y = -0,138x + 5,055$
Indigo 0%	$y = 0,130x + 5,317$
Indigo 50%	$y = -0,047x + 4,627$
Indigo 100%	$y = 0,029x + 4,622$
Campuran 0%	$y = 0,130x + 5,317$
Campuran 50%	$y = 0,137x + 4,759$
Campuran 100%	$y = 0,558x + 4,817$

Berbeda dengan bakteri total dan bakteri penambat nitrogen, penambahan limbah batik pewarna alami berdampak negatif terhadap bakteri pelarut fosfat dalam tanah, kecuali pengaruh limbah batik pewarna campuran. Setelah 21 hari inkubasi, jumlah bakteri pelarut fosfat dalam tanah yang ditambah limbah batik pewarna alami jolawe, indigo maupun mahoni lebih rendah dibandingkan dengan jumlah bakteri pelarut fosfat dalam tanah yang tidak ditambah limbah, kecuali limbah campuran.

Tabel 8. Kadar flavanoid dan fenolik limbah batik pewarna alami

Parameter	Limbah batik menggunakan pewarna			
	Campuran	Indigo	Mahoni	Jolawe
Flavanoid (%)	0,70	0,14	0,18	0,22
Fenolik	1,64	0,22	0,18	0,22

Secara umum, limbah pewarnaan batik menggunakan jolawe memberi pengaruh paling kecil terhadap viabilitas bakteri tanah, bahkan berpengaruh paling negatif terhadap bakteri pelarut fosfat. Sebaliknya limbah batik dengan pewarnaan campuran berpengaruh paling baik terhadap komunitas bakteri total, bakteri penambat nitrogen maupun bakteri pelarut fosfat dalam tanah. Limbah campuran mampu meningkatkan viabilitas komunitas bakteri tanah, mungkin karena komposisinya yang beragam.

Zat warna alam sudah digunakan sejak jaman dulu untuk mewarnai tekstil. Zat warna alam dapat diperoleh dari hasil ekstrak berbagai tumbuhan seperti: akar, kayu, daun, biji, ataupun bunga (Aminoddin and Haji, 2010). Zat pewarna alam dalam industri batik di Wukirsari pada umumnya diperoleh dari hasil ekstrak berbagai bagian tumbuhan seperti akar, kayu, daun, biji ataupun bunga. Pewarna yang paling sering digunakan adalah ekstrak jolawe, mahoni dan indigo. Pewarna lain yang juga digunakan adalah daun pohon nila (indofera), kulit pohon soga tingi (*Ceriops candolleana* arn), kulit soga jambal (*Pelthophorum ferruginum*), Secang (*Caesalpinia sappan*, Linn), tegeran (*Maclura chocinensis*), dan angka (*Artocarpus heterophyllus*). Secara kimiawi pewarna alami merupakan senyawa poliaromatis berbasis benzen, berupa indigoid, anthraquinon dan derivatnya, senyawa flavonoid, senyawa fenolik, tanin, anthraquinoid, dihydropyrans, serta Anthocyanidins. Fenol merupakan senyawa yang berasal dari tumbuhan, terdiri atas beberapa struktur dengan ciri khas berupa cincin aromatis yang mengandung satu atau dua gugus hidroksil. Senyawa fenol dikenal bersifat antiseptik karena mampu membunuh sejumlah bakteri karena merusak membran sitoplasma dan protein. Flavonoid banyak terdapat dalam semua bagian tumbuhan. Flavonoid merupakan golongan polifenol sehingga memiliki sifat kimia seperti fenol. Beberapa diantara senyawa tersebut di atas bersifat menghambat pertumbuhan jamur dan bakteri, sehingga sering digunakan sebagai antibiotik alami (Khan *et al.*, 2003; Chengaiah *et al.*, 2010).

Hasil analisis terhadap kadar flavanoid dari limbah pewarnaan menggunakan jolawe, mahoni, indigo maupun campuran berturut turut sebesar 0,22%; 0,18%, 0,22%,

dan 0,70, sedangkan kadar fenoliknya mencapai berturut-turut sebesar 0,22%; 0,18%, 0,14%, dan 1,64%. Jumlah fenolik dan flavonoid pada limbah campuran paling tinggi. Semakin tinggi kadar fenolik maupun flavonoid, warna limbah semakin gelap.

Nampaknya senyawa fenolik maupun flavonoid dalam limbah tidak berpengaruh terhadap komunitas bakteri tanah. Albayrak *et al.* (2010), dalam penelitiannya menggunakan metode difusi agar dengan konsentrasi ekstrak fenolik dari 1 sampai dengan 10%. menunjukkan bahwa tidak semua bakteri terhambat pertumbuhannya oleh senyawa fenolik. Dari 12 spesies bakteri yang diuji, enam di antaranya terhambat pertumbuhannya oleh senyawa fenolik ekstrak dari tanaman, sedangkan enam spesies lainnya tidak terhambat.

Keberadaan bahan organik limbah mampu memacu pertumbuhan bakteri tanah pada awal inkubasi. Namun demikian perlu diperhatikan bahwa struktur kimiawi dari malam/lilin dan amilum jauh lebih sederhana dibandingkan dengan pewarna alam. Apabila senyawa pewarna bercampur dengan malam dan amilum, mikroorganisme cenderung memanfaatkan senyawa yang lebih sederhana. Sejumlah 14 isolat bakteri berhasil diperoleh peneliti. Masing-masing isolat mampu tumbuh baik dalam limbah, namun semua isolat yang diuji tidak mampu melakukan dekolorisasi terhadap limbah (data tidak dicantumkan). Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama senyawa pewarna menjadi terakumulasi di alam, sehingga suatu saat akan menimbulkan masalah. Meskipun bersifat aman bagi mikroorganisme tanah, namun warna kecoklatan limbah secara estetis kurang baik, karena memiliki warna kecoklatan.



