



Dekolorisasi *Reactive Red* oleh Konsorsium *Bacillus velezensis* IBLTT_1 dan *Bacillus cereus* IBLTT_5

Decolorization of *Reactive Red* by Consortium of *Bacillus velezensis* IBLTT_1 and *Bacillus cereus* IBLTT_5

Erinna Azalia Fitri¹, Vincentia Irene Meitiniarti^{1*}, Rully Adi Nugroho¹

¹Fakultas Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana

Jln. Diponegoro 52-60 Salatiga, Jawa Tengah, Indonesia

Email: irene.meitiniarti@uksw.edu

*Penulis Korespondensi

Abstract

The development of the textile industry in Indonesia has contributed to environmental pollution, particularly through the discharge of dye-containing wastewater. It is estimated that approximately 10-15% of textile dye used during the dyeing process are released into rinse water and subsequently discharged into aquatic environments. Wastewater containing textile dyes must therefore be properly treated due to its potential to contaminate the environment. Reactive Red is one of the most widely used azo dyes in the textile industry. One effective approach to enhancing azo dyes degradation is the cleavage of azo bonds using bacterial mixed culture. This study aimed to evaluate the decolorization potential of single and mixed cultures of *Bacillus velezensis* IBLTT_1 and *Bacillus cereus* IBLTT_5 toward Reactive Red. The bacterial isolates were inoculated either individually or in combination into a medium containing Reactive Red at four inoculum concentration, namely 0%, 2%, 4%, and 8% (v/v) of the working volume. The highest decolorization (76.80%) was observed in the mixed cultures treatment with an 8% inoculum concentration and a 1:1 ratio of both bacterial species. The enhanced decolorization observed in the mixed cultures is likely attributable to synergistic interactions between the two bacterial species when inoculated simultaneously.

Keywords: Azo dye, Decolorization efficiency, Inoculum, Mixed culture, Wastewater treatment

Abstrak

Perkembangan industri tekstil di Indonesia telah berkontribusi pada polusi lingkungan, yaitu melalui pembuangan air limbah yang mengandung pewarna. Diperkirakan sekitar 10-15% pewarna tekstil yang digunakan dalam proses pewarnaan dilepaskan ke dalam air bilasan dan selanjutnya dibuang ke lingkungan perairan. Air limbah yang mengandung pewarna tekstil harus diolah karena dapat mencemari lingkungan. Reactive Red merupakan salah satu pewarna azo yang banyak digunakan dalam industri tekstil. Salah satu pendekatan untuk mengoptimalkan proses degradasi pewarna azo adalah dengan memutus ikatan azo menggunakan kultur campuran bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan potensi kultur tunggal dan campuran isolat *Bacillus velezensis* IBLTT_1 dan *Bacillus cereus* IBLTT_5 dalam mendekolorisasi Reactive Red. Kedua isolat bakteri tersebut diinokulasi secara tunggal dan campur ke dalam media yang mengandung Reactive Red dengan empat perlakuan konsentrasi inokula yaitu 0%, 2%, 4%, dan 8% dari volume kerja. Dekolorisasi tertinggi (76,80%) ditemukan pada kultur campuran dengan konsentrasi 8%, dimana kedua spesies bakteri ditambahkan dalam perbandingan 1:1. Dekolorisasi yang signifikan pada kultur campuran kemungkinan disebabkan oleh aksi sinergis antara dua spesies bakteri yang diinokulasikan secara bersamaan.

Kata Kunci: Pewarna azo, Efisiensi dekolourisasi, Inokulum, Kultur campur, Pengolahan air limbah

Disubmit: 17 Maret 2025; Direvisi: 29 Januari 2026; Diterima: 20 Februari 2026

Copyright© 2025. Erinna Azalia Fitri, Vincentia Irene Meitiniarti, Rully Adi Nugroho



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

How to Cite : Fitri, E. A., Meitiniarti, V. I., & Nugroho, R. A. (2026). Dekolorisasi Reactive Red oleh Konsorsium *Bacillus velezensis* IBLTT_1 dan *Bacillus cereus* IBLTT_5. Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati, 11(1), 48-58.

Pendahuluan

Industri tekstil memberikan kontribusi yang besar bagi perekonomian di Indonesia. Berkembangnya industri ini juga berdampak pada peningkatan penggunaan pewarna tekstil. Pewarna azo merupakan kelompok pewarna yang paling banyak digunakan dalam industri tekstil karena harga yang terjangkau, bersifat stabil dan mudah disintesis (Sarkar *et al.*, 2017). Sayangnya, pewarna ini menghasilkan limbah dari sisa pewarna sekitar 10-15% yang tidak dapat terikat oleh serat kain saat proses pembilasan (Karpova *et al.*, 2021). Limbah ini dapat menurunkan kualitas air karena menyebabkan keracunan seperti perubahan warna, luka pada kulit dan kematian massal biota air (Hannan *et al.*, 2024). Berdasarkan penelitian Nasrin *et al.* (2022) ikan nila yang terpapar larutan pewarna *Basic Red-18* dengan konsentrasi pewarna sebanyak 200 ppm menunjukkan adanya kerusakan histologi pada organ insang berupa pengangkatan epitel, hiperplasia, fusi dan pengeritingan. Paparan pewarna merah secara luas juga berpotensi menimbulkan dampak serius terhadap kesehatan manusia, baik melalui kontak langsung, inhalasi, maupun konsumsi air dan pangan yang terkontaminasi. Beberapa pewarna sintetis, khususnya golongan azo dan kationik, diketahui bersifat mutagenik, karsinogenik, serta dapat menyebabkan gangguan sistem pernapasan, iritasi kulit, alergi, dan kerusakan organ internal seperti hati dan ginjal akibat bioakumulasi dan metabolit aromatik amina yang bersifat toksik (Manzoor & Sharma, 2020).

