

Pertumbuhan Curah *Enterococcus faecalis* Id 6017 dan Kemampuan Dekolorisasi *Reactive Red-2* pada Medium yang Mengandung Gliserol

Batch Culture of *Enterococcus faecalis* Id 6017 and Its Ability to Decolorize *Reactive Red-2* in the Glycerol Containing Medium

V. I. Meitiniarti*, Morina M. Napitupulu, K. H. Timotius

*Fakultas Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana ,
Jl. Diponegoro 52-60 Salatiga Telp. 0298-321212, ex. 305 Fax. 0298-321433
E-mail : rien@uksw.edu *Penulis untuk korespondensi*

Abstract

Enterococcus faecalis ID 6017 can utilize glycerol as the source of carbon and energy for its growth. The present of glycerol in the medium containing Reactive Red-2 not only influenced its growth but also its ability to decolorize Reactive Red-2. The aim of this study was to investigate the growth of *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) and its ability to decolorize Reactive Red-2. The microbe was grown in batch system with three different growth medium, i.e. medium which contained (i) 1.643 g/l glycerol and 0.08 g/l reactive red-2, (ii) 1.643 g/l glycerol, and (iii) 0.08 g/l Reactive Red 2. The result of this study showed that the growth of *E. faecalis* and its ability to decolorize Reactive Red-2 on medium contained glycerol was better than without glycerol. *E. faecalis* could not growth and decolorized Reactive Red-2 on medium without glycerol.

Key words : *E. faecalis*, glycerol, Reactive Red- 2, decolorize

Diterima: 3 Februari 2003, disetujui: 10 September 2003

Pendahuluan

Industri tekstil umumnya menggunakan berbagai pewarna sintetik sebagai pewarna kain. Salah satunya adalah *Reactive Red-2* yang termasuk golongan monoazo dan memiliki ikatan kromofor pada naftalena. Proses pewarnaan kain, seperti pencelupan dan pembilasan, menghasilkan limbah cair yang mengandung pewarna dan bahan organik dan diperkirakan 10-15% pewarna terlepas dalam *efluen* selama proses pewarnaan tersebut (Vaidya and Datye, 1982, dalam Spadaro *et al.*, 1992).

Pewarna azo tidak dapat didegradasi pada kondisi aerob sehingga pada proses pengolahan air limbah aerob konvensional, biasanya tidak terjadi dekolorisasi yang efisien (Zimmermen *et al.* 1982) dan senyawa ini masih dijumpai pada *efluen* unit pengolahan

aerob (Schultze-Rellmer, 1996 dalam Keck *et al.* 1997). Walaupun pada beberapa proses pengolahan limbah secara biologis tradisional yang dikombinasi dengan perlakuan fisika dan kimiawi, seperti flokulasi, koagulasi kimiawi, dan presipitasi, dapat menghasilkan dekolorisasi *efluen* yang lebih baik. Perlakuan tersebut ternyata masih menimbulkan masalah karena menghasilkan lumpur yang banyak. Selain itu polusi akibat penggunaan bahan kimia yang berlebihan juga perlu ditangani secara terpisah. Oleh karena itu, perlu dikembangkan suatu metode alternatif untuk dekolorisasi menggunakan metode biologis inovatif alami dan dapat mengurangi polutan (Chang *et al.*, 2001). Pengolahan secara biologis tersebut dapat dilakukan dengan bantuan suatu mikroorganisme.