Gambar 7. Isolat bakteri yang diperoleh dari limbah batik pewarna alami



Gambar 8. Pengujian dekolorisasi oleh isolat bakteri dari limbah batik pewarna alami

9. Pengujian dekolorisasi oleh isolat bakteri dari limbah batik pewarna alami

Isolat	Kecepatan dekolorisasi limbah			
	Campuran	Jolawe	Mahoni	Indigo
Jo-1	0,162	0,021	0,009	0,007
Jo-2	0,197	0,013	0,021	0,002
Jo-3	0,174	0,009	0,011	0,012
Jo-4	0,395	0,161	0,030	0,009
Ma-1	0,104	0,001	0,001	0,009
Ma-2	0,139	0,009	0,001	0,009
Ma-3	0,081	0,021	0,001	0,120
Ma-4	0,197	0,013	0,002	0,002
Ma-5	0,186	0,008	0,002	0,006
Ind-1	0,127	0,021	0,002	0,421
Ind-2	0,104	0,011	0,119	0,003
Ind-3	0,174	0,011	0,088	0,007
Ind-4	0,197	0,021	0,089	0,007
Ind-5	0,069	0,008	0,099	0,091
Cmp-1	0,046	0,021	0,005	0,031
Cmp-2	0,081	0,121	0,012	0,111
Cmp-3	0,069	0,101	0,007	0,191
Cmp-4	0,139	0,006	0,009	0,051
Cmp-5	0,104	0,011	0,012	0,087

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan:

1. Limbah batik pewarna alami mahoni, indigo dan campuran tidak menurunkan viabilitas bakteri total, penambat nitrogen, maupun pelarut P.
2. Limbah batik pewarna jolawe berpengaruh paling kurang baik dibandingkan dengan jenis limbah pewarna yang lainnya.

Saran:

1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kemampuan dekolorisasi isolat yang diperoleh masih rendah, untuk itu perlu dilakukan pengembangan teknik isolasi dengan sumber atau metode yang berbeda dengan yang sudah dilakukan selama ini.
2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa limbah mengandung bahan organik yang tinggi dan bahan organik yang terdapat dalam limbah tidak bersifat toksik bagi mikrobia tanah. Oleh karena itu maka penelitian tentang pemanfaatan limbah batik pewarna alami untuk penanaman azolla menarik untuk dilakukan.

DAFTAR PUSTAKA:

- Albayrak1,S., Aksoy1, A., Sađdic, O., Budak, U. 2010. Phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial Turk J Biol. 34: 463-473. c TUBİTAK doi:10.3906/biy-0901-4
- Aminoddin and Haji. 2010. Functional Dyeing of Wool with Natural Dye Extracted from *Berberis vulgaris* Wood and *Rumex hymenosepolus* Root As Biomordant. *Iran J. Chem. Chem. Eng.*, 29(3).
- Atanassova, M. And Christova-Bagdassaria, V. 2009. Determination of tannins content by tetric method for comparison of different plant species. *J of the University of Chemical Technology and metallurgy*, 44:413-415
- Baishya D., Talukdar J. And Sandhya S. 2012. Cotton Dying with Natural Dye Extracted from Flower of Bottlebrush (*Callistemon citrinus*). *Universal Journal of Environmental Research and Technology*. 2: 377-382.
- Carlsen, S.C.K.; Pedersen, H.A.; Spliid, N.H and Fomsgaard, I.S. 2012. Fate in Soil of Flavonoids Released from White Clover (*Trifolium repens* L.). *Applied and Environmental Soil Science*. Article ID 743413. doi:10.1155/2012/743413
- Chang, C.C.; Yang, M.; Wen, H.; Chern, J. 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods, *Journal of Food and Drug Analysis*, 10:178-182
- Chengaiyah, B., Rao, K.M.; Kumar, K.M.; Alagusundaram, M.; Chetty, C. M. 2010. Medicine importance of natural dyes. A Review. *International Journal of Pharm Tech Research*. 2:144-154
- Chet, Ng W. 2009. Total phenolic and total flavonoids content of pitaya peels by water extration. A thesis Faculty of Chemical and Natural Resources Engineering Universiti Malaysia Pahang.
- Huo, L. , Lu, r., Li, P., Liao, Y., Chen,R. , Deng, C., Lu, C., Weia, X., and Lia, Y. 2011. Antioxidant activity, total phenolic, and total flavonoid of extracts from the stems of *Jasminum nervosum* Lour. *Grasas y aceites*, 62:149-154, 2011, issn: 0017-3495, doi: 10.3989/gya.066810.
- Khan, M. R. , Omoloso, A. D. & Kihara, M., *Fitoterapia*, 74 (5) (2003) 501.
- Prabhu, K. H. and Bhute, A. S. 2012. Plant based natural dyes and mordants: A Review. *J. Nat. Prod. Plant Resour.*, 2012, 2 (6):649-664
- Rodríguez,H., and Fraga, R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances* 17: 319–339
- Ruwandi dan Suharno, 2000, Teknologi Pewarnaan Batik dengan Warna Sintetis dan Alam. *Materi Diklat Pendidikan Non Gelare Program DUE-Like* pada tanggal 22-27 Agustus 2000 di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Industri Kerajinan dan Batik Yogyakarta.
- Samanta, A.K. and Konar, A. Dyeing of Textiles with Natural Dyes. www.intechopen.com. Diunduh 15 Juli 2013.
- Saharan, B. S. and Nehra, V. 2011. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. *Life Sciences and Medicine Research*, Volume 2011: LSMR-21

Lampiran

Lampiran 1. Jumlah sel bakteri total dalam tanah yang ditambah limbah pewarna batik selama 21 hari inkubasi

Perlakuan	Jumlah bakteri ($\times 10^4$ sel/gr) pada inkubasi hari ke			
	0	7	14	21
Jo-0	170	167	86	74
Jo-50	190	79	63,5	64
Jo-100	180	380	136	259
Ma-0	170	167	86	74
Ma-50	181	186	173	210
Ma-100	153	325	473	426
Ind-0	170	167	86	74
Ind-50	173	50	118	290
Ind-100	179	88	286	1250
Camp-0	170	167	86	74
Camp-50	200	930	2310	1260
Camp-100	186	170	2230	1320

