

# Karakterisasi Resistensi dan Dekolorisasi Berbagai Pewarna Oleh Bakteri Indigen Indonesia *Escherichia coli* Strain CN5

WAHYU IRAWATI<sup>1,\*</sup>, VANIA A.C. TIMOTIUS<sup>2</sup>, RUBEN P. ADHIWIJAYA<sup>2</sup>,  
EUNIKE B. MARVELLA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Pelita Harapan, Tangerang, Banten, Indonesia.

<sup>2</sup>Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Pelita Harapan, Tangerang, Banten

<sup>3</sup>Jurusan Sains, BPK Penabur Gading Serpong, Tangerang, Banten

Diterima: 26 Mei 2022 – Disetujui: 15 September 2022  
© 2022 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

## ABSTRACT

The development of the textile industry in Indonesia is increasing the amount of dye waste produced. Copper is often a component of dyes, both of which harm aquatic ecosystems because they cannot be degraded. These problems can be overcome by bioremediation using bacteria isolated from polluted waters, called indigenous bacteria. It is hoped that indigenous bacteria can degrade textile waste and reduce copper toxicity in waters. This study aims to characterize, test resistance, and test the decolorization of the Indonesian indigenous bacterial isolate CN5 to dye and copper. There are 12 kinds of dyes used, namely: methylene blue, malachite green, congo red, mordant orange, reactive black, direct yellow, basic fuchsin, reactive orange, disperse orange, remasol red, wantex yellow, and wantex red. Resistance and decolorization tests on solid medium were carried out by growing bacterial cultures into luria bertani agar medium, each of which added a different type of dye. The dye concentrations tested were 100 ppm and 500 ppm. The ability to decolorize is known from the presence of a clear zone around the bacterial colony. The percentage of decolorization was tested using a spectrophotometer at a wavelength of 300-900 nanometers. Bacterial identification was carried out by 16S-rRNA sequencing. The results showed that CN5 isolates had a base similarity of 100% with *Escherichia coli*, so hereinafter referred to as *E. coli* strain CN5 could grow at 200 ppm and 500 ppm methylene blue, malachite green, congo red, mordant orange, reactive black, direct yellow, reactive orange, disperse orange, red remasol, yellow wantex, and red wantex but did not grow on fuchsin basic dye. Colonies of *E. coli* strain CN5 were only able to decolorize methylene blue with a concentration of 200 ppm and 500 ppm seen from the clear zone formed around the colony. The decolorization of methylene blue that occurred was 92.47%. The addition of copper reduced the decolorization ability to 75.59%. Based on the results of this study, it can be concluded that the *E. coli* strain CN5 has the potential to be used as a bioremediation agent for textile waste containing copper and methylene blue.

**Key words:** dye; *E. coli*; copper; decolorization; resistant.

## PENDAHULUAN

Air memiliki peranan yang penting bagi kehidupan karena menunjang berbagai kebutuhan

maupun aktivitas manusia. Kebutuhan air semakin meningkat seiring meningkatnya jumlah penduduk. Indonesia memiliki banyak wilayah perairan, namun sebagian besar wilayah perairan tersebut tercemar limbah. Kualitas air pada wilayah perairan di Indonesia seperti sungai umumnya tergolong tercemar berat (Badan Pusat Statistik, 2018). Peningkatan sektor industri di Indonesia khususnya industri tekstil menyebabkan

---

\* Alamat korespondensi:

PS. Pendidikan Biologi, FKIP, Universitas Pelita Harapan.  
Jl. M.H. Thamrin Blv. 1100, Lippo Karawaci, Tangerang  
15811, Banten, Indonesia, Tel/fax: +62-21-5460901, E-mail:  
wahyu.irawati@uph.edu

kan masalah pada lingkungan perairan. Lingkungan perairan menjadi tercemar oleh limbah cair dari zat pewarna tekstil yang digunakan. Jenis zat pewarna yang biasa digunakan dapat dibagi menjadi pewarna mordant, asam, basa, direk, reaktif, dan jenis lainnya (O'Mahony *et al.*, 2002).

Wilayah perairan yang tercemar zat pewarna tekstil dapat mengganggu keindahan lingkungan dan dapat menyebabkan masalah kesehatan. Masalah kesehatan dapat terjadi karena pewarna tekstil sintetik mengandung senyawa kimia berupa cincin aromatik yang sulit untuk didegradasi serta bersifat karsinogenik dan mutagenik (Fu & Viraraghavan, 2001; Gao *et al.*, 2018; Putra, 2018; Shani, 2019). Toksisitas pewarna dapat menurunkan kualitas air dan menyebabkan kematian pada makhluk hidup. Agustina *et al.*, (2011) menyatakan pewarna dapat menyebabkan perubahan kualitas air karena dapat memengaruhi pH dan kandungan oksigen terlarut di dalam air. Hasil uji toksisitas dari produksi pewarna limbah industri menunjukkan potensi toksisitas karena memiliki kandungan magnesium yang tinggi (Juliantra *et al.*, 2015).