Penelitian sebelumnya berhasil mengisolasi bakteri dengan sandi SWCU

96-I03 (Liem, 1997) dari lumpur aktif industri tekstil. Bakteri tersebut telah dilaporkan mampu mendekolorisasi berbagai macam pewarna, seperti amaranth (Oei dan Meitiniarti, 1999; Meitiniarti dan Rahayu, 2002), merah reaktif (Mangimbulude *et al.*, 2002), kuning dan biru reaktif (Meitiniarti dan Alexandra, 2001). Lebih lanjut diketahui bahwa kultur bakteri tersebut terdiri dari dua jenis bakteri, yaitu *Enterococcus faecalis* ID6017 dan *Chryseobacterium indologenes* ID6017 (Meitiniarti dan Timotius, 2002). Kemampuan dekolorisasi pewarna kedua jenis bakteri tersebut belum banyak diteliti. Menurut Robert *et al.* (1996), *E. faecalis* termasuk golongan bakteri asam laktat, anaerob fakultatif yang habitatnya berada pada saluran pencernaan manusia dan hewan (Schaberg *et al.*, 1991, dalam Rince *et al.*, 2001), mampu tumbuh pada medium yang mengandung gliserol, manitol, pada pH 6,5 - 9,2, dan suhu optimum pertumbuhannya adalah 37°C. Pada beberapa penelitian dilaporkan bahwa bakteri saluran pencernaan manusia dan hewan mampu mendegradasi senyawa pewarna (Rafii *et al.*, 1990; Brown, 1981; McConnel and Tannock, 1991). Jadi besar kemungkinan *E. faecalis* ID6017 dalam kultur murni juga mempunyai kemampuan dekolorisasi pewarna.

Menurut Nigam *et al.* (1996) dalam Tan and Field (2000), terjadinya reduksi pewarna azo dibutuhkan ketersediaan ko-substrat. Ko-substrat yang digunakan dapat berupa glukosa, pati, tapioka, ekstrak khamir, atau campuran asetat, butirat dan propionat. Gliserol dapat digunakan oleh *E. faecalis* sebagai sumber karbon dan energi. Ada kemungkinan gliserol dapat digunakan sebagai kosubstrat untuk pertumbuhan pada medium yang mengandung *Reactive Red-2*, karena *Reactive Red-2* merupakan senyawa xenobiotik yang tidak dapat digunakan langsung sebagai sumber C dan energi. Dengan demikian, tujuan penelitian ini adalah mengetahui pertumbuhan dan kemampuan *E. faecalis* dalam dekolorisasi *Reactive Red-2* pada medium yang mengandung gliserol dalam sistem curah.

Bahan dan Metode Penelitian

Bahan yang digunakan

Biak *E. faecalis* ID6017 diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana. Salatiga. Medium pertumbuhan yang digunakan mempunyai komposisi dasar sebagai berikut (g/L): MgSO₄.7H₂O 0,25; (NH₄)₂SO₄ 1,98; K₂HPO₄ 5,55; KH₂PO₄ 2,13; dan ekstrak khamir 0,5. Gliserol 1,643 g/l dan *Reactive Red-2* 0,08 g/l.

Kondisi pertumbuhan

Pertumbuhan *E. faecalis* dilakukan dalam sistem curah pada kondisi statis. *E. faecalis* ditumbuhkan pada tiga macam medium pertumbuhan yaitu medium yang mengandung gliserol dan *Reactive Red-2*, medium yang mengandung gliserol saja, dan medium yang mengandung *Reactive Red-2* saja.

Sebelum dilakukan pertumbuhan, terlebih dahulu dibuat prekult. Prekult dibuat dengan cara menginokulasikan *E. faecalis* yang berumur 24 - 48 jam ke dalam 50 ml medium pertumbuhan sesuai perlakuan. Kemudian diinkubasi selama 24 - 48 jam. Saat serapan optis pada $\lambda = 540$ nm mencapai kisaran 0,3-0,5 prekult dimasukkan ke dalam medium pertumbuhan. Selama pertumbuhan dilakukan pengambilan sampel setiap selang waktu tertentu. Parameter yang diukur adalah konsentrasi *Reactive Red-2* (secara kolorimetri pada λ 480 nm), konsentrasi gliserol (secara kolorimetri pada λ 570 nm, Dawes, *et al.*, 1971) dan konsentrasi sel.