Lampiran 2. Jumlah sel bakteri penambat nitrogen dalam tanah yang ditambah limbah pewarna batik selama 21 hari inkubasi

Perlakuan	Jumlah bakteri ($\times 10^4$ sel/gr) pada inkubasi hari ke			
	0	7	14	21
Jo-0	28	28	93	51
Jo-50	27	22	43	64
Jo-100	29	17,5	26	39
Ma-0	28	28	93	51
Ma-50	25	13	35	55
Ma-100	30	8	70	96
Ind-0	28	28	93	51
Ind-50	28	19	30	61
Ind-100	29	9	60	93
Camp-0	28	28	93	51
Camp-50	28	41	826	710
Camp-100	29	42	712	820

Lampiran 3. Jumlah sel bakteri pelarut P dalam tanah yang ditambah limbah pewarna batik selama 21 hari inkubasi

Perlakuan	Jumlah bakteri ($\times 10^4$ sel/gr) pada inkubasi hari ke			
	0	7	14	21
Jo-0	6	8	8	6
Jo-50	7	3	1,6	3
Jo-100	8	7	3,6	1,6
Ma-0	6	8	8	6
Ma-50	6,5	2	2,6	1,6
Ma-100	6,3	6,5	8,3	2,0
Ind-0	6	8	8	6
Ind-50	6,0	1,5	4	3
Ind-100	6,5	3	7,6	6
Camp-0	6	8	8	6
Camp-50	7,5	8	32,3	13,6
Camp-100	9,1	16	60	17,6

A. DRAFT PUBLIKASI

PENGARUH LIMBAH BATIK PEWARNA ALAMI DARI DESA WIKIRSARI TERHADAP VIABILITAS BAKTERI TANAH

Yanisworo Wijaya Ratih¹⁾, Purwono Budi Santosa¹⁾ dan Eni Muryani²⁾

1). Fakultas Pertanian UPN “Veteran” Yogyakarta,

2). Teknik Lingkungan, UPN “Veteran” Yogyakarta

ABSTRAK

Industri batik berkembang pesat karena tren pakaian batik sedang diminati oleh semua kalangan.. Beberapa senyawa penyusun pewarna alami bersifat menghambat pertumbuhan jamur dan bakteri, sehingga sering digunakan sebagai antibiotik alami. Kemampuan senyawa tersebut menghambat pertumbuhan mikrobia perlu diwaspadai karena ada kemungkinan bahwa paparannya dalam tanah dapat mengurangi populasi mikrobia. Penelitian ini mempunyai tujuan untuk mengetahui pengaruh limbah industri batik pewarna alami terhadap viabilitas bakteri tanah. Pengujian viabilitas sel dilakukan dengan mengamati pertumbuhan bakteri total, penambat nitrogen dan pelarut fosfat dalam tanah yang ditambah dengan masing-masing limbah jolawe, indigo, mahoni dan limbah pewarna campuran. Limbah dan tanah yang digunakan berasal dari desa Wukirsari, Imogiri, Kabupaten Bantul, DIY. Dilakukan pula karakterisasi terhadap limbah dan tanah yang digunakan. Parameter utama yang diamati meliputi jumlah sel bakteri total, penambat nitrogen dan pelarut fosfat, pH, serta kadar fenolik dan flavonoid. Jumlah bakteri total, penambat nitrogen dan pelarut fosfat diamati dengan metode taburan berturut-turut dalam media nutrisi agar, Jensen's dan Pikovskaya, sedangkan fenolik dan flavonoid dianalisis menggunakan metode spektrofotometrik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Limbah meningkatkan pH tanah dari 5 menjadi 6,7. Kadar flavonoid dan fenolik limbah berturut-turut berkisar antara 0,14 sampai dengan 0,70% dan 0,18 sampai dengan 1,76%. Flavonoid dan fenolik limbah tidak mempengaruhi viabilitas sel bakteri. Pada umumnya limbah batik pewarna alami tidak menurunkan viabilitas bakteri tanah.

Kata kunci: limbah, pewarna alam, viabilitas, bakteri

PENDAHULUAN

Industri batik berkembang pesat karena tren pakaian batik sedang diminati oleh semua kalangan. Sentra industri batik dengan pewarna alami muncul di beberapa daerah. Banyak kalangan menyebutkan bahwa batik yang diproduksi dengan pewarna alami menghasilkan limbah yang bersifat ramah bagi lingkungan dan aman untuk kesehatan.