Perkembangan industri tekstil di Indonesia semakin meningkatkan jumlah limbah pewarna yang dihasilkan. Limbah pewarna dapat mengandung logam berat yang tergolong berbahaya (Zille, 2005; Komarawidjaja, 2017). Salah satu limbah yang dihasilkan oleh pabrik tekstil adalah logam yang berbahaya seperti tembaga (Cu), timbal (Pb), seng (Zn), dan kromium yang terkandung dalam limbah (Sani *et al.*, 2018). Menurut Enrico (2019), logam berat yang terkandung pada limbah cair yang dihasilkan oleh pabrik tekstil adalah tembaga dengan konsentrasi tinggi. Penggunaan tembaga dalam industri pewarna menimbulkan masalah lingkungan karena sifatnya yang tidak dapat didegradasi menyebabkan tembaga terakumulasi di lingkungan. Tembaga di badan air menurunkan kadar pH dan  $N_2O$  sehingga mengganggu ekosistem perairan (Ahmed *et al.*, 2018). Organisme laut dan darat dapat mengakumulasi tembaga sehingga melalui rantai makanan bisa membahayakan manusia. Tembaga menyebabkan

gangguan fisiologis seperti anemia, penyakit hati dan ginjal, serta iritasi lambung dan usus (Wuana & Okieimen, 2011).

Masalah pencemaran pewarna dan tembaga di perairan dapat dipecahkan dengan menggunakan agen biologis yang ramah lingkungan yaitu bakteri indigen. Bakteri indigen merupakan bakteri yang memiliki potensi untuk mengurai dan dapat diisolasi secara langsung dari limbah (Fidiastuti, 2017). Bakteri indigen yang diisolasi dari lingkungan tercemar dapat mengalami pertumbuhan dan memiliki kemampuan untuk mendekolorisasi sehingga dapat bertahan hidup di kondisi tercemar dan toksik. Dekolorisasi merupakan proses penghilangan warna suatu senyawa dengan memanfaatkan suatu organisme. Velan *et al.*, (2012) menyatakan bahwa proses dekolorisasi menggunakan bakteri indigen dimediasi oleh enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri sehingga zat-zat toksik dapat terdegradasi dengan baik. Bakteri indigen dapat resisten terhadap pewarna tekstil karena di dalam limbah cair pewarna tersebut mengandung banyak nutrisi organik yang dapat digunakan untuk pertumbuhan bakteri (Stolz, 2001). Lade *et al.*, (2015) juga melaporkan proses dekolorisasi yang memanfaatkan bakteri indigen sebagai kultur awal untuk mendegradasi limbah cair pewarna tekstil. Selain itu, bakteri indigen memiliki kemampuan resistensi terhadap logam berat.

Metode bioremediasi merupakan metode ramah lingkungan yang memanfaatkan mikroba sebagai media remediasi. Mikroba yang dapat digunakan adalah bakteri, jamur, dan alga. Metode bioremediasi sering dimanfaatkan untuk membersihkan kontaminasi khususnya logam berat dengan konsentrasi yang rendah (Yasid, 2014). Bakteri mampu menjadi agen bioremediasi yang baik karena bakteri mampu beradaptasi dengan baik dengan lingkungan melalui perubahan sistem genetik, transfer elemen genetik, transformasi seluler, dan mekanisme lainnya (Ryan *et al.*, 2009). Bakteri memiliki permukaan sel yang bermuatan negatif sehingga dapat mengikat kation logam. Selama proses bioremediasi, bakteri melakukan perubahan atau

mobilisasi logam sehingga toksisitas menurun (Yasid, 2014).

Pencemaran limbah industri tekstil yang mengandung pewarna dan tembaga memerlukan bakteri yang dapat resisten dan mendekolorisasi pewarna dan tembaga. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui resistensi dan kemampuan dekolorisasi bakteri indigen Indonesia yaitu isolat CN5 pada medium yang mengandung berbagai macam pewarna yaitu *Methylene blue*, *Malachite green*, *Congo red*, *Mordant orange*, *Reactive black*, *Direct yellow*, *Basic fuchsin*, *Reactive orange*, *Disperse orange*, *Remasol merah*, *Wantex kuning* (kuning podang), dan *Wantex merah* (merah tua).

## METODE PENELITIAN

### Medium Pertumbuhan

Medium cair dibuat dengan melarutkan 20 g *Luria Bertani Broth* (Miller) ke dalam 1000 ml akuades. Medium padat dibuat dengan menambahkan 20 gram *broth bacteriological agar* ke dalam 1000 liter LB cair. Medium disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

Pewarna yang digunakan ada 12 macam yaitu *Methylene blue*, *Malachite green*, *Congo red*, *Mordant orange*, *Reactive black*, *Direct yellow*, *Basic fuchsin*, *Reactive orange*, *Disperse orange*, *Remasol merah*, *Wantex kuning*, dan *Wantex merah*. Masing-masing pewarna dibuat stok 10.000 ppm dan disterilkan menggunakan membran filter. Tembaga yang digunakan adalah  $\text{CuSO}_4$  dengan konsentrasi stok larutan sebesar 1 Molar, disterilkan menggunakan membran filter. Pewarna dan tembaga pada konsentrasi tertentu dimasukkan secara aseptis ke dalam medium yang sudah disterilkan.

