

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Limbah Rumah Tangga

Limbah merupakan bahan buangan hasil dari kegiatan manusia baik rumah tangga maupun industri yang sudah tidak digunakan dan diinginkan lagi karena tidak menghasilkan nilai ekonomis (Sumantri, 2015). Limbah cair rumah tangga atau domestik merupakan air limbah yang pada umumnya dihasilkan dari kegiatan masyarakat sehari-hari (Rahayu dan Wijayanti, 2008). Limbah rumah tangga atau domestik pada umumnya mengandung limbah atau bahan sisa, hasil dari kegiatan masyarakat seperti mandi, mencuci, dan kakus sehingga limbah rumah tangga atau limbah domestik biasanya berupa tinja dan padatan-padatan terlarut lainnya. Limbah organik mengandung senyawa organik berupa protein, karbohidrat, lemak dan asam nukleat (Nazar dkk., 2010).

Limbah cair domestik atau limbah cair rumah tangga berdasarkan sumber dan kandungan dalam air limbah dibedakan menjadi menjadi *grey water* dan *black water* (Tendean dkk., 2014). *Grey water* sendiri berasal dari sisa atau bekas cucian baik dapur maupun kamar mandi (Supradata, 2005). *Grey water* merupakan campuran dari urin dan tinja dengan *black water* sehingga mengandung mikroorganisme patogen yang menjadi sumber penyakit. *Black water* merupakan limbah yang berasal dari tinja atau feses dan air seni dengan air bilasan dari kamar mandi maupun toilet dan mengandung unsur nitrogen, fosfor dan mikroorganisme patogen (Tendean dkk., 2014).

B. Bakteri Limbah Rumah Tangga

Bakteri merupakan organisme yang tersebar dan memiliki keanekaragaman yang tinggi karena bakteri dapat hidup di daerah-daerah dengan kondisi ekstrem seperti pada suhu tinggi atau rendah, kadar garam yang tinggi dan atau kadar logam yang tinggi (Reece dkk., 2011). Menurut Betsy dan Koegh (2005), bakteri dapat hidup secara soliter maupun membentuk koloni. Bakteri berkembang biak dengan cara membelah diri sehingga pertumbuhan bakteri cepat dan tidak memerlukan waktu lama. Reaksi enzimatik oleh bakteri merupakan kunci keberhasilan proses pengolahan air limbah karena kandungan bahan organik yang kompleks didegradasi menjadi unsur yang sederhana (Moat dan Foster, 1995).

Bakteri menghasilkan enzim yang hidrolitik ekstraseluler, yang akan diekskresi keluar sel dan digunakan mengurai substrat tertentu (Madigan dkk., 2003). Menurut Said dan Marsidi (2005), jenis-jenis bakteri berdasarkan jenis Gram dibedakan menjadi beberapa kelompok seperti:

1. Bakteri Gram Negatif fakultatif anaerob yang meliputi bakteri dari genus *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Vibrio*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, dan *Shigella*.
2. Bakteri Gram Negatif aerob yang meliputi bakteri dari genus *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, dan *Acinetobacter*.
3. Bakteri Gram Positif membentuk spora yang meliputi bakteri dari genus *Bacillus* spp.

4. Bakteri Gram Positif tidak membentuk spora yang meliputi bakteri dari genus *Arthrobacter*, *Corynebacterium* dan *Rhodococcus*.

Limbah cair rumah tangga atau domestik mengandung mikroorganisme perombak bahan organik maupun pathogen (Paramita dkk., 2012). Mikroorganisme patogen yang terdapat dalam limbah domestik merupakan bakteri yang termasuk dalam famili Enterobacteriaceae serta adanya bakteri *coliform* yang meliputi *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, dan *Citrobacter* (Pakpahan dkk., 2015). Bakteri perombak bahan atau senyawa organik merupakan aktivator biologis yang secara alami tumbuh atau sengaja ditambahkan. Contoh jenis bakteri yang memiliki kemampuan untuk mendegradasi limbah organik adalah *Pseudomonas* sp., *Achromobacter* sp., *Bacillus* sp., *Staphylococcus* sp., *Flavobacterium* sp., *Clostridium* sp., *Streptomyces* spp., *Thermonospora* spp., *Microplysora* spp., dan *Thermoactinomyces* spp. (Zahidah dan Shovitri, 2013).