Benarkah limbah hasil pengolahan batik dengan pewarna alami bersifat ramah lingkungan? Secara kimiawi pewarna alami merupakan senyawa poliaromatis berbasis benzen. Pada umumnya senyawa berbasis benzene relatif susah dirombak. Beberapa senyawa pewarna bersifat menghambat pertumbuhan jamur dan bakteri, sehingga sering digunakan sebagai antibiotik alami. Salah satu faktor pembatas pewarna alam adalah kemampuannya yang kurang dalam mewarnai kain serta tidak tahan terhadap garam yang dipakai dalam pencucian sehingga warna mudah mengalami pelunturan. Untuk mengatasi hal tersebut maka selama pewarnaan dilakukan proses yang disebut dengan mordanting menggunakan senyawa mordan dan fiksasi. Beberapa mordan yang efektif dan sering digunakan mengandung logam: $(Al_2(SO_4)_3)$, $KAl(SO_4)_2$, $K_2Cr_2O_7$, $FeSO_4$, $CuSO_4$ dan $SnCl_2$ (Prabhu and Buthe, 2012). Dengan demikian apabila tidak dilakukan dengan hati-hati, proses mordanting berpotensi menimbulkan efek negatif bagi lingkungan. Tergantung dari jenis kain yang akan diwarnai dan jenis pewarnanya, mordanting membutuhkan pH tertentu, sehingga pada saat mordanting kadang ditambahkan pula senyawa basis. Hal ini mengakibatkan pH limbah pewarnaan batik bersifat basa. Pemaparan limbah di alam akan berdampak terhadap perubahan pH lingkungan. Di sentra industri batik dengan pewarna alam seperti di Wukirsari, pada umumnya limbah produksi batik langsung dibuang dalam sumur resapan tanpa diberi perlakuan tertentu. Dengan demikian limbah berpotensi mencemari sumber-sumber air. Hal ini perlu mendapat perhatian khusus, karena dampak pencemaran mungkin terasa beberapa puluh tahun kemudian. Penelitian ini mempunyai tujuan mengetahui keamanan limbah di dalam tanah dengan mempelajari pengaruh limbah industri batik pewarna alami terhadap viabilitas bakteri tanah. Dalam penelitian ini, limbah yang akan diuji dipilih berdasarkan jenis pewarna yang sering digunakan dalam industri batik pewarna alam di Wukirsari, yaitu jolawe, mahoni dan indigo, serta limbah campuran. Dalam penelitian ini, jenis mikrobial alam yang akan diuji viabilitasnya adalah bakteri total serta bakteri yang berperan penting dalam pertanian yaitu bakteri penambat nitrogen dan bakteri pelarut fosfat. Lebih dari 80 % nitrogen terdapat di atmosfer, namun tidak dapat dimanfaatkan tanaman secara langsung. N udara perlu dikonversi terlebih dahulu menjadi amonia. Bakteri penambat nitrogen adalah bakteri yang mampu mereduksi N_2 menjadi amonia (NH_3) yang dapat dimanfaatkan tanaman. Unsur P merupakan elemen utama dalam

tanaman namun dalam tanah di daerah tropikal, P terlarut biasanya terdapat dalam jumlah yang sangat rendah (Saharan dan Nehra, 2011). P total dapat mencapai jumlah 400–1200 mg·kg⁻² tanah, namun konsentrasi P terlarut dalam tanah biasanya sangat rendah, kurang dari 1 ppm. Sel tanaman menyerap P dalam bentuk H_2PO_4^- atau HPO_4^{2-} yang bersifat terlarut. Mikroorganisme memegang peranan penting dalam proses pelarutan P anorganik tidak terlarut menjadi P terlarut (tersedia) bagi tanaman (Rodríguez dan Fraga, 1999; Saharan dan Nehra, 2011).

METODE PENELITIAN

Limbah dan tanah yang digunakan dalam penelitian di ambil dari desa Wukirsari, Imogiri, Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta. Dilakukan analisis kimiawi (BOD, COD, pH, BO, flavanoid, fenolik, kadar logam: Al, Fe, Cr, dan Ca, serta jumlah bakteri) terhadap limbah. Analisis fenolik dilakukan secara spektrofotometrik pada panjang gelombang 760 nm menggunakan reagen Folin-Ciocalteu dengan asam gallac sebagai internal standart. Flavanoid dianalisis menggunakan metode kolorimetri aluminium chloride pada panjang gelombang 415 nm, dengan internal standart berupa lutin (Chang *et al.*, 2002; Atanassova and Christova-Bagdassarian, 2009; Chet, 2009; Huo *et al.*, 2011, Baisha *et al.*, 2012; Carlsen *et al.*, 2012). COD dianalisis menggunakan metode kolorimetri. BOD diamati menggunakan metode Wrinkler. Kadar logam diamati menggunakan AAS. Jumlah bakteri diamati secara taburan pada media Nutrien agar. Tanah dianalisis kadar bahan organik, pH serta jumlah bakterinya. Pengujian pengaruh limbah terhadap viabilitas bakteri tanah dilakukan dengan cara mengatur kelembabannya pada 75% WHC menggunakan limbah batik pewarna alami jolawe, mahoni, indigo, dan campuran. Masing-masing kadar limbah yang digunakan adalah 0, 50 serta 100%. Selanjutnya tanah diinkubasikan selama 30 hari. Selanjutnya jumlah bakteri total diamati secara taburan pada media Nutrien Agar, bakteri penambat nitrogen menggunakan medium bebas N, Jensen's, sedangkan bakteri pelarut fosfat menggunakan medium Pikovskaya. Pengamatan dilakukan pada hari inkubasi 0, 7, 14 dan 21 hari (Grover, 2003; Nenwani *et al.*, 2010), (Belimov *et al.*, 1995; Sachdev *et al.*, 2009) .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis terhadap sifat kimiawi limbah disajikan pada tabel 1. Sesuai dengan Keputusan Menteri KLH no.-03/MENKLH/H/1991 tentang baku mutu air limbah industri, parameter logam menunjukkan bahwa limbah termasuk dalam kategori baik-sedang. Namun demikian berdasarkan nilai BOD dan COD maka limbah termasuk dalam kategori kurang baik. Logam yang terdapat dalam limbah kemungkinan berasal dari penggunaan mordan berupa tawas ($Al_2(SO_4)_3$), kapur ($CaCO_3$), tunjung ($FeSO_4$), dan krom ($K_2Cr_2O_7$). penggunaan kapur juga mengakibatkan kenaikan pH, sehingga limbah batik dengan pewarna alami ini mempunyai pH sekitar 9. Mordan berupa gula jawa juga sering digunakan oleh pengrajin batik di desa Wukirsari.