### Uji Pertumbuhan Isolat CN5 pada Berbagai Pewarna

Sebanyak satu ose bakteri diinokulasi dengan metode *streak plate* ke dalam medium LB agar steril yang masing-masing mengandung 200 ppm atau 500 ppm *Methylene blue*, *Malachite green*, *Congo red*, *Mordant orange*, *Reactive black*, *Direct*

*Yellow*, *Basic fuchsin*, *Reactive orange*, *Disperse orange*, *Remasol merah*, *Wantex kuning*, *Wantex merah* dengan penambahan 3 mM  $\text{CuSO}_4$  atau tanpa  $\text{CuSO}_4$  kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37 °C. Pengamatan yang dilakukan meliputi pertumbuhan koloni, warna koloni, dan adanya zona bening di sekeliling koloni (Irawati *et al.*, 2022).

### Uji Dekolorisasi Isolat CN5 pada Berbagai Pewarna dan $\text{CuSO}_4$

Kultur pemula dibuat dengan menginokulasikan 1 ose biakan agar miring isolat CN5 ke dalam medium LB cair kemudian diinkubasikan dalam *incubator shaker* 150 rpm suhu 37°C. Pertumbuhan kultur pemula diukur menggunakan spektrofotometer panjang gelombang 600 nm hingga mencapai *Optical Density* sebesar 0.6 (OD= 0.6). Sebanyak 1% kultur pemula isolat CN5 (OD= 0.6) diinokulasikan ke dalam 10 ml LB cair yang masing-masing mengandung 200 ppm atau 500 ppm *Methylene blue*, *Malachite green*, *Congo red*, *Mordant orange*, *Reactive black*, *Direct Yellow*, *Basic fuchsin*, *Reactive Orange*, *Disperse Orange*, *Remasol merah*, *Wantex kuning*, *Wantex merah* dengan penambahan 3 mM  $\text{CuSO}_4$  atau tanpa  $\text{CuSO}_4$  kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C dalam *incubator shaker* 200 rpm (Irawati *et al.*, 2022).

Sebanyak 1000 µl sampel berupa kultur cair hasil pertumbuhan bakteri selama 24 jam dan 48 jam dalam medium LB yang mengandung pewarna tersebut disentrifugasi pada 15.000 rpm selama 1 menit. Supernatan yang terbentuk diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 300-900 nanometer (nm). Absorbansi medium tanpa pewarna juga diukur sebagai kontrol. Persentase dekolorisasi dihitung dengan rumus sebagai berikut (Irawati *et al.*, 2022):

$$\% \text{dekolorisasi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}}$$

### Hasil Similaritas dan Pohon Filogeni Isolat CN5

Sekuensing 16S-rRNA dilakukan untuk mengetahui nama isolat CN5 berdasarkan

kesamaan basa dengan bakteri yang ada di bank gen. Sampel bakteri diekstraksi dengan menggunakan kit *Quick-DNA Fungal/Bacterial MiniPrep*. Sampel bakteri yang sudah diekstraksi dilakukan kuantifikasi DNA genomik menggunakan alat Nanodrop dan diamplifikasi menggunakan alat PCR KOD FX Neo-201. Sampel bakteri dilakukan *bidirectional sequencing* untuk melihat kesamaan basanya dengan data bank gen menggunakan program *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST). Hasil sekuensing 16S-rRNA isolat CN5 dikatakan identik pada tingkat spesies apabila nilai pada *percentage identity* di atas 97,5% dan identik pada tingkat genus apabila nilai pada

*percentage identity* di atas 95% (Stackebrandt, 1994).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Similaritas dan Pohon Filogeni Isolat CN5

Hasil dari analisis similaritas isolat CN5 dengan program *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) dan pohon filogeni isolat CN5 menunjukkan bahwa isolat CN5 memiliki kekerabatan dengan *Escherichia coli* dengan *query cover* sebesar 100% dan *percentage identity* sebesar 100% sehingga selanjutnya isolat CN5 disebut dengan *E. coli* strain CN5 (Tabel 1). Menurut