Pengolahan air limbah yang mengandung pewarna tekstil dapat dioptimalkan menggunakan metode biodegradasi. Proses biodegradasi pewarna ini diawali dengan terjadinya pemudaran warna (dekolorisasi) (Mustaha *et al.*, 2024). Dekolorisasi merupakan langkah awal yang sangat penting untuk memecah struktur kimia kompleks pewarna menjadi senyawa yang lebih sederhana. Selain itu, berbagai studi telah menunjukkan bahwa dekolorisasi tidak hanya menghilangkan warna tetapi juga menurunkan tingkat toksisitas limbah pewarna, sehingga produk hasil degradasinya lebih ramah lingkungan dan kurang berbahaya bagi organisme hidup (mis. tanaman dan mikrofauna) setelah perlakuan biodegradasi (Garzón-Zúñiga *et al.*,

2011). Menurut Alzain *et al.* (2023), dekolorisasi (pemudaran warna) terjadi akibat terputusnya ikatan azo ($-N=N-$) yang berperan memberi warna. Terputusnya ikatan azo ini merupakan langkah awal proses degradasi pewarna. Proses pemutusan ikatan azo ($-N=N-$) dalam kondisi anaerob dilakukan oleh enzim azoreduktase dengan menggunakan NADH sebagai kofaktor (Sarkar *et al.*, 2017).

Penelitian lain juga menunjukkan bahwa bakteri dapat digunakan sebagai agen dekolorisasi dalam pengolahan limbah yang mengandung pewarna tekstil (Kara *et al.*, 2019). Permatasari *et al.* (2018) berhasil mendapatkan lima isolat bakteri dari limbah tekstil yang mampu mendekolorisasi pewarna *Reactive Red 2*. Dua isolat di antaranya, yaitu isolat IBLTT_1 dan IBLTT_5, berturut-turut memiliki tingkat efisiensi dekolorisasi sebesar 45,81% dan 19,61%. Hasil penelitian Meitiniarti & Nugroho (2022) menyatakan bahwa isolat IBLTT_1 dan IBLTT_5 berturut-turut identik dengan *Bacillus velezensis* dan *B. cereus*.

Menurut Tomilayo *et al.* (2019), penggunaan kultur campur dalam mendegradasi bahan organik menunjukkan efisiensi dalam biodegradasi dan mineralisasi yang lebih tinggi karena ada aktivitas ko-metabolisme yang saling melengkapi dalam komunitas mikroba. Menurut Meitiniarti *et al.* (2012), proses dekolorisasi pewarna azo oleh kultur tunggal dapat menghasilkan produk antara yang bersifat toksik sehingga dapat menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat dan proses dekolorisasi menurun. Pada kultur campur dapat terjadi mekanisme sinergi yang memungkinkan produk toksik yang dihasilkan dapat didegradasi oleh mikroorganisme lain dalam kultur campur sehingga proses dekolorisasi tetap berjalan secara efektif (Singh *et al.*, 2021). Hal ini menjadi keunggulan dari penggunaan kultur campur dibandingkan dengan kultur tunggal.

Sejauh ini belum ada informasi kemampuan kultur campur *B. velezensis* IBLTT_1 dan *B. cereus* IBLTT_5 dalam mendekolorisasi pewarna azo, khususnya *Reactive Red*. Pemilihan pewarna *Reactive Red* dalam penelitian ini dikarenakan penggunaannya yang luas dalam industri tekstil sehingga berkontribusi secara signifikan terhadap polusi air (Unnikrishnan *et al.*, 2018). Karakter kimia dari

pewarna ini juga mewakili golongan *azo dye* sehingga memungkinkan eksplorasi berbagai mekanisme dekolourisasi oleh mikroba. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan hasil yang lebih bervariasi dalam hal tingkat dekolourisasi dan efisiensi mikroba yang digunakan. Relevansi penelitian ini terletak pada potensi aplikasinya untuk menangani limbah industri tekstil yang mengandung senyawa serupa. Selain itu, belum diketahui juga konsentrasi inokulum yang paling baik dalam degradasi *Reactive Red*. Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah menentukan kemampuan dekolourisasi *B. velezensis* IBLTT_1 dan *B. cereus* IBLTT_5 dan volume inokulum yang paling efisien dalam mendekolourisasi *Reactive Red*.

Metode Penelitian

Isolat bakteri dan pemeliharaan kultur

Isolat *B. velezensis* IBLTT_1 dan *B. cereus* IBLTT_5 diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi Universitas Kristen Satya Wacana. Kultur dipelihara dengan cara diinokulasikan pada medium *Nutrient Agar* (NA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Setiap dua minggu sekali, kultur diremajakan dengan memindahkan ke medium NA miring yang baru.

Medium perbanyakan dan pengujian kemampuan dekolourisasi

Medium perbanyakan dan medium pengujian kemampuan dekolourisasi menggunakan medium *Nutrient broth* (NB) yang dimodifikasi (Nurani, 2019). Komposisi medium perbanyakan adalah (g/L): glukosa 18, ammonium klorida 2, *Nutrient Broth* (NB) 5, dan unsur kelumit 0,2 mL. Komposisi unsur kelumit (mg/100 mL): $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 23,4, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 110, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 350, dan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 630.

Komposisi medium pengujian kemampuan dekolourisasi sama dengan medium perbanyakan hanya diberi tambahan pewarna *Reactive Red* sebanyak 50 mg/L. Medium disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

Kultur diperbanyak dengan cara menginokulasikan kultur dari media NA miring usia 48 jam ke dalam media perbanyakan 200 mL. Kultur diinkubasi pada penggojok dengan kecepatan 120 rpm selama 48 jam atau hingga kekeruhan kultur pada λ 600 nm = 1 dan siap digunakan sebagai inokulum.

Uji kemampuan dekolourisasi

Uji kemampuan dekolourisasi *Reactive Red* oleh kedua kultur dilakukan secara eksperimental dengan rancangan acak lengkap 2 faktor. Faktor pertama (A) adalah jenis inokulum dengan tiga level perlakuan, yaitu inokulum kultur murni *B. velezensis*, *B. cereus* dan kultur campur *B. velezensis* dan *B. cereus* dengan rasio 1:1 (v/v). Faktor kedua (B) adalah konsentrasi inokulum dengan empat level, yaitu konsentrasi 0, 2, 4, dan 8% (v/v). Percobaan dilakukan dalam erlenmeyer yang berisi 100 mL medium uji dekolourisasi dan diulang tiga kali. Secara lebih rinci rancangan perlakuan pada penelitian ini ditunjukkan pada Tabel 1.