Tabel 1. Sifat kimiawi limbah batik pewarna alami

Parameter	Limbah batik menggunakan pewarna		
	Indigo	Mahoni	Jolawe
BOD (ppm)	1585	2870	2430
COD (ppm)	4028	8345	7650
pH	9,0	8,5	9,4
BO (%)	7,13	7,23	7,74
Al(ppm)	3,431	2,32	3,11
Fe (ppm)	1,020	0,75	2,10
Ca(ppm)	4,56	4,86	5,01
Cr total (ppm)	0,21	0,16	0,18

Nilai BOD dan COD limbah tinggi. Hal ini karena dalam proses pembatikan digunakan lilin/malam untuk mengemblok kain sehingga pada saat proses pewarnaan bagian kain yang terblok tidak akan terwarnai oleh pewarna yang tidak dikehendaki. Setelah proses pewarnaan selesai, lilin yang menempel selanjutnya dilorot menggunakan air panas dengan ditambah air tapioka (Ruwandi dan Suharno, 2000). Oleh sebab itu maka kadar bahan organik limbah termasuk dalam kategori tinggi. Penggunaan gula jawa sebagai mordan juga menyumbang tingginya kadar bahan organik dalam limbah.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan contoh tanah yang berasal dari desa Wukirsari. Jenis tanahnya adalah Latosol. Contoh tanah mempunyai kadar bahan organik rendah, pH sedikit masam. Penambahan limbah meningkatkan pH tanah sehingga menjadi mendekati netral (Tabel 3). Jumlah bakteri sekitar 10^6 sel/g tanah. Jumlah

bakteri penambat nitrogen maupun pelarut fosfat dalam tanah masing-masing mencapai sekitar 10^4 sel/g tanah (Tabel2).

Tabel 2. Sifat tanah yang digunakan dalam penelitian

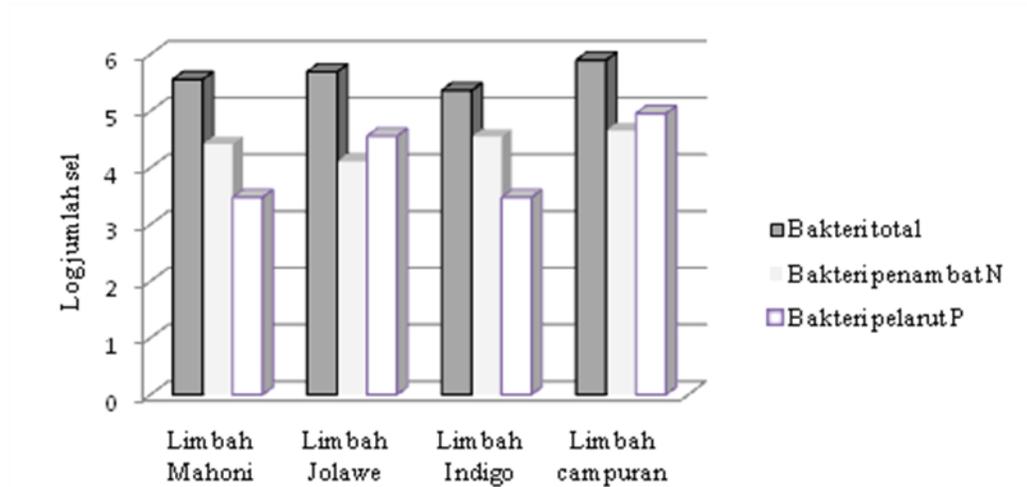
Parameter yang dianalisis	Jumlah
Bahan organik	1,9 %
pH	5
Mikrobia total	$1,7 \times 10^6$ sel/g
Mikrobia penambat nitrogen	$2,8 \times 10^4$ sel/g
Mikrobia pelarut fosfat	$6,0 \times 10^4$ sel/g

Tabel 3. pH tanah setelah ditambah dengan limbah campuran

No	Konsentrasi Limbah	pH (H ₂ O)
1	0%	5
2	50%	5.5
3	100%	6.7

Sebelum diaplikasikan ke dalam tanah, dilakukan analisis terhadap populasi bakteri yang terdapat dalam masing-masing limbah pewarna alami dari jolawe, mahoni, indigo dan campuran (Gambar 1). Jumlah bakteri total dalam limbah berkisar antara $2,3 \times 10^5$ sel/ml atau \log_{10} 5,36 sampai dengan $7,9 \times 10^5$ sel/ml atau \log_{10} 5,89, sedangkan jumlah bakteri penambat nitrogen berkisar antara \log_{10} 4,11 sampai dengan \log_{10} 4,65, dan jumlah bakteri pelarut fosfat berkisar antara \log_{10} 3,48 sampai dengan \log_{10} 4,95.

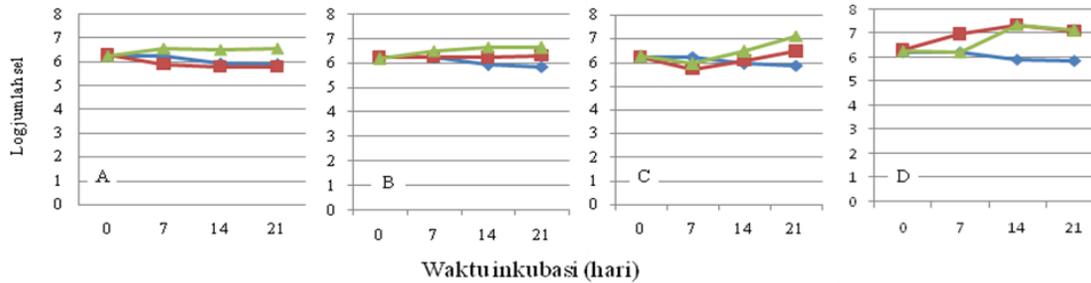
Pengujian viabilitas sel bakteri total, penambat nitrogen dan pelarut fosfat dilakukan dalam contoh tanah yang ditambah limbah hasil pewarnaan menggunakan jolawe, mahoni dan indigo hingga kelembabannya mencapai 75% WHC. Perubahan jumlah sel bakteri total, bakteri penambat nitrogen dan bakteri pelarut fosfat selama tiga minggu inkubasi pada contoh tanah yang ditambah limbah batik pewarna berturut-turut disajikan pada gambar 2, 3 dan 4, sedangkan persamaan regresi antara waktu inkubasi (sumbu x) dengan perubahan jumlah sel (sumbu y) dapat dilihat pada tabel 4,5 dan 6.