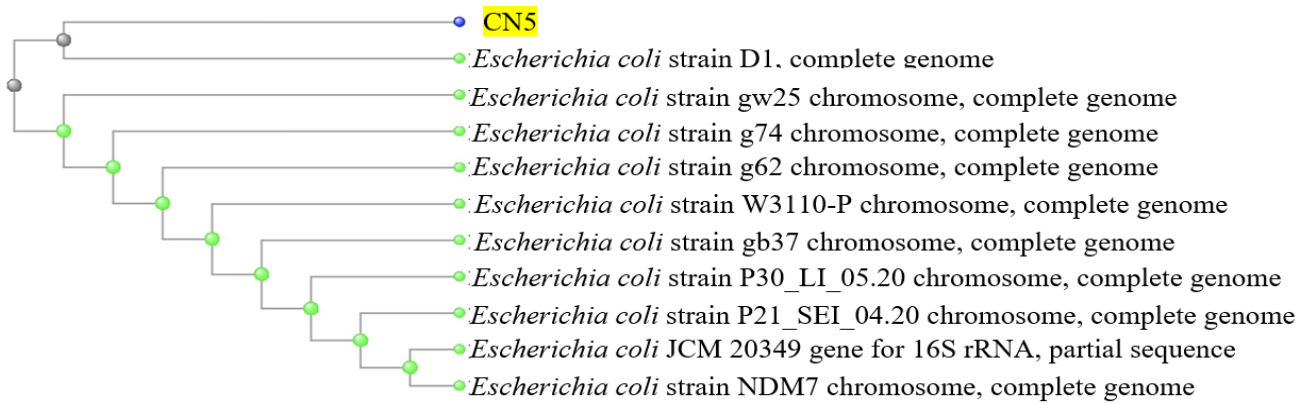
Tabel 1. Hasil BLAST Isolat CN5.

Deskripsi	Similaritas	Nomor akses
√ <i>Escherichia coli</i> strain D1, complete genom	100,00%	CP010134.1
√ <i>Escherichia coli</i> strain NDM7 chromosome, complete genome	99,93%	CP085372.1
√ <i>Escherichia coli</i> JCM 20349 gene for 16S rRNA, partial sequence	99,93%	LC654890.1
√ <i>Escherichia coli</i> strain P21_SEI_04.20 chromosome, complete genome	99,93%	CP085074.1
√ <i>Escherichia coli</i> strain P30_L1_05.20 chromosome, complete genome	99,93%	CP085060.1
√ <i>Escherichia coli</i> strain gb37 chromosome, complete genome	99,93%	CP084897.1
√ <i>Escherichia coli</i> strain W3110-P chromosome, complete genome	99,93%	CP084899.1
√ <i>Escherichia coli</i> strain g62 chromosome, complete genome	99,93%	CP084896.1
√ <i>Escherichia coli</i> strain g74 chromosome, complete genome	99,93%	CP084895.1
√ <i>Escherichia coli</i> strain gw25 chromosome, complete genome	99,93%	CP084898.1

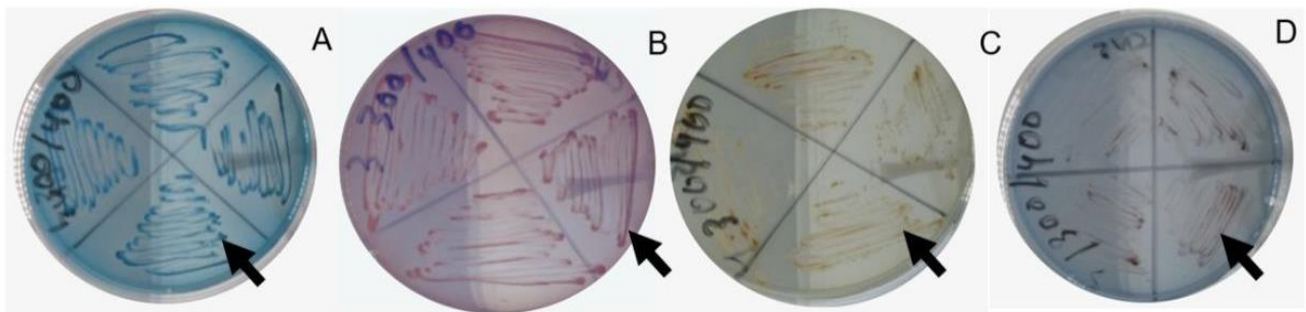
Tabel 2. Uji Pertumbuhan *Escherichia coli* strain CN5 pada berbagai pewarna konsentrasi 200 ppm dan 500 ppm.

Konsentrasi pewarna (ppm)	Pertumbuhan isolat CN5 pada berbagai pewarna											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
200	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
500	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+

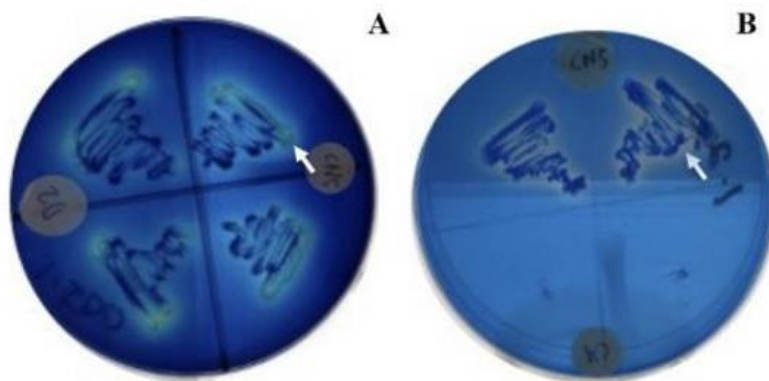
Ket.: Pewarna: 1. *Methylene blue*, 2. *Malachite green*, 3. *Congo red*, 4. *Mordant orange*, 5. *Reactive black*, 6. *Direct Yellow*, 7. *Basic fuchsin*, 8. *Reactive Orange*, 9. *Disperse Orange*, 10. Remasol merah, 11. Wantex kuning, dan 12. Wantex merah. (+) adanya pertumbuhan isolat CN5, (-) tidak adanya pertumbuhan isolat CN5.