Hasil dan Pembahasan

Pertumbuhan *E. faecalis* ID 6017

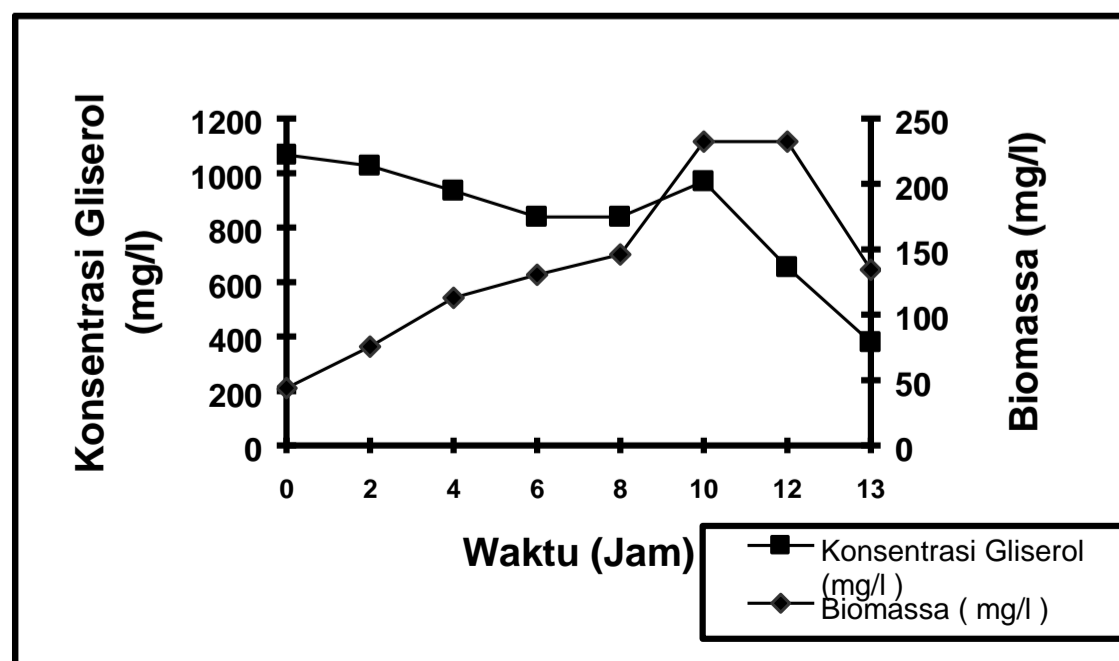
E. faecalis ID6017 dapat tumbuh pada medium yang mengandung gliserol baik dengan atau tanpa *Reactive Red-2* karena gliserol digunakan sebagai sumber karbon. Adanya gliserol pada medium pertumbuhan akan mempengaruhi pertumbuhan *E. faecalis* dan kemampuannya dalam dekolorisasi

Reactive Red-2. Pada medium yang mengandung *Reactive Red-2* tanpa gliserol (Gambar 3), *E. faecalis* tidak dapat tumbuh karena tidak dapat menggunakan *Reactive Red-2* secara langsung sebagai sumber karbon maupun energi bagi pertumbuhannya. Jika *E. faecalis* ditumbuhkan pada medium yang mengandung *Reactive Red 2* dan substrat yang dapat digunakan secara langsung, maka bakteri ini akan tumbuh dan dekolorisasi *Reactive Red-2* (Gambar 2). Tetapi keberadaan *Reactive Red-2* dalam medium akan memperlambat pertumbuhan bakteri. Kecepatan pertumbuhan *E. faecalis* pada medium dengan gliserol dan

Reactive Red-2 lebih lambat, perolehan biomasanya lebih sedikit, dan konsumsi gliserolnya lebih banyak (Gambar 2 dan Tabel 1) dibandingkan pada medium dengan gliserol saja (Gambar 1). Hal ini disebabkan pada medium dengan gliserol dan *Reactive Red-2*, *E. faecalis* menggunakan gliserol tidak hanya untuk tumbuh melainkan juga untuk memutuskan ikatan kromofor *Reactive Red-2*. Sedangkan pada medium dengan gliserol saja gliserol hanya digunakan untuk tumbuh dan memelihara atau mempertahankan sel.