Selama penelitian, seluruh kultur diinkubasi pada suhu kamar dalam kondisi statis selama 48 jam. Setiap 6 jam dilakukan pengambilan sampel sebanyak 2 mL. Sampel dipisahkan antara supernatan dan pelet sel dengan disentrifus pada kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Supernatan digunakan untuk penentuan konsentrasi *Reactive Red*, sedangkan pelet sel diresuspensi hingga volum 2 mL menggunakan larutan garam fisiologi untuk penentuan OD kultur.

Tabel 1. Perlakuan dalam uji kemampuan dekolourisasi *Reactive Red*

Konsentrasi inokulum (%) (B)	Jenis inokulum (A)		
	<i>B. velezensis</i>	<i>B. cereus</i>	Kultur campur (perbandingan 1:1)
(0%)	A1B1	A2B1	A3B1
(2%)	A1B2	A2B2	A3B2
(4%)	A1B3	A2B3	A3B3
(8%)	A1B4	A2B4	A3B4

Penentuan biomassa bakteri dalam medium yang mengandung *Reactive Red* (Kara et al., 2019)

Penentuan biomassa dilakukan secara tidak langsung dengan mengukur kadar kekeruhan suspensi sel setiap kali pengambilan sampel. Kekeruhan kultur diukur sebagai *Optical Density* (OD) menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. OD kultur sel yang diperoleh setiap pengambilan sampel dikonversi ke berat kering sel menggunakan rumus:

$$\text{BK sel (mg L}^{-1}\text{)} = (\text{OD}_{\text{tn}} / \text{OD}_{\text{t48}}) \times \text{BK}_{\text{t48}}$$

OD_{tn} = OD saat pengambilan sampel

OD_{t48} = OD pada jam ke 48

BK_{t48} = berat kering sel saat t48 jam

Berat kering sel saat t48 jam diperoleh dengan cara seluruh sisa kultur diukur volumenya, disentrifus dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang dan pelet yang tersisa dicuci menggunakan garam fisiologis sebanyak 3 kali. Pelet kemudian disaring menggunakan membran filter Ø 0,8 µm yang telah diketahui berat keringnya. Membran filter lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C selama 24 jam. Membran filter kemudian dimasukkan ke dalam desikator hingga suhu ruang dan ditimbang berat keringnya. Berat kering sel (biomassa sel) dihitung dengan rumus :

$$\text{BK t48 (mg L}^{-1}\text{)} = (\text{A} - \text{B}) / \text{C}$$

A = berat kering (mg) membran beserta sel,

B = berat kering (mg) membran,

C = volume kultur (L) yang digunakan.

Penentuan konsentrasi *Reactive Red* dan evaluasi efektivitas dekolorisasi (persentase dekolorisasi, laju dekolorisasi dan efisiensi dekolorisasi *Reactive Red*) (Rani et al, 2011; Al-Garni et al. 2013)

Penentuan konsentrasi *Reactive Red* dilakukan dengan mengukur absorbansi sampel supernatan kultur pada λ 520 nm menggunakan spektrofotometer UV-Visible (Shimadzu UV mini1240). Konsentrasi *Reactive Red* diperoleh dengan mengkonversi nilai absorbansi

menggunakan persamaan regresi linier yang dihasilkan dari kurva standar pewarna *Reactive Red*. Konsentrasi pewarna *Reactive Red* dihitung dengan cara memasukkan nilai absorbansi yang diperoleh dari pengukuran spektrofotometer UV-Vis ke dalam persamaan regresi linier yang dihasilkan dari kurva standar (Rohyami et al., 2018).

Evaluasi efektivitas proses dekolorisasi oleh kultur mikroba, ditentukan dengan melakukan perhitungan terhadap tiga nilai, yaitu nilai persentase dekolorisasi, laju dekolorisasi, dan efisiensi dekolorisasi, sebagai berikut:

(i) Persentase dekolorisasi digunakan untuk mengukur sejauh mana pewarna mengalami penurunan konsentrasi setelah proses dekolorisasi berlangsung (Rani et al., 2011):

$$\text{Persentase dekolorisasi (\%)} = \frac{\text{absorbansi awal} - \text{absorbansi pewarna akhir}}{\text{absorbansi awal}} \times 100$$

(ii) Laju dekolorisasi menunjukkan kecepatan dekolorisasi yang terjadi dalam satuan waktu tertentu, yang berguna untuk memahami dinamika dekolorisasi pewarna oleh mikroba (Al-Garni et al., 2013):

$$\text{Laju dekolorisasi } \left(\frac{\text{mg/L}}{\text{jam}} \right) = \frac{\text{konsentrasi perwarna awal } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) - \text{konsentrasi perwarna akhir } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right)}{\text{periode fermentasi (jam)}}$$

(iii) Efisiensi dekolorisasi digunakan untuk menilai kemampuan mikroba dalam menghilangkan pewarna berdasarkan kondisi perlakuan yang diberikan (Al-Garni et al., 2013):

$$\text{Efisiensi dekolorisasi (\%)} = \frac{\text{laju dekolorisasi } \left(\frac{\text{mg/L}}{\text{jam}} \right)}{\text{laju dekolorisasi tertinggi } \left(\frac{\text{mg/L}}{\text{jam}} \right)} \times 100$$

Analisis data

Data persentase penurunan pewarna, laju dekolorisasi, serta efisiensi dianalisis menggunakan aplikasi SPSS Statistics 26. Analisis dilakukan dengan menggunakan Two-Way ANOVA untuk pengaruh perlakuan jenis inokulum dan konsentrasi inokulum terhadap persentase dekolorisasi, laju dekolorisasi, dan efisiensi dekolorisasi. Sebelum dilakukan Two-Way ANOVA, data diuji untuk memastikan memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas variansi. Analisis dilanjutkan dengan uji post-hoc pada aplikasi PAST yaitu Multiple Comparison Test untuk mengidentifikasi sampel yang memiliki perbedaan nyata.

Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini telah berhasil mengkaji efektivitas dekolorisasi *Reactive Red* oleh tiga jenis dan konsentrasi inokulum mikroba. Setelah inkubasi 48 jam, semua perlakuan inokulasi kultur tunggal *B. velezensis* IBLTT_1 dan *B. cereus* IBLTT_5, maupun campuran dari keduanya dapat mendekolorisasi *Reactive Red*. Representasi dari biomassa dan penurunan konsentrasi *Reactive Red* setelah 48 jam inkubasi ditunjukkan pada Tabel 2.