Gambar 1. Pohon filogeni isolat CN5.



Gambar 2. Pertumbuhan *Escherichia coli* strain CN5 dalam medium yang mengandung pewarna dan 3 mM  $\text{CuSO}_4$ . A. *methylene blue*, B. *congo red*, C. *mordant orange*, D. *reactive black*. Tanda panah menunjukkan pertumbuhan koloni.



Gambar 3. Dekolorisasi *Escherichia coli* strain CN5 pada medium yang mengandung *methylene blue*. A. 200 ppm, B. 500 ppm. Panah menunjukkan zona bening di sekeliling koloni bakteri.

Stackebrandt (1994) nilai *percentage identity* di atas 97,5% menunjukkan bahwa isolat CN5 memiliki kekerabatan yang identik dengan *E. coli*. Pohon

filogeni menunjukkan bahwa isolat CN5 memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan *E. coli* (Gambar 1).

### Uji Pertumbuhan *Escherichia coli* strain CN5 pada Berbagai Pewarna

Tabel 2 menunjukkan bahwa *E. coli* dapat tumbuh pada 200 ppm dan 500 ppm pewarna *Methylene blue*, *Malachite green*, *Congo red*, *Mordant orange*, *Reactive black*, *Direct Yellow*, *Reactive Orange*, *Disperse Orange*, Remasol merah, Wantex kuning, dan Wantex merah. Warna koloni bakteri berubah sesuai dengan warna setiap pewarna yang ada di dalam medium. Hal ini menunjukkan bahwa mekanisme resistensi bakteri terhadap 11 pewarna adalah dengan menyerap tembaga di dalam sel bakteri atau disebut dengan biosorpsi. Menurut Kuhad *et al.* (2004) dan Solís *et al.* (2012), mekanisme biosorpsi terkait dengan kandungan lipid dan *heteropolysaccharides* pada dinding sel dan menghasilkan muatan berbeda yang menimbulkan adanya daya tarik sel bakteri hidup maupun mati dengan pewarna.

Hasil uji resistensi *E. coli* strain CN5 ini sejalan dengan penelitian Fung (1973) yang menunjukkan

bahwa 30 jenis bakteri memiliki resistensi terhadap 42 jenis pewarna berbeda yang terdiri dari 19 *acidic dyes*, 20 *basic dyes*, dan 3 *neutral dyes*. Sijerčić (2019), melaporkan bahwa bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) serta bakteri gram negatif (*E. coli* ATCC 25922 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25922) dapat tumbuh pada 11 pewarna makanan yang berbeda.

*E. coli* strain CN5 tidak mampu tumbuh pada medium yang ditambahkan pewarna *basic fuchsin* pada dua konsentrasi berbeda yaitu 200 ppm dan 500 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa *basic fuchsin* bersifat toksik sehingga menghambat pertumbuhan bakteri. Ritter (1940) mengatakan bahwa *basic fuchsin* merupakan pewarna yang menghambat pertumbuhan bakteri atau bertindak sebagai bakteriostatik karena mengandung pararosnilin dan rosanilin. Penelitian yang dilakukan oleh Ritter (1940) menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi *basic fuchsin* akan

Tabel 3. Hasil uji pertumbuhan *Escherichia coli* strain CN5 dalam medium yang mengandung pewarna dan 3 mM CuSO<sub>4</sub>.

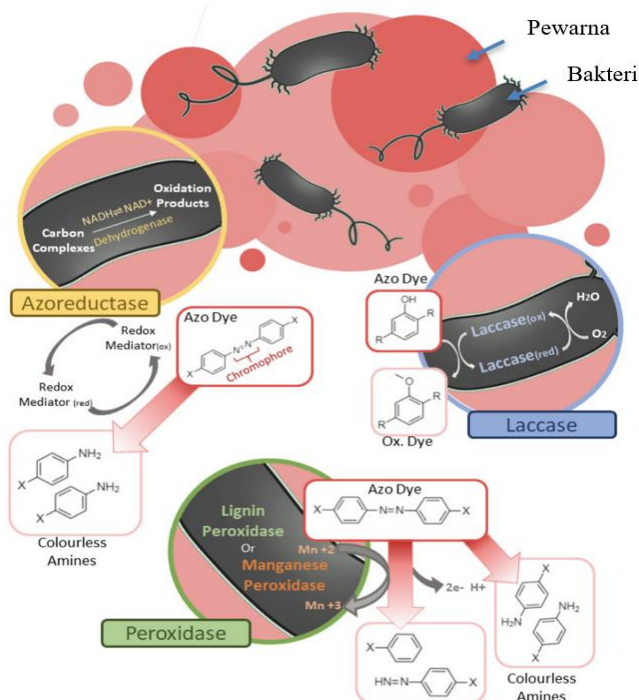
Konsentrasi pewarna (ppm)	Pertumbuhan bakteri pada berbagai pewarna											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
200	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
500	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-

Ket.: 1. *Methylene blue*, 2. *Malachite green*, 3. *Congo red*, 4. *Mordant orange*, 5. *Reactive black*, 6. *Direct Yellow*, 7. *Basic fuchsin*, 8. *Reactive Orange*, 9. *Disperse Orange*, 10. Remasol merah, 11. Wantex kuning, dan 12. Wantex merah.