Gambar 1. Populasi bakteri dalam limbah pewarnaan batik menggunakan jolawe, mahoni, indigo dan campuran

Jumlah bakteri dalam limbah relatif tinggi, lebih dari 10^3 sel/ml limbah. Hal ini menunjukkan bahwa limbah tidak mengandung bahan yang bersifat toksik, seperti logam berat. Demikian pula dengan jumlah bakteri penambat nitrogen dan pelarut fosfat. Bakteri pelarut fosfat yang terdapat dalam limbah mempunyai kemampuan pelarutan yang tinggi (Gambar tidak dicantumkan). Zone jernih yang ditimbulkan di sekeliling koloni mempunyai diameter yang lebar dibandingkan dengan diameter koloni bakterinya.

Pengujian viabilitas sel bakteri total, penambat nitrogen dan pelarut fosfat dilakukan dalam contoh tanah yang ditambah limbah hasil pewarnaan menggunakan jolawe, mahoni dan indigo hingga kelembabannya mencapai 75% WHC. Perubahan jumlah sel bakteri total, bakteri penambat nitrogen dan bakteri pelarut fosfat selama tiga minggu inkubasi pada contoh tanah yang ditambah limbah batik pewarna berturut-turut disajikan pada gambar 2, 3 dan 4, sedangkan persamaan regresi antara waktu inkubasi (sumbu x) dengan perubahan jumlah sel (sumbu y) dapat dilihat pada tabel 3,4 dan 5.

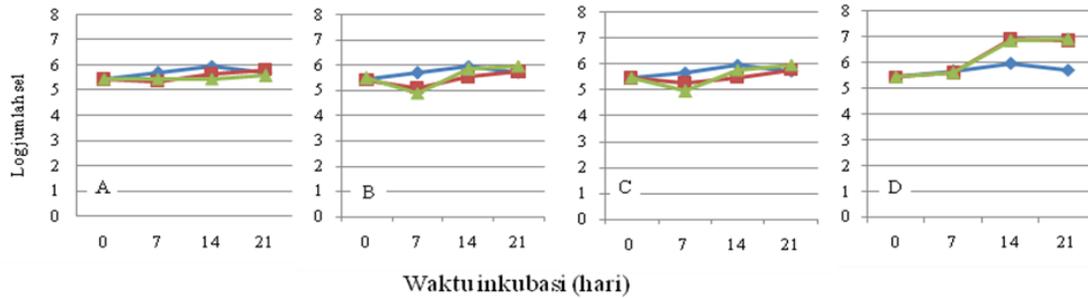


Gambar 2. Perubahan jumlah sel bakteri total dalam tanah yang ditambah dengan limbah pewarna jolawe (A), mahoni (B), indigo (C), dan campuran (D) pada kadar masing-masing 0% (◇), 50% (□), dan 100% (△)

Tabel 4. Persamaan regresi pertumbuhan bakteri total dalam tanah yang ditambah dengan limbah selama inkubasi 21 hari

Jenis limbah	Persamaan
Jolawe 0%	$y = -0,137x + 6,407$
Jolawe 50%	$y = -0,151x + 6,324$
Jolawe 100%	$y = 0,084x + 6,267$
Mahoni 0%	$y = -0,137x + 6,407$
Mahoni 50%	$y = 0,016x + 6,231$
Mahoni 100%	$y = 0,149x + 6,125$
Indigo 0%	$y = -0,137x + 6,407$
Indigo 50%	$y = 0,104x + 5,856$
Indigo 100%	$y = 0,304x + 5,676$
Campuran 0%	$y = -0,137x + 6,407$
Campuran 50%	$y = 0,279x + 6,235$
Campuran 100%	$y = 0,367x + 5,824$

Setelah 21 hari inkubasi, jumlah sel bakteri total dalam tanah yang ditambah dengan limbah batik pewarna jolawe, mahoni, Indigo maupun campuran lebih tinggi daripada jumlahnya dalam tanah yang tidak ditambah limbah (Gambar 2). Koefisien persamaan regresi pertumbuhan bakteri total dalam tanah terutama yang ditambah dengan limbah batik pewarna jolawe, mahoni, Indigo maupun campuran 100% bernilai positif dan lebih tinggi daripada koefisien regresi dalam tanah yang tidak ditambah dengan limbah (tabel 3). Berdasarkan Keputusan Menteri KLH no.-03/MENKLH/H/1991 tentang baku mutu air limbah industri, parameter logam menunjukkan bahwa limbah termasuk dalam kategori baik-sedang serta mempunyai kandungan bahan organik yang tinggi. Hal ini berpengaruh positif terhadap bakteri total tanah.

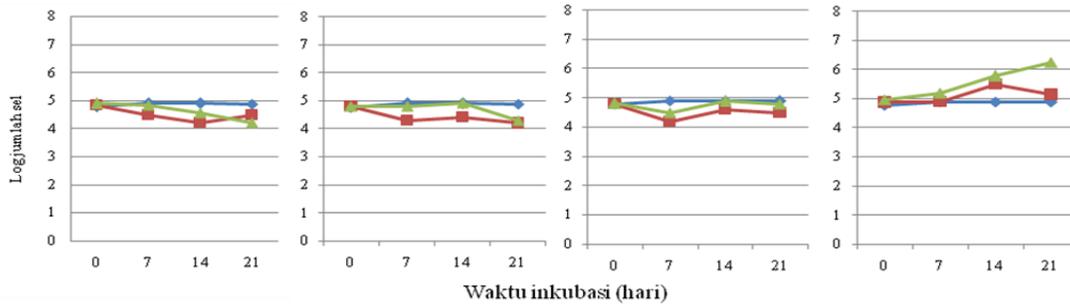


Gambar 3. Perubahan jumlah sel bakteri penambat nitrogen dalam tanah yang ditambah dengan limbah pewarna jolawe (A), mahoni (B), indigo (C), dan campuran (D) pada kadar masing-masing 0% (◇), 50% (□), dan 100% (△)

Tabel 5. Persamaan regresi pertumbuhan bakteri penambat nitrogen dalam tanah yang ditambah dengan limbah selama inkubasi 21 hari