Aktivitas dekolorisasi bervariasi tergantung pada jenis dan konsentrasi inokulum yang digunakan. Pewarna hanya dapat terdekolorisasi oleh sel bakteri hidup, sebagaimana temuan sebelumnya pada *Sumifix Blue* dan *Reactive Red 2* (Permatasari *et al.*, 2018). Pada konsentrasi inokulum 8%, kultur campur menunjukkan hasil tertinggi dengan peningkatan biomassa yang signifikan dan hampir seluruh pewarna terdegradasi setelah 48 jam inkubasi. Kultur tunggal *B. cereus* IBLTT_5 lebih efektif dibandingkan *B. velezensis* IBLTT_1, namun masih kurang efektif dibandingkan dengan kultur campur. Studi oleh Kamal *et al.* (2022) menunjukkan bahwa kultur campur dari *Pseudomonas* sp. dan *Pseudochrobactrum* sp. dapat mendekolorisasi *Direct Red 81* lebih dari 81% dalam waktu 8 jam. Hasil dekolorisasi oleh kultur campur ini lebih besar dibandingkan dengan penggunaan kultur tunggal. Hasil penelitian ini juga membuktikan bahwa produk dekolorisasi *Direct Red 81* oleh *Pseudomonas* sp. dan *Pseudochrobactrum* sp. mempunyai tingkat toksisitas yang lebih rendah terhadap *Artemia salina nauplii* dan biji *Lepidium sativum*. Kemampuan dekolorisasi yang lebih besar pada kultur campur tampak berhubungan dengan tingkat pertumbuhan bakteri. Dalam

kultur campuran, populasi sel tumbuh lebih cepat daripada dalam kultur tunggal (murni) karena mereka saling berbagi sumber daya dan nutrisi. Pertumbuhan yang cepat ini dapat menyebabkan degradasi polutan yang lebih cepat. Hasil ini menegaskan bahwa konsentrasi inokulum yang lebih tinggi menyebabkan peningkatan pertumbuhan mikroba dan efisiensi dekolorisasi, dengan kultur campur sebagai metode paling optimal. Selanjutnya, analisis akan mengevaluasi pengaruh jenis dan konsentrasi inokulum terhadap parameter dekolorisasi, laju dekolorisasi, dan efisiensinya. Analisis berikut mengevaluasi pengaruh jenis dan konsentrasi inokulum terhadap parameter dekolorisasi, laju, dan efisiensinya.

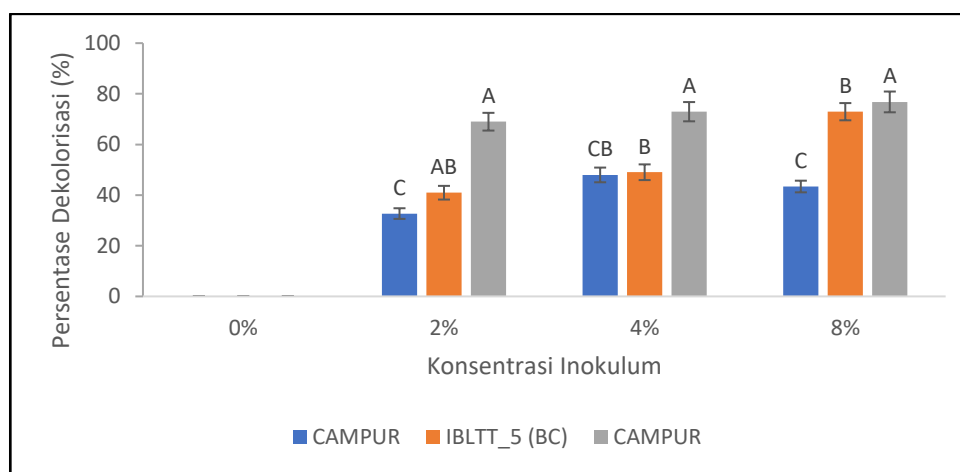
Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Inokulum terhadap Dekolorisasi

Berdasarkan hasil analisis menggunakan Two-Way ANOVA, ditemukan terdapat pengaruh signifikan dari jenis inokulum, serta interaksi antara jenis dan konsentrasi inokulum terhadap efisiensi dekolorisasi. Hasil ini juga menunjukkan bahwa perbedaan jenis inokulum serta konsentrasi inokulum memberikan pengaruh nyata terhadap efisiensi dekolorisasi pewarna. Efisiensi dekolorisasi dalam penelitian ini ditunjukkan dari persentase dekolorisasi.

Persentase dekolorisasi berdasarkan jenis inokulum (kultur tunggal *B. velezensis* IBLTT_1 atau *B. cereus* IBLTT_5, dan kultur campur dari keduanya) pada berbagai konsentrasi (2%, 4%, dan 8%) inokulum ditunjukkan pada Gambar 2 di bawah ini. Dari Gambar 2 terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi inokulum, semakin besar persentase dekolorisasi yang terjadi untuk setiap jenis inokulum.

Tabel 2. Nilai parameter kultur tunggal dan kultur campur dalam mendekolorisasi pewarna *Reactive Red* (50 mg/L) selama 48 jam inkubasi

Inokulum		Biomassa (g/L)	Konsentrasi Reactive Red (mg/L)		Persentase dekolorisasi (%)	Laju dekolorisasi (mg/L/jam)	Efisiensi dekolorisasi (%)
Konsentrasi (%)	Jenis		T ₀ jam	T ₄₈ jam			
0	-	0	0,380	0,380	0	0	0
2	IBLTT_1	0,225	0,394	0,260	32.71	0.63	42.59
	IBLTT_5	0,348	0,365	0,215	40.94	0.84	53.30
	Campur	0,281	0,371	0,115	68.98	1.43	89.81
4	IBLTT_1	0,535	0,386	0,202	47.97	0.95	62.46
	IBLTT_5	0,291	0,358	0,182	49.03	1.01	63.84
	Campur	0,645	0,368	0,100	72.94	1.51	94.97
8	IBLTT_1	0,281	0,389	0,220	43.40	0.90	71.80
	IBLTT_5	0,636	0,354	0,162	72.94	1.51	94.97
	Campur	0,711	0,371	0,085	76.80	1.59	100

**Gambar 1.** Persentase Dekolorisasi Pewarna Azo oleh Berbagai Jenis Inokulum pada Berbagai Konsentrasi. Huruf (A, B, C) yang berbeda pada batang grafik menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$).