Senyawa organik dalam air limbah digunakan oleh mikroorganisme sebagai nutrisi (Moertinah, 2010). Mikroorganisme akan menguraikan senyawa organik menjadi lebih sederhana dan stabil sehingga kadar atau kandungan bahan pencemar dalam air limbah menjadi turun. Kandungan pencemar atau cemaran dalam limbah, diuraikan oleh bakteri hingga kadarnya menurun mengecil sehingga menaikkan pH, menurunkan BOD dan COD hingga aman bagi lingkungan dan makhluk hidup ketika dilepaskan kembali ke lingkungan (Joel dkk., 2009).

Pseudomonas sp. dan *Bacillus* sp. memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim-enzim yang berfungsi dalam proses degradasi protein yang terdapat di limbah rumah tangga. Enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri akan merombak atau mendegradasi protein menjadi peptida sederhana seperti asam amino (Sutanto, 2011). Menurut Rahayu dan Wijayanti (2008), air limbah rumah tangga mengandung bakteri patogen seperti *Klebsiella pneumoniae*, *Klasiella rhinosleromatis* dan bakteri *coliform* yang berasal dari tinja atau feses manusia.

C. Karakterisasi Bakteri

Karakterisasi merupakan salah satu cara untuk mengetahui karakteristik dari suatu mikroorganisme, perlu didapatkan biakan atau kultur murni dari mikroorganisme. Karakteristik bakteri merupakan ciri-ciri yang dimiliki oleh bakteri dan menunjukkan identitas dari suatu bakteri (Ansola dkk., 2014). Kultur murni merupakan biakan dari mikroorganisme yang hanya terdiri dari satu spesies saja atau terdiri dari satu galur mikroorganisme (Fardiaz, 2007). Menurut Lay dan Hastowo (1992), kultur murni yang sudah didapatkan kemudian diuji untuk mengetahui jenis mikroorganisme yang didapat. Pengujian yang dilakukan untuk mengkarakterisasi atau mengetahui jenis mikroorganisme yang telah didapat adalah dengan mengamati karakteristik secara makroskopis, mikroskopis dan biokimia dari kultur bakteri yang didapat.

Pengamatan secara makroskopis dilakukan dengan mengamati morfologi koloni bakteri yang meliputi bentuk koloni diantaranya berbentuk

bulat, titik, seperti akar, berfilamen atau tidak teratur serta ukuran koloni yang dapat diukur diameter dari koloni bakteri yang terbentuk. Bentuk tepi koloni yang diamati meliputi bentuk utuh, berombak, bergerigi, berbelah, rizoid atau keriting (Irianto, 2012). Menurut Lay (1994), warna dari koloni bakteri yang terbentuk diantaranya keputihan, kekuningan, coklat, orange, kemerahan, *pink*, hijau, jingga atau ungu. Bentuk elevasi koloni dapat meliputi timbul, melengkung, cembung atau rata. Struktur koloni yang diamati diantaranya halus mengkilat, kasar, berkerut atau seperti bubuk (Breakwell dkk., 2007).

Pengamatan secara mikroskopis meliputi pengamatan bentuk sel, ukuran sel dan pewarnaan sel bakteri. Bentuk sel bakteri diantaranya *bacil* (batang), *coccus* (bulat), atau spiral. Bentuk sel bakteri dapat dilihat dengan mewarnai bakteri terlebih dahulu sebelum dilihat dibawah mikroskop (Cappuccino dan Sherman, 2011). Menurut Pelczar dan Chan (2008), metode pewarnaan bakteri dapat dibedakan menjadi pengecatan sederhana, pengecatan diferensial dan pengecatan struktural. Metode atau teknik pewarnaan secara sederhana merupakan teknik pewarnaan bakteri hanya dengan menggunakan satu larutan tunggal sebagai pewarna. Pewarnaan diferensial adalah teknik atau metode pewarnaan yang digunakan untuk melihat adanya perbedaaan antara sel-sel mikroorganisme atau bagian-bagian penyusun sel mikroorganisme (Madigan dkk., 2009).