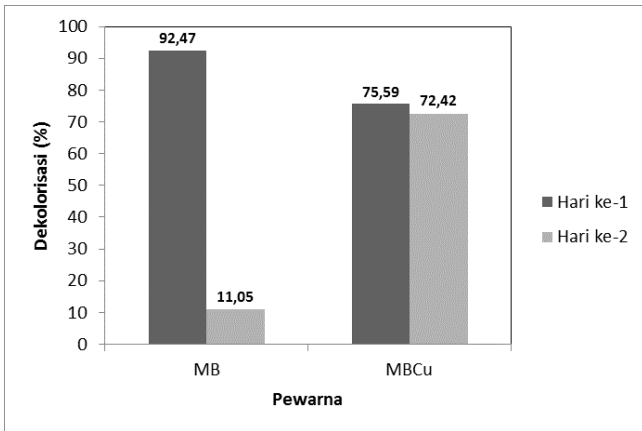
Tabel 4. Uji dekolorisasi isolat bakteri pada berbagai pewarna konsentrasi 200 ppm dan 500 ppm

Konsentrasi pewarna (ppm)	Hasil dekolorisasi isolat CN5 pada berbagai pewarna											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
200	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
500	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Ket.: Pewarna 1. *Methylene blue*, 2. *Malachite green*, 3. *Congo red*, 4. *Mordant orange*, 5. *Reactive black*, 6. *Direct Yellow*, 7. *Basic fuchsin*, 8. *Reactive Orange*, 9. *Disperse Orange*, 10. Remasol merah, 11. Wantex kuning, dan 12. Wantex merah. (+) terjadi dekolorisasi, (-) tidak terjadi dekolorisasi.



Gambar 4. Mekanisme Degradasi Enzimatis oleh Bakteri (Pinheiro *et al.*, 2022).



Gambar 5. Kemampuan *E. coli* CN5 dalam mendekolorisasi *methylene blue*. MB: *methylene blue*. MBCu: *methylene blue* dan 3 mM CuSO<sub>4</sub>.

semakin menghambat pertumbuhan dari *E. coli*. Rogosa (1934) mengatakan bahwa selain menghambat pertumbuhan *E. coli*, *basic fuchsin* juga menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif.

### Uji Pertumbuhan *Escherichia coli* strain CN5 pada Pewarna dan Tembaga

Uji Pertumbuhan *E. coli* strain CN5 pada pewarna yang ditambahkan 3 mM CuSO<sub>4</sub> menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri pada *Methylene blue*, *Congo red*, *Mordant orange*, *Reactive black* pada konsentrasi 200 ppm dan 500 ppm (Tabel 3; Gambar 2).

### Uji Dekolorisasi *Escherichia coli* strain CN5 pada Berbagai Pewarna

Hasil uji dekolourisasi *E. coli* strain CN5 terhadap 12 pewarna menunjukkan respon yang berbeda (Tabel 4). Berdasarkan zona bening yang terbentuk di sekeliling koloni *E. coli* strain CN5 hanya ditemukan pada medium yang mengandung 200 ppm dan 500 ppm *methylene blue* (Gambar 3).

Menurut Hala *et al.* (2012) bakteri memiliki mekanisme untuk bertahan hidup di lingkungan yang memiliki paparan zat pewarna dengan konsentrasi tertentu. Mekanisme ini melibatkan pembentukan protein dalam membran sel, sehingga zat pewarna tekstil tidak terakumulasi dan tidak mengganggu pertumbuhan bakteri. Beberapa bakteri yang dapat bertahan hidup pada lingkungan yang terpapar oleh zat pewarna, memiliki kemampuan untuk mendegradasi zat pewarna dengan melakukan mekanisme enzimatik, melakukan mekanisme biosorpsi, dan mengubah struktur kimia polutan menjadi lebih sederhana sehingga tingkat toksisitasnya rendah (Rini, 2013; Pinheiro *et al.*, 2022). Menurut Balraj (2016), kemampuan *E. coli* dalam mendekolorisasi *methylene blue* dipengaruhi kondisi waktu kontak, suhu, pH, volume inokulum, sumber karbon, dan sumber nitrogen yang tepat.