Secara umum, pola dekolorisasi dalam Gambar 2 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi inokulum, semakin besar persentase dekolorisasi yang dihasilkan. Kultur campuran *consistently* mencapai tingkat dekolorisasi tertinggi dibandingkan kultur tunggal. Tingginya tingkat dekolorisasi oleh kultur campur mengindikasikan bahwa kombinasi mikroba lebih efektif dalam proses ini. Perbedaan signifikan antar perlakuan, seperti yang ditunjukkan oleh notasi huruf, menegaskan bahwa jenis mikroba dan konsentrasi inokulum berpengaruh nyata terhadap kemampuan dekolorisasi.

Hasil penelitian ini selaras dengan studi yang dilakukan oleh Shah & Bera (2021) mengenai dekolorisasi *Reactive Red* 3 menggunakan kultur campur dan kultur tunggal. Mereka melaporkan bahwa kultur campur *Bacillus sp.* dan *Pseudomonas sp.* dalam kondisi statis mampu mencapai tingkat dekolorisasi

hingga 94% pada konsentrasi pewarna 30 mg/L, sedangkan kultur tunggal menunjukkan efisiensi yang lebih rendah. Studi tersebut juga mengungkap bahwa bakteri dalam kultur campur dapat berinteraksi secara sinergis, saling mendukung pertumbuhan dan aktivitas metabolisme. Dalam kondisi kultur campur, salah satu spesies dapat menghasilkan metabolit yang dimanfaatkan oleh spesies lain atau mendegradasi senyawa metabolit beracun yang menghambat pertumbuhan mikroba lain (Meitiniarti *et al.*, 2012). Adanya sinergisme ini dapat meningkatkan efektivitas dekolorisasi secara keseluruhan. Sinergi ini menjelaskan mengapa kultur campur memiliki tingkat dekolorisasi yang lebih tinggi dibandingkan kultur tunggal.

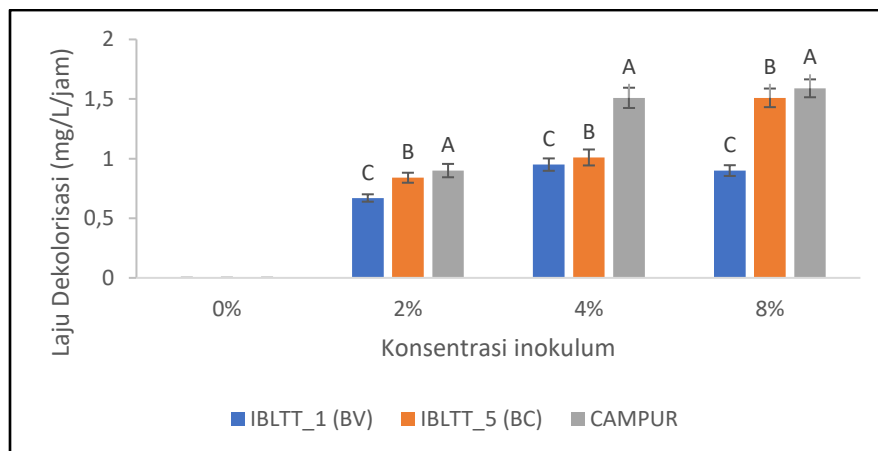
Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Inokulum terhadap Laju Dekolorisasi

Hubungan antara konsentrasi inokulum dengan laju dekolorisasi (mg/L/jam) untuk tiga jenis inokulum, yaitu *B. velezensis* IBLTT_1 dan *B. cereus* IBLTT_5 dan kultur campur ditunjukkan pada Gambar 2 di bawah ini. Dari gambar ini terlihat bahwa terdapat perbedaan laju dekolorisasi yang signifikan antara jenis inokulum serta adanya pengaruh dari peningkatan konsentrasi inokulum terhadap laju dekolorisasi. Melalui hasil analisis Two-Way ANOVA, menunjukkan bahwa jenis inokulum berpengaruh signifikan terhadap laju dekolorisasi, yang ditunjukkan oleh perbedaan yang nyata antara ketiga jenis inokulum. Konsentrasi inokulum juga berpengaruh signifikan terhadap laju dekolorisasi, dengan tren peningkatan laju dekolorisasi seiring bertambahnya konsentrasi inokulum pada setiap kelompok. Begitu juga terdapat interaksi antara jenis inokulum dan konsentrasi, yang berarti bahwa efek peningkatan konsentrasi inokulum terhadap laju dekolorisasi berbeda tergantung pada jenis inokulum yang digunakan.

Pada Gambar 2 dapat dilihat bahwa peningkatan konsentrasi inokulum dari 2% hingga 8% berkontribusi terhadap peningkatan laju dekolorisasi pada semua jenis inokulum yang diuji. Kultur campur *consistently* menunjukkan laju dekolorisasi tertinggi, diikuti oleh *B. cereus* IBLTT_5, sementara *B. velezensis* IBLTT_1 memiliki aktivitas paling rendah. Secara umum, laju dekolorisasi *Reactive Red* lebih tinggi pada

kultur campur dibandingkan inokulum tunggal, dan peningkatan konsentrasi inokulum berbanding lurus dengan peningkatan laju dekolorisasi. Hasil grafik serta notasi huruf menunjukkan bahwa kultur campur secara konsisten menghasilkan laju dekolorisasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan kultur tunggal pada setiap konsentrasi inokulum yang diuji. Aktivitas tertinggi pada kultur campur mengindikasikan adanya kerja sama sinergis antara dua spesies bakteri dalam proses dekolorisasi. Sementara itu, *B. cereus* IBLTT_5 menunjukkan aktivitas sedang, menandakan efektivitas yang cukup baik tetapi masih di bawah kultur campur. Sebaliknya, *B. velezensis* IBLTT_1 memiliki aktivitas paling rendah, menunjukkan kemampuan dekolorisasi yang lebih lemah dibandingkan dua perlakuan lainnya. Temuan ini semakin menegaskan bahwa kombinasi bakteri dalam kultur campur memberikan keuntungan yang lebih besar dalam meningkatkan efisiensi dekolorisasi dibandingkan dengan penggunaan kultur tunggal.