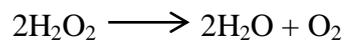
Pewarnaan Gram adalah metode yang dilakukan untuk melihat morfologi (bentuk) sel bakteri dan untuk membedakan bakteri Gram positif atau Gram negatif (Fitri dan Yasmin, 2011). Prinsip pewarnaan Gram adalah

kemampuan dinding sel untuk menyerap zat warna utama yang diaplikasikan (Fardiaz, 1990). Peptidoglikan yang pada dinding sel bakteri mengandung asam teikoat dan teikuronat yang mempengaruhi kemampuan dinding sel untuk mengikat zat pewarna yang diberikan. Asam teikoat dan teikuronat menyebabkan pori-pori dinding sel kecil dan memperkuat ikatan antara membran plasma dengan dinding sel (Madigan dkk., 2009). Ketebalan peptidoglikan pada dinding sel setiap bakteri berbeda-beda, sehingga kemampuan peptidoglikan untuk menyerap zat warna juga berbeda. Dinding sel yang menyusun bakteri Gram negatif memiliki peptidoglikan yang tipis yang terdapat diantara membran dalam dan membran luar sedangkan pada bakteri Gram positif, dinding selnya terdapat peptidoglikan yang tebal serta mengandung asam teikoat dan teikuronat yang mengikat zat warna dengan kuat (Helmiyati dan Nurrahman, 2010).

Peptidoglikan yang tipis pada dinding sel bakteri akan mengakibatkan daya ikat terhadap zat warna lemah sedangkan peptidoglikan yang tebal akan mengikat zat warna dengan kuat (Fitri dan Yasmin, 2011). Menurut Fardiaz (2007), pewarnaan Gram terdiri dari pemberian zat warna utama kristal violet (Gram A), zat Lugol's Iodin (Gram B), pembilasan dengan *Alcohol-Aceton* (Gram C), dan Pemberian safranin (Gram D). Menurut Fitri dan Yasmin (2011), bakteri yang tergolong dalam kelompok Gram positif menghasilkan warna biru atau ungu karena pewarna utama kristal violet (Gram A) tetap terikat kuat pada peptidoglikan dan tidak luntur saat dibilas dengan alkohol aseton (Gram C), sehingga pada saat pemberian zat warna safranin (Gram D)

tidak terikat dengan peptidoglikan. Menurut Madigan dkk. (2003), bakteri Gram negatif akan berwarna merah ketika diwarnai dengan pewarnaan Gram karena peptidoglikan pada dinding sel bakteri tipis sehingga zat warna akan mudah lepas atau luntur.

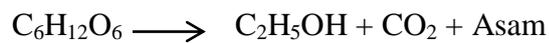
Uji biokimia merupakan salah satu uji yang dilakukan untuk mengetahui proses-proses kimia yang terjadi dalam tubuh makhluk hidup (Lehninger, 1995). Menurut Hadioetomo (1993), uji katalase merupakan uji yang bertujuan untuk mengetahui sifat bakteri berdasarkan kebutuhan oksigen. Bakteri yang bersifat aerob memiliki enzim katalase untuk mendegradasi hidrogen peroksida yang bersifat toksik bagi bakteri. Hasil positif dari uji katalase ditandai dengan terbentuknya gelembung-gelembung udara atau buih-buih yang menunjukkan bahwa bakteri dapat menghasilkan enzim katalase. Menurut Volk dan Wheeler (1988) gelembung udara atau buih terbentuk sebagai akibat dari pemecahan hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen oleh enzim katalase. Reaksi kimia yang terjadi adalah seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Reaksi kimia uji katalase

Uji fermentasi karbohidrat merupakan metode atau pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menfermentasi karbohidrat dan menghasilkan berbagai senyawa seperti asam laktat dan propionat, senyawa ester, keton dan gas (Pelczar dan Chan, 2008). Menurut Saraswati (2010), uji fermentasi yang dilakukan meliputi tiga (3) macam fermentasi karbohidrat yaitu *Phenol Red Base-Glucose Broth*, *Phenol Red*

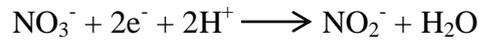
Base-Lactose Broth dan *Phenol Red Base-Sucrose Broth*. Reagen *Phenol Red* yang digunakan dibuat dalam konsisi pH 7,4 dan ditambah dengan karbohidrat sebanyak 1%. Hasil positif dari proses fermentasi karbohidrat adalah dengan terbentuknya asam yang ditandai dengan perubahan warna dari reagen *Phenol Red* yang berwarna merah menjadi warna kuning dan adanya gelembung-gelembung udara yang terbentuk dalam tabung Durham. Perubahan warna yang terjadi disebabkan karena asam yang terbentuk dari proses fermentasi menurunkan nilai pH dari reagen *Phenol Red*. Menurut Jutono dkk. (1980), reaksi kimia yang terjadi dalam proses fermentasi karbohidrat oleh bakteri adalah seperti pada Gambar 2.