Sebagian besar bakteri menggunakan mekanisme enzimatik untuk mendekolorisasi pewarna. Mekanisme enzimatik akan berjalan secara efisien bergantung kepada level agitasi, temperatur, pH, konsentrasi pewarna, struktur pewarna, level oksigen, serta sumber karbon dan nitrogen. Gambar 4 menunjukkan bahwa langkah awal pada mekanisme dekolourisasi adalah reduksi ikatan azo (-N=N-) pada grup *chromophore*. Langkah tersebut dapat terjadi secara intraseluler



maupun ekstraseluler yang melibatkan transfer empat elektron dalam dua langkah. Pada masing-masing langkah, dua elektron berbeda ditransfer dari pewarna kepada akseptor elektron akhir yang menyebabkan dekolorisasi. Kelompok enzim yang sudah diketahui mampu melakukan mekanisme degradasi enzimatik tersebut terbagi menjadi azoreduktase dan lakase (Saratale *et al.*, 2011).

*E. coli* strain CN5 adalah bakteri indigen yang diisolasi dari limbah pewarna dan tembaga sehingga uji kemampuan dekolorisasi juga dilakukan pada medium dengan penambahan  $\text{CuSO}_4$  untuk menguji pengaruh tembaga dalam kemampuan dekolorisasi bakteri. Gambar 5 menunjukkan bahwa *E. coli* strain CN5 dapat mendekolorisasi *methylene blue* sebesar 92,47% selama 24 jam. Penambahan  $\text{CuSO}_4$  ke dalam medium *methylene blue* menurunkan kemampuan dekolorisasi bakteri menjadi 75,59% menunjukkan bahwa  $\text{CuSO}_4$  menghambat pertumbuhan bakteri dan juga mengurangi kemampuannya mendekolorisasi pewarna (Immamuddin, 2001). Balraj (2016) melaporkan bahwa *E. coli* mampu mendekolorisasi *methylene blue* dengan konsentrasi pewarna yang digunakan adalah pada rentang 10-50 ppm selama 300 menit dengan kemampuan dekolorisasi tertinggi sebesar 89,52% sehingga dapat disimpulkan bahwa *E. coli* CN5 memiliki kemampuan dekolorisasi yang lebih tinggi dibanding bakteri tersebut.

## KESIMPULAN

Hasil karakterisasi berdasarkan gen 16S-rRNA membuktikan bahwa isolat CN5 memiliki kesamaan basa 100% dengan *E. coli* sehingga selanjutnya isolat CN5 disebut dengan *E. coli* strain CN5. Isolat ini dapat tumbuh pada 200 ppm dan 500 ppm *Methylene blue*, *Malachite green*, *Congo red*, *Mordant orange*, *Reactive black*, *Direct Yellow*, *Reactive Orange*, *Disperse Orange*, Remasol merah, Wantex kuning, dan Wantex merah namun tidak tumbuh pada pewarna *basic fuchsin*. *E. coli* strain CN5 hanya mampu mendekolorisasi 200 ppm dan 500 ppm *methylene blue* yang nampak dari zona bening di sekeliling koloni dengan

kemampuan dekolorisasi sebesar 92,47%. Penambahan tembaga menurunkan kemampuan dekolorisasi menjadi sebesar 75,59%.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Bellen Mouretta dan Steven Anggawinata, Mahasiswa Program Studi Bioteknologi, Universitas Pelita Harapan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, T.E., E. Nurisman, Prasetyowati, N. Haryani, L. Cundari, A. Novisa, and O. Khristina. 2011. K-3 pengolahan air limbah pewarna sintesis dengan menggunakan reagen fenton. *Prosiding Seminar Nasional AVoER Ke-3*. pp: 26-27.
- Ahmed, A.M., E. Lyautey C. Bonnineau A. Dabrin and S. Pesce. 2018. Environmental concentrations of copper, alone or in mixture with arsenic, can impact river sediment microbial community structure and functions. *Front Microbiol.* 9: 1-13.
- Badan Pusat Statistik. 2018. *Pengelolaan sampah di Indonesia*. Statistik Lingkungan Hidup Indonesia 2018. 04320-1803.
- Balraj, B., Z. Hussain, and P. King. 2016. Experimental study on non sporulating *Escherichia coli* bacteria in removing methylene blue. *International Journal of Pharma and Bio Sciences.* 7(1): 629-637.
- Enrico. 2019. Dampak limbah cair industri tekstil terhadap lingkungan dan aplikasi teknik eco printing sebagai usaha mengurangi limbah. *Moda.* 1(1): 5-13.
- Fidiastuti, H., dan E. Suarsini. 2017. Potensi bakteri indigen dalam mendegradasi limbah cair pabrik kulit secara *in vitro*. *Bioeksperimen.* 3(1): 1-10.
- Fu, Y., and T. Viraraghavan. 2001. Fungal decolorization of dye wastewater: A review. *Bioresource Technology.* 79: 251-262.
- Fung, D., and R. Miller. 1973. Effects of dyes on bacterial growth. *Journal of Applied Microbiology.* 25(5): 793-799.
- Gao, Y., B. Yang, and O. Wang. 2018. Biodegradation and decolorization of dye wastewater: A review. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.* 178: 1-5.
- Hala, Y., E. Suryati, dan P. Taba. 2012. Biosorpsi campuran logam  $\text{Pb}^{2+}$  dan  $\text{Zn}^{2+}$  oleh *Chaetoceros calcitrans*. *Chemistry Progress.* 5(2): 86-92.
- Immamuddin, H. 2001. Resistensi beberapa isolat bakteri terhadap logam berat (Hg, As, Cd, Ni, Pt, dan Se). *Jurnal Biologi Indonesia.* 3(2): 161-167.
- Irawati, W., R. Pinontoan, B. Mouretta, and T. Yuwono. 2022. The potential of copper-resistant bacteria *Acinetobacter*