Hal serupa juga terjadi pada penelitian Meitiniarti *et al.* (2012) yang menggunakan kultur campur dari bakteri *E. faecalis* dan *C. indologenes*. Penelitian tersebut membuktikan bahwa dibandingkan kultur tunggal, kultur campur memiliki kemampuan lebih cepat dalam mendekolorisasi pewarna 80 mg/L *OrangeII* (10,98 mg/h) selama waktu inkubasi 10 jam. Penelitian tersebut menyebutkan hal ini mungkin merupakan hasil interaksi sinergis antara kedua spesies bakteri tersebut, sehingga aktivitas dekolorisasi terjadi lebih cepat dan efektif



Gambar 2. Laju Dekolorisasi Pewarna Azo oleh Berbagai Jenis Inokulum pada Berbagai Konsentrasi. Huruf (A, B, C) yang berbeda pada batang grafik menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$).

Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Inokulum terhadap Efisiensi Pewarna

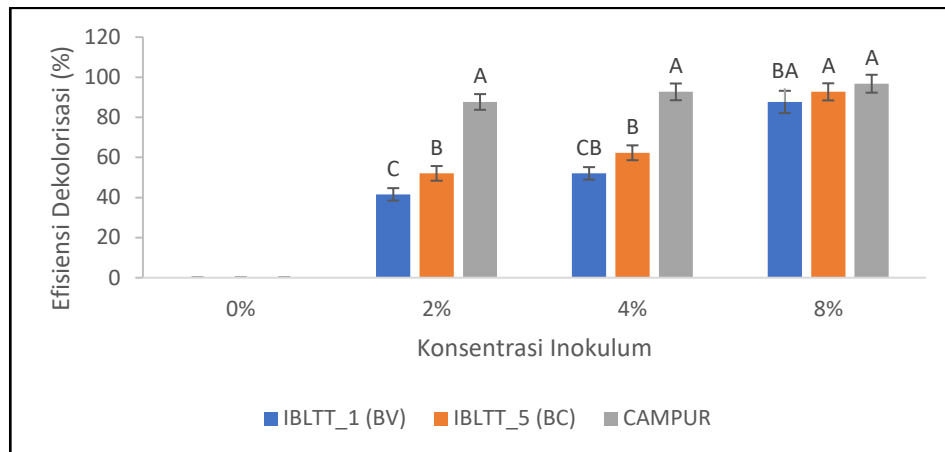
Hubungan antara konsentrasi inokulum dengan efisiensi dekolorisasi (%) pada tiga jenis inokulum yang diuji, yaitu *B. velezensis* IBLTT_1 dan *B. cereus* IBLTT_5 dan kultur campur ditunjukkan pada Gambar 3 di bawah ini. Dari gambar ini terlihat adanya perbedaan efisiensi dekolorisasi yang signifikan berdasarkan jenis inokulum serta efek peningkatan konsentrasi inokulum terhadap efisiensi dekolorisasi. Melalui hasil Two-Way ANOVA menunjukkan bahwa jenis inokulum berpengaruh signifikan terhadap efisiensi dekolorisasi, yang terlihat dari adanya perbedaan persentase dekolorisasi antar jenis inokulum. Konsentrasi inokulum juga berpengaruh signifikan terhadap efisiensi dekolorisasi, yang ditunjukkan oleh tren peningkatan efisiensi dekolorisasi seiring dengan meningkatnya konsentrasi inokulum. Terdapat pula interaksi antara jenis inokulum dan konsentrasi, yang berarti bahwa dampak peningkatan konsentrasi terhadap efisiensi dekolorisasi berbeda-beda tergantung pada jenis inokulum yang digunakan.

Secara keseluruhan, peningkatan efisiensi dekolorisasi berbanding lurus dengan kenaikan konsentrasi inokulum, di mana konsentrasi tertinggi (8%) menunjukkan hasil paling optimal (Gambar 3). Kultur campur cenderung lebih unggul dibandingkan isolat tunggal, terutama pada konsentrasi inokulum rendah hingga sedang. Hal ini menunjukkan bahwa interaksi antara mikroorganisme dalam kultur campur berperan dalam mempercepat proses dekolorisasi, terutama pada konsentrasi inokulum yang lebih rendah. Pola yang ditunjukkan dalam grafik efisiensi dekolorisasi sejalan dengan tren yang terlihat pada persentase dan laju dekolorisasi. Kultur campur secara konsisten menunjukkan efisiensi tertinggi dibandingkan dengan isolat tunggal, yang mengindikasikan bahwa kombinasi mikroba bekerja lebih efektif dalam proses dekolorisasi dibandingkan dengan mikroba individu. Penelitian dari Chaurasia et al. (2024) juga membuktikan bahwa dalam penggunaan kultur campur bakteri *Bacillus spp.* dan *Pseudomonas spp.* menghasilkan tingkat efisiensi yang lebih tinggi dibandingkan penggunaannya secara kultur

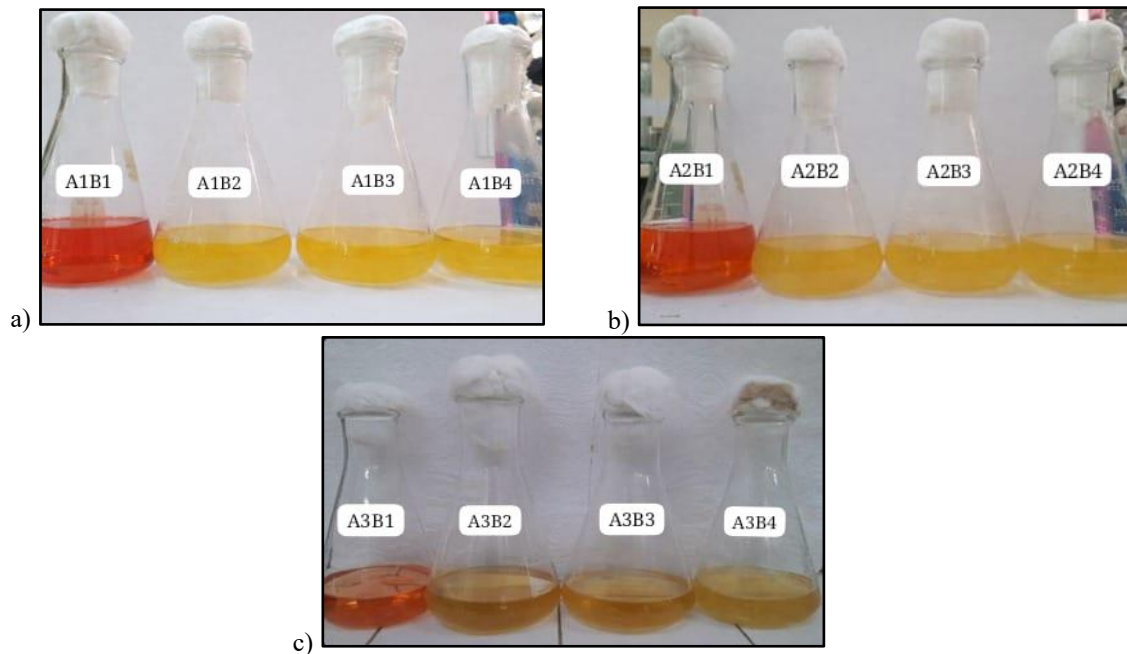
tunggal. Kelompok kultur campur dapat mencapai tingkat efisiensi 87% sedangkan pada kultur tunggal hanya mencapai 65%.