Gambar 2. Reaksi kimia fermentasi karbohidrat

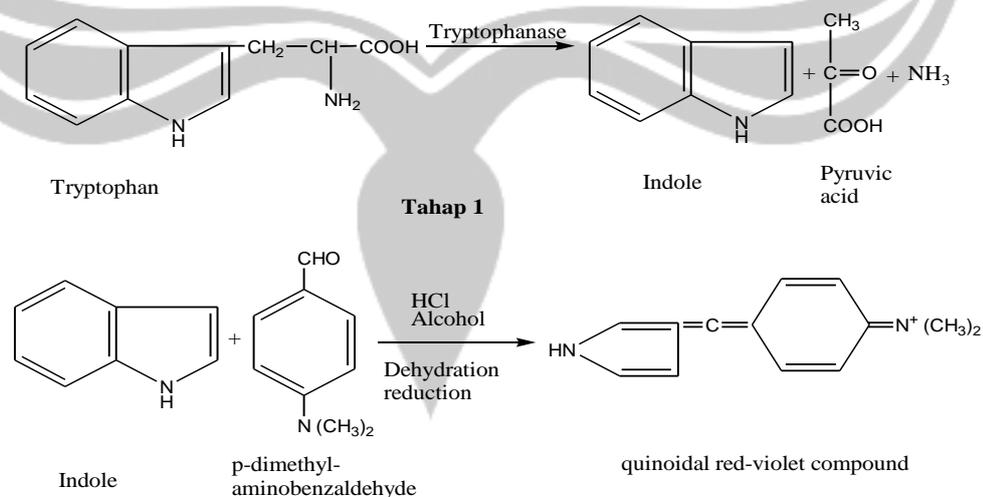
Uji reduksi nitrat adalah metode yang dilakukan untuk melihat kemampuan bakteri dalam mendegradasi nitrat menjadi nitrit (Hadioetomo, 1993). Bakteri pereduksi nitrat menunjukkan bahwa bakteri dapat menghasilkan enzim nitrat dan nitrit reduktase. Enzim nitrat reduktase yang dihasilkan oleh bakteri akan mengubah nitrat menjadi nitrit yang kemudian oleh enzim nitrit reduktase akan diubah menjadi ammonium dimana amonium kemudian akan disintesis menjadi protein yang akan digunakan kembali oleh bakteri untuk proses metabolisme. Hasil positif dari uji reduksi nitrat pada bakteri ditandai dengan adanya perubahan warna larutan menjadi warna merah muda hingga merah setelah ditambah dengan reagen *Sulfanilamide Acid* (SA) dan *α -Naphthylene Diamine* (NAD). Menurut Suriawiria (1985),

reaksi kimia yang terbentuk pada proses reduksi nitrat adalah seperti pada Gambar 3.



Gambar 3. Reaksi kimia reduksi nitrat

Uji indol merupakan uji yang digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim triptofanase untuk menghidrolisis asam amino triptofan menjadi asam piruvat dan indol. Senyawa indol merupakan hasil dari proses degradasi asam amino triptofan yang disebut *benzyl pyrrole* (Prescott, 2002). Hasil atau reaksi positif dari uji pembentukan indol adalah terbentuknya senyawa indol yang berbentuk seperti cincin berwarna merah muda atau merah muda keunguan setelah penambahan reagen *Erlich* atau *Kovach* yang mengandung senyawa D-Dimetilbenzaldehyd (Gambar 4). Cincin indol berwarna merah muda atau merah muda keunguan terbentuk karena senyawa pada amina benzaldehyd tidak larut dalam air (Cappuccino dan Sherman, 2011).



Gambar 4. Reaksi pembentukan indol (Sumber: Jutono dkk., 1980)

D. Hipotesis

Air limbah rumah tangga IPAL Sewon, Bantul mengandung bakteri indigenus dominan yang meliputi *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Aeromonas* sp., *Escherichia* sp., dan *Staphylococcus* sp.