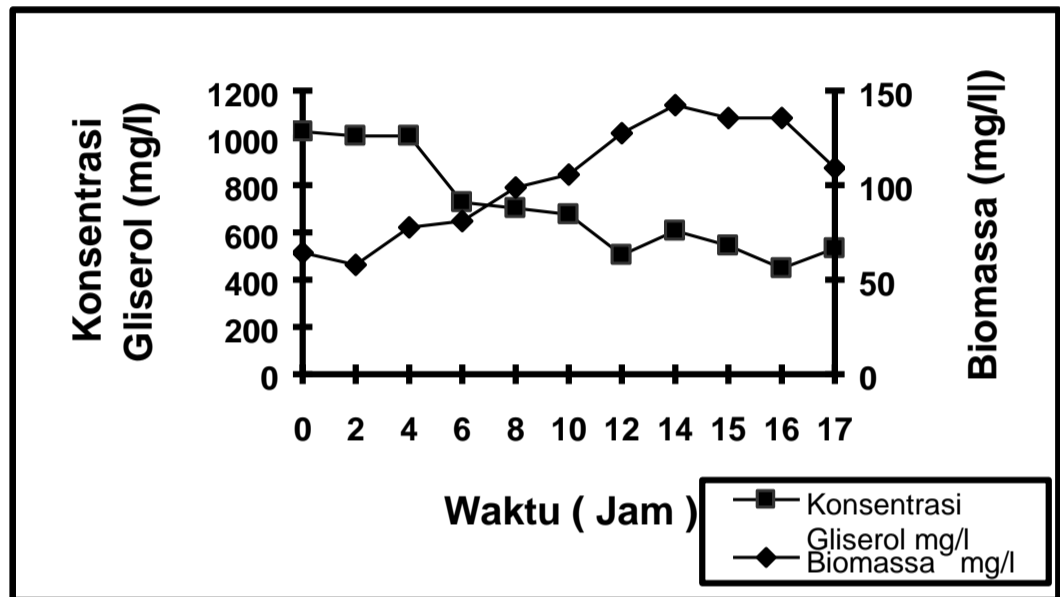
Tabel 1. Perhitungan Parameter Pertumbuhan dan Dekolorisasi *Reactive Red-2* oleh *E. faecalis* ID6017

Parameter Pertumbuhan	Medium Gliserol	
	Dengan <i>Reactive Red-2</i>	Tanpa <i>Reactive Red-2</i>
Kecepatan Pertumbuhan Spesifik (μ) (Jam^{-1})	0,08	0,18
Produksi sel (mg/l)	78	189
Konsumsi gliserol (mg)	560,3	412,8
Konsumsi <i>Reactive Red-2</i> (mg)	62,12	
Persentase dekolorisasi (%)	93	

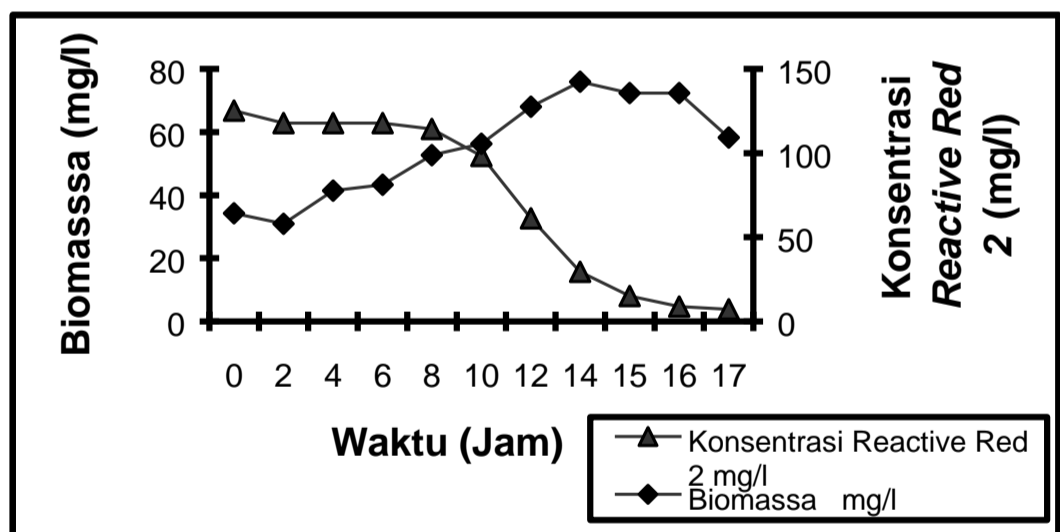


Gambar 1. Pertumbuhan *E. faecalis* pada medium yang mengandung gliserol