Adanya dekolorisasi atau penurunan konsentrasi pewarna *Reactive Red* dapat dilihat secara visual dengan adanya pelunturan warna. Mulanya medium yang diberi pewarna terlihat merah pekat dan setelah 48 jam terjadi proses dekolorisasi oleh bakteri akhirnya berubah menjadi kuning seperti warna medium ketika belum diberi pewarna (Gambar 4). Menurut Alzain et al. (2023), enzim azo reduktase lah yang diduga memecah pewarna azo menjadi senyawa antara yang lebih sederhana. Penelitian lain dari Patel et al. (2023) juga melaporkan bahwa proses dekolorisasi disebabkan oleh keterlibatan enzim azo reduktase yang memutus ikatan azo dalam pewarna dan menghasilkan senyawa antara yang tidak berwarna, seperti N, N-dimetil benzena 1,4 diamina dan asam 2-amino benzoat. Dalam penelitian ini tidak dilakukan analisis pembentukan senyawa antara dari dekolorisasi *Reactive Red* maupun penentuan aktivitas azoreduktase sehingga tidak dapat dipastikan terjadinya pemutusan ikatan azo oleh adanya aktivitas enzim azoreduktase.

Secara keseluruhan melalui ketiga parameter, aktivitas dekolorisasi oleh kultur campur dengan konsentrasi inokulum 2%, 4%, dan 8% memiliki perbedaan yang nyata dan efisiensinya makin tinggi setiap penambahan konsentrasi inokulum. Nilai ini menunjukkan adanya interaksi positif antar isolat *B. velezensis* IBLTT_1 dan *B. cereus* IBLTT_5. Interaksi positif dalam penelitian ini kemungkinan merujuk pada kerja sama antara *B. velezensis* IBLTT_1 dan *B. cereus* IBLTT_5 dalam kultur campur, yang menghasilkan peningkatan efisiensi dekolorisasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan kultur tunggal. Kultur campur menunjukkan kemampuan dekolorisasi yang lebih baik pada semua konsentrasi inokulum, terutama pada konsentrasi 8%. Penelitian ini menunjukkan bahwa inokulasi bakteri *B. velezensis* IBLTT_1 bersama-sama dengan *B. cereus* IBLTT_5 memberikan efisiensi dekolorisasi pewarna *Reactive Red* lebih baik dibandingkan kultur tunggal. Temuan ini memberikan informasi penting dalam pengembangan strategi pengolahan air limbah yang mengandung pewarna *Reactive Red*.



Gambar 3. Persentase Dekolorisasi Pewarna Azo oleh Berbagai Jenis Inokulum pada Berbagai Konsentrasi. Huruf (A, B, C) yang berbeda pada batang grafik menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$).



Gambar 4. Kenampakan visual hasil uji dekolorisasi Reactive red RB menggunakan kultur *B. velezensis* IBLTT_1 (a), *B. cereus* IBLTT_5 (b), dan kultur campuran kedua isolat bakteri (c) setelah 48 jam.

Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian, dekolorisasi *Reactive Red* paling efektif dilakukan menggunakan kultur campuran *B. velezensis* IBLTT_1 dan *B. cereus* IBLTT_5 dengan konsentrasi inokulum 8%. Hasil analisis persentase dekolorisasi, laju dekolorisasi, dan efisiensi dekolorisasi menunjukkan bahwa kombinasi kedua bakteri ini mampu bekerja lebih optimal dibandingkan dengan kultur tunggal.

Peningkatan konsentrasi inokulum secara konsisten meningkatkan efektivitas dekolorisasi, dengan konsentrasi 8% sebagai kondisi yang paling efisien. Temuan ini mengonfirmasi bahwa pemanfaatan kultur campuran pada konsentrasi inokulum yang tepat dapat menjadi strategi yang lebih efektif dalam mendekolorisasi pewarna azo seperti *Reactive Red*.

Dalam penelitian ini tidak dilakukan analisis pembentukan senyawa antara dari dekolorisasi *Reactive Red* maupun penentuan aktivitas azoreduktase yang dapat memberikan

kepastian bahwa dekolorisasi terjadi akibat adanya pemutusan ikatan azo. Oleh karena itu, untuk memberikan kepastian proses terjadinya dekolorisasi *Reactive Red* diperlukan penentuan senyawa antara hasil dekolorisasi *Reactive Red* atau penentuan aktivitas azoreduktase.