- sp. strain CN5 in decolorizing dyes. *Biodiversitas*. 23(2): 679-685.
- Juliantra, I.K.P., N.L. Watiniasih, dan I.W. Kasa. 2015. Toksisitas detergen dan pewarna kain sintetis terhadap anggang-anggang (*Gerris marginatus*). *Jurnal Biologi*. 19(1): 15-20.
- Komarawidjaja, W. 2017. Paparan limbah cair industri mengandung logam berat pada lahan sawah di Desa Jelegong, Kecamatan Rancaekek, Kabupaten Bandung. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. 18(2): 173.
- Kuhad, R., N. Sood, K. Tripathi, A. Singh, and O. Ward. 2004. Developments in microbial methods for the treatment of dye effluents. In *Advances in Applied Microbiology*. 56: 185-213.
- Lade, H., A. Kadam, D. Paul, and S. Govindwar. 2015. Biodegradation and detoxification of textile azo dyes by bacterial consortium under sequential micro-aerophilic/aerobic processes. *EXCLI Journal*. 14: 158-174.
- O'Mahony, T., E. Guibal and J.M. Tobin. 2002. Reactive dye biosorption by *Rhizopus arrhizus* biomass. *Enzyme and Microbial Technology*. 31(4): 456-463.
- Pinheiro, L., D. Gradissimo, L. Xavier, and A. Santos. 2022. Degradation of azo dyes: Bacterial potential for bioremediation. *Sustainability*. 14(1510): 1-23.
- Putra, W. 2018. Sungai citarum masih tercemar limbah tekstil dan kertas. Diakses dari DetikCom: <https://news.detik.com/berita-jawa-barat/d-3850610/sungai-citarum-masih-tercemar-limbah-tekstil-dan-kertas> (1 Mei 2022).
- Rini, Y. 2013. Biodegradasi pewarna azo orange G dengan teknik immobilisasi isolat bakteri. [Repository] Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Ritter, C. 1940. Studies of the toxicity of basic fuchsin for certain bacteria. *American Journal of Public Health (AJPH)*. 30(1): 59-65.
- Rogosa, M. 1934. *The bacteriostatic action of gentian violet, crystal violet, basic fuchsin, and acid fuchsin on certain gram positive bacteria* [Master Theses]. University of Massachusetts Amherst.
- Ryan R., S. Monchy, M. Cardinale, S. Taghavi, L. Crossman, M. Avison, G. Berg, van der Lelie, and J. Dow. 2009. The versatility and adaptation of bacteria from the genus *Stenotrophomonas*. *Nature Review Microbiology*. 7: 514-525.
- Sani, Z.M., I.L. Abdullahi, and A. Sani. 2018. Toxicity evaluation of selected dyes commonly used for clothing materials in urban Kano, Nigeria. *European Journal of Experimental Biology*. 08(04): 26. doi:10.21767/2248-9215.100067.
- Saratale, R., G. Saratale, J. Chang, and S. Govindwar. 2011. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: A review. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 42: 138-157.
- Shani, R. 2019. Sungai di Jepara tercemar limbah pewarna tekstil. Diakses dari Medcom.id: <https://www.medcom.id/nasional/daerah/0kpVyQ5N-sungai-di-jepara-tercemar-limbah-pewarna-tekstil> (1 Mei 2022).
- Sijerčić, A., Z. Jassin, and M. Avidić. 2019. Effect of food coloring dyes on bacterial growth. *International Journal of Innovative Science and Research Technology*. 4(12): 676-679.
- Solís, M., A. Solís, H. Pérez, N. Manjarrez, and M. Flores. 2012. Microbial decolouration of azo dyes: A review. *Process Biochemistry*. 47: 1723-1748.
- Stackebrandt, E., and B.M. Goebel. 1994. Taxonomic note: A place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA Sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 44: 846-849.
- Stolz, A. 2001. Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 56(1-2): 69-80.
- Velan, P.R., S. Rajakumar, and P.M. Ayyasamy. 2012. Exploration of promising dye decolorizing bacterial strains obtained from erode and tirupur textile wastes. *International Journal of Environmental Sciences*. 2(4): 2470-2481.
- Wuana, R.A., and F.E. Okieimen. 2011. Heavy metals in contaminated soils: A review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *Intl Scholarly Research Notices Ecology*. 2011: 402647. doi:10.5402/2011/402647.
- Yasid, M. 2014. Peranan isolat bakteri indigenous sebagai agen bioremediasi perairan yang terkontaminasi uranium. *Ganendra Majalah IPTEK Nuklir*. 17(1): 35-44.
- Zille, A. 2005. *Laccase reactions for textile applications*. [Disertasi]. Textile Departement Universidade do Minho. Itália.