Jenis limbah	Persamaan
Jolawe 0%	$y = 0,130x + 5,317$
Jolawe 50%	$y = 0,141x + 5,199$
Jolawe 100%	$y = 0,040x + 5,386$
Mahoni 0%	$y = 0,130x + 5,317$
Mahoni 50%	$y = 0,145x + 5,084$
Mahoni 100%	$y = 0,245x + 4,937$
Indigo 0%	$y = 0,130x + 5,317$
Indigo 50%	$y = 0,121x + 5,193$
Indigo 100%	$y = 0,234x + 4,955$
Campuran 0%	$y = 0,130x + 5,317$
Campuran 50%	$y = 0,551x + 4,827$
Campuran 100%	$y = 0,558x + 4,817$

Seperti halnya pada bakteri total, pada umumnya limbah batik pewarna alami berpengaruh positif terhadap bakteri penambat nitrogen dalam tanah. Koefisien regresi persamaan pertumbuhan bakteri dalam tanah yang ditambah limbah mempunyai nilai yang lebih tinggi daripada pertumbuhan bakteri tersebut dalam tanah yang tidak ditambah dengan limbah. Keberadaan senyawa logam maupun bahan organik dan aktif yang terdapat dalam pewarna alami batik tidak berdampak negatif pada bakteri penambat nitrogen dalam tanah.



Gambar 4. Perubahan jumlah sel bakteri pelarut fosfat dalam tanah yang ditambah dengan limbah pewarna jolawe(A), mahoni (B), indigo (C), dan campuran (D) pada kadar masing-masing 0% (◇), 50% (□), dan 100% (Δ)

Tabel 6. Persamaan regresi pertumbuhan bakteri pelarut fosfat dalam tanah yang ditambah dengan limbah selama inkubasi 21 hari

Jenis limbah	Persamaan
Jolawe 0%	$y = 0,030x + 4,789$
Jolawe 50%	$y = -0,137x + 4,485$
Jolawe 100%	$y = -0,238x + 5,223$
Mahoni 0%	$y = 0,030x + 4,780$
Mahoni 50%	$y = -0,171x + 4,861$
Mahoni 100%	$y = -0,138x + 5,055$
Indigo 0%	$y = 0,130x + 5,317$
Indigo 50%	$y = -0,047x + 4,627$
Indigo 100%	$y = 0,029x + 4,622$
Campuran 0%	$y = 0,130x + 5,317$
Campuran 50%	$y = 0,137x + 4,759$
Campuran 100%	$y = 0,558x + 4,817$

Berbeda dengan bakteri total dan bakteri penambat nitrogen, penambahan limbah batik pewarna alami berdampak negatif terhadap bakteri pelarut fosfat dalam tanah, kecuali pengaruh limbah batik pewarna campuran. Setelah 21 hari inkubasi, jumlah bakteri pelarut fosfat dalam tanah yang ditambah limbah batik pewarna alami jolawe, indigo maupun mahoni lebih rendah dibandingkan dengan jumlah bakteri pelarut fosfat dalam tanah yang tidak ditambah limbah, kecuali limbah campuran.

Tabel 7. Kadar flavanoid dan fenolik limbah batik pewarna alami

Parameter	Limbah batik menggunakan pewarna			
	Campuran	Indigo	Mahoni	Jolawe
Flavanoid (%)	0,70	0,14	0,18	0,22
Fenolik	1,64	0,22	0,18	0,22

Secara umum, limbah pewarnaan batik menggunakan jolawe memberi pengaruh paling kecil terhadap viabilitas bakteri tanah, bahkan berpengaruh paling negatif terhadap bakteri pelarut fosfat. Sebaliknya limbah batik dengan pewarnaan campuran berpengaruh paling baik terhadap komunitas bakteri total, bakteri penambat nitrogen maupun bakteri pelarut fosfat dalam tanah. Limbah campuran mampu meningkatkan viabilitas komunitas bakteri tanah, mungkin karena komposisinya yang beragam.

Zat warna alam sudah digunakan sejak jaman dulu untuk mewarnai tekstil. Zat warna alam dapat diperoleh dari hasil ekstrak berbagai tumbuhan seperti: akar, kayu, daun, biji, ataupun bunga (Aminoddin and Haji, 2010). Zat pewarna alam dalam industri batik di Wukirsari pada umumnya diperoleh dari hasil ekstrak berbagai bagian tumbuhan seperti akar, kayu, daun, biji ataupun bunga. Pewarna yang paling sering digunakan adalah ekstrak jolawe, mahoni dan indigo. Pewarna lain yang juga digunakan adalah daun pohon nila (indofera), kulit pohon soga tingi (*Ceriops candolleana* arn), kulit soga jambal (*Pelthophorum ferruginum*), Secang (*Caesalpinia sappan*, Linn), tegeran (*Maclura chocinensis*), dan nangka (*Artocarpus heterophyllus*). Secara kimiawi pewarna alami merupakan senyawa poliaromatis berbasis benzen, berupa indigoid, anthraquinon dan derivatnya, senyawa flavonoid, senyawa fenolik, tanin, anthraquinoid, dihydropyrans, serta Anthocyanidins. Fenol merupakan senyawa yang berasal dari tumbuhan, terdiri atas beberapa struktur dengan ciri khas berupa cincin aromatis yang mengandung satu atau dua gugus hidroksil. Senyawa fenol dikenal bersifat antiseptik karena mampu membunuh sejumlah bakteri karena merusak membran sitoplasma dan protein. Flavonoid banyak terdapat dalam semua bagian tumbuhan. Flavonoid merupakan golongan polifenol sehingga memiliki sifat kimia seperti fenol. Beberapa diantara senyawa tersebut di atas bersifat menghambat pertumbuhan jamur dan bakteri, sehingga sering digunakan sebagai antibiotik alami (Khan *et al.*, 2003; Chengaiah *et al.*, 2010).

Hasil analisis terhadap kadar flavanoid dari limbah pewarnaan menggunakan jolawe, mahoni, indigo maupun campuran berturut turut sebesar 0,22%; 0,18%, 0,22%, dan 0,70, sedangkan kadar fenoliknya mencapai berturut-turut sebesar 0,22%; 0,18%, 0,14%, dan 1,64%. Jumlah fenolik dan flavonoid pada limbah campuran paling tinggi. Semakin tinggi kadar fenolik maupun flavonoid, warna limbah semakin gelap.

Nampaknya senyawa fenolik maupun flavonoid dalam limbah tidak berpengaruh terhadap komunitas bakteri tanah. Albayrak *et al.* (2010), dalam penelitiannya menggunakan metode difusi agar dengan konsentrasi ekstrak fenolik dari 1 sampai dengan 10%. menunjukkan bahwa tidak semua bakteri terhambat pertumbuhannya oleh senyawa fenolik. Dari 12 spesies bakteri yang diuji, enam di antaranya terhambat pertumbuhannya oleh senyawa fenolik ekstrak dari tanaman, sedangkan enam spesies lainnya tidak terhambat.

Keberadaan bahan organik limbah mampu memacu pertumbuhan bakteri tanah pada awal inkubasi. Namun demikian perlu diperhatikan bahwa struktur kimiawi dari malam/lilin dan amilum jauh lebih sederhana dibandingkan dengan pewarna alam. Apabila senyawa pewarna bercampur dengan malam dan amilum, mikroorganisme cenderung memanfaatkan senyawa yang lebih sederhana. Sejumlah 14 isolat bakteri berhasil diperoleh peneliti. Masing-masing isolat mampu tumbuh baik dalam limbah, namun semua isolat yang diuji tidak mampu melakukan dekolorisasi terhadap limbah (data tidak dicantumkan). Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama senyawa pewarna menjadi terakumulasi di alam, sehingga suatu saat akan menimbulkan masalah. Meskipun bersifat aman bagi mikroorganisme tanah, namun warna kecoklatan limbah secara estetis kurang baik, karena memiliki warna kecoklatan.

DAFTAR PUSTAKA:

- Albayrak¹,S., Aksoy¹, A., Sađdic, O., Budak, U. 2010. Phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial Turk J Biol. 34: 463-473. c TUBİTAK doi:10.3906/biy-0901-4
- Aminoddin and Haji. 2010. Functional Dyeing of Wool with Natural Dye Extracted from *Berberis vulgaris* Wood and *Rumex hymenosepolus* Root As Biomordant. *Iran J. Chem. Chem. Eng.*, 29(3).
- Atanassova, M. And Christova-Bagdassaria, V. 2009. Determination of tannins content by tetrimetric method for comparison of different plant spesies. *J of the University of Chemical Technology and metallurgy*, 44:413-415
- Baishya D., Talukdar J. And Sandhya S. 2012. Cotton Dying with Natural Dye Extracted from Flower of Bottlebrush (*Callistemon citrinus*). *Universal Journal of Environmental Research and Technology*. 2: 377-382.
- Carlsen, S.C.K.; Pedersen, H.A.; Spliid, N.H and Fomsgaard, I.S. 2012. Fate in Soil of Flavonoids Released from White Clover (*Trifolium repens* L.). *Applied and Environmental Soil Science*. Article ID 743413. doi:10.1155/2012/743413

- Chang, C.C.; Yang, M.; Wen, H.; Chern, J. 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods, *Journal of Food and Drug Analysis*, 10:178-182
- Chengaiyah, B., Rao, K.M.; Kumar, K.M.; Alagusundaram, M.; Chetty, C. M. 2010. Medicine importance of natural dyes. A Review. *International Journal of Pharm Tech Research*. 2:144-154
- Chet, Ng W. 2009. Total phenolic and total flavonoids content of pitaya peels by water extration. A thesis Faculty of Chemical and Natural Resources Engineering Universiti Malaysia Pahang.
- Huo, L. , Lu, r., Li, P., Liao, Y., Chen,R. , Deng, C., Lu, C., Weia, X., and Lia, Y. 2011. Antioxidant activity, total phenolic, and total flavonoid of extracts from the stems of *Jasminum nervosum* Lour. *Grasas y aceites*, 62:149-154, 2011, issn: 0017-3495, doi: 10.3989/gya.066810.
- Khan, M. R. , Omoloso, A. D. & Kihara, M., *Fitoterapia*, 74 (5) (2003) 501.
- Prabhu, K. H. and Bhute, A. S. 2012. Plant based natural dyes and mordants: A Review. *J. Nat. Prod. Plant Resour.*, 2012, 2 (6):649-664
- Rodríguez,H., and Fraga, R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances* 17: 319–339
- Ruwandi dan Suharno, 2000, Teknologi Pewarnaan Batik dengan Warna Sintetis dan Alam. *Materi Diklat Pendidikan Non Gelare Program DUE-Like* pada tanggal 22-27 Agustus 2000 di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Industri Kerajinan dan Batik Yogyakarta.
- Samanta, A.K. and Konar, A. Dyeing of Textiles with Natural Dyes. www.intechopen.com. Diunduh 15 Juli 2013.
- Saharan, B. S. and Nehra, V. 2011. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. *Life Sciences and Medicine Research*, Volume 2011: LSMR-21

SINOPSIS PENELITIAN YANG AKAN DILAKUKAN

3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kemampuan dekolorisasi isolat yang diperoleh masih rendah, untuk itu perlu dilakukan pengembangan teknik isolasi dengan sumber atau metode yang berbeda dengan yang sudah dilakukan selama ini.
4. Hasil penelitian menunjukkan bahwa limbah mengandung bahan organik yang tinggi dan bahan organik yang terdapat dalam limbah tidak bersifat toksik bagi mikrobia tanah. Oleh karena itu maka penelitian tentang pemanfaatan limbah batik pewarna alami untuk penanaman azolla menarik untuk dilakukan.