Daftar Pustaka

- Al-Garni, S. M., Ghanem, K. M., Kabli, S. A., & Biag, A. K. (2013). Decolorization of Crystal Violet by mono and mixed bacterial culture techniques using optimized culture conditions. *Polish Journal of Environmental Studies*, 22(5), 1297–1306.
- Alzain, H., Kalimugogo, V., & Hussein, K. (2023). A review of bacterial degradation of Azo Dyes. *International Journal of Research and Review*, 10(6), 443-462. <https://doi.org/10.52403/ijrr.20230657>.
- Chaurasia, P., Jasuja, N. D., & Kumar, S. (2024). Isolation and characterization of bacterial consortia for bioremediation of textile dye effluent. *Biopesticides International*, 20(1), 151–157. <https://doi.org/10.59467/BI.2024.20.151>.
- Hannan, I. A., Eka Witrie, S., & Prasetya Adi, N. (2024). Dampak pencemaran air akibat limbah industri batik printing di kecamatan pekalongan utara terhadap kualitas air sungai. *Gudang Jurnal Multidisiplin Ilmu*, 2(8), 34–42. <https://doi.org/10.59435/gjmi.v2i8.774>.
- Garzoon-Zuñiga MA, Sandoval-Villasana AM, Moeller-Chavez GE. (2011). Decolorization of the AO24 azo dye and reduction of toxicity and genotoxicity in trickling biofilters. *Water Environment Research*, 83(2), 107-15. <https://doi.org/10.2175/106143010x12780288627977>.
- Kamal, I. M., Abdeltawab, N. F., Ragab, Y. M., Farag, M. A., & Ramadan, M. A. (2022). Biodegradation, decolorization, and detoxification of di-azo dye Direct Red 81 by halotolerant, alkali-thermo-tolerant bacterial mixed cultures. *Microorganisms*, 10(5), 994. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050994>.
- Kara, P. I., Meitiniarti, V. I., & Timotius, K. H. (2019). Pertumbuhan *Enterococcus faecalis* ID 6017 dan kemampuan dekolorisasi beberapa konsentrasi Orange II dalam sistem sinambung. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 13(2), 55–61. <https://doi.org/10.24002/biota.v13i2.2671>.
- Karpova, E. E., Kunz, G. I., & Garner, M. B. (2021). Sustainability in Textile Dyeing: Recent Developments. In Muthu, S., Gardetti, M. (Ed.), *Sustainable Textiles: Production, Processing, Manufacturing & Chemistry*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-38545-3_2
- Manzoor, J., & Sharma, M. (2020). Impact of Textile Dyes on Human Health and Environment. In Wani, K.A., Jangid, N.K., & Bhat, A.R. (Ed.), *Impact of Textile Dyes on Public Health and the Environment*. IGI Global Scientific Publishing. <https://doi.org/10.4018/978-1-7998-0311-9.ch008>
- Meitiniarti, V. I., & Nugroho, R. A. (2022). Ragam Bakteri Pendekolorisasi Pewarna Sumifix Blue dan Reactive Red 2. *Seminar Nasional VII Prodi Pendidikan Biologi*, 695-700.
- Meitiniarti, V. I., Timotius, K. H., & Sugiharto, E. (2012). Decolorization of Orange II by mixed culture of *Enterococcus faecalis* ID6017 and *Chryseobacterium indologenes* ID6016. *Microbiology Indonesia*, 6(3), 17-23
- Mustaha, G., Zahid, T. M., Kurade, B. M., Alvi, A., Ullah, F., Yadaf, N., Park, H., Khan, A. M., & Jeon, H. B. (2024). Microalgal and activated sludge processing for biodegradation of textile dyes. *Environmental Pollution*, 349(6), 123902. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.123902>
- Nasrin, T., Saha, A. K., Mohanta, M. K., Chaity, A. S., Alam, M. J., Shawon, M. M. H., & Haque, M. F. (2022). Reduction of toxic effects of textile dye, Basic Red-18 on tilapia fish by bioremediation with a novel bacterium, *Mangrovibacter yixingensis* strain aks2 isolated from textile wastewater. *Annual Research & Review in Biology*, 37(11), 12–29. DOI:10.9734/arrb/2022/v37i1130544
- Nurani, I. K. (2019). *Karakterisasi Potensi Isolat Bakteri IBLTT-1 dan IBLTT-2 untuk Mendegradasi Pewarna Reactive Red II* [Bachelor's Thesis]. Universitas Kristen Satya Wacana.
- Patel Jay, N., Vaishnav Darshit, K., Joshi Pavan, R., & Tipre Devayani, R. (2023). Bacterial enzymes for azo dye degradation: An insight. *Research Journal of Chemistry and Environment* 27(4),

- 135–148.
<https://doi.org/10.25303/2704rjce1350148>
- Permatasari, I., Nugroho, R. A., & Meitiniarti, V. I. (2018). Dekolorisasi pewarna tekstil Sumifix Blue dan Reactive Red 2 oleh bakteri yang diisolasi dari limbah industri tekstil. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*, 5(1), 20–26. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v5i1.2757>
- Rani, C., Jana, A. K., & Bansal, A. (2011). Studies on the biodegradation of azo dyes by white rot fungi *Daedalea flavida* in the absence of external carbon source. *2nd International Conference on Environmental Science and Technology*, 6, 147–150.
- Rohyami, Y., Ratri, H. P. I., & Wihyarti, W. (2018). Validasi metode penentuan Rhodamin B dalam contoh saos secara spektrofotometri UV-Vis dengan dua variasi pelarut. *IJCA (Indonesian Journal of Chemical Analysis)*, 1(01), 20–28. <https://doi.org/10.20885/ijca.vol1.iss1.art3>
- Sarkar, S., Banerjee, A., Halder, U., Biswas, R., & Bandopadhyay, R. (2017). Degradation of synthetic azo dyes of textile industry: A sustainable approach using microbial enzymes. *Water Conservation Science and Engineering* 2(4), 121–131. <https://doi.org/10.1007/s41101-017-0031-5>
- Shah, M. P., & Bera, S. P. (2021). Microbial treatment of textile dye Reactive Red 3 by a newly developed bacterial consortium. *Nanotechnology for Environmental Engineering*, 6(62). <https://doi.org/10.1007/s41204-021-00156-7>
- Singh, S. S., Salem, R. D., & Sani, K. R. (2021). *Spectroscopy, microscopy, and other techniques for characterization of bacterial nanocellulose and comparison with plant-derived nanocellulose*. In Microbial and Natural Macromolecules. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820084-1.00018-1>
- Tomilayo, R. B., Sani, A., & Sule, I. O. (2019). Potentials of mixed cultures of bacteria in the biodegradation of crude oil. *Ife Journal of Science*, 21(3), 49–57. <https://doi.org/10.4314/ijcs.v21i3.5>
- Unnikrishnan, S., Khan, M. H., & Ramalingam, K. (2018). Dye-tolerant marine *Acinetobacter baumannii*-mediated biodegradation of Reactive Red. *Water Science and Engineering*, 11(4), 265–275. <https://doi.org/10.1016/j.wse.2018.08.001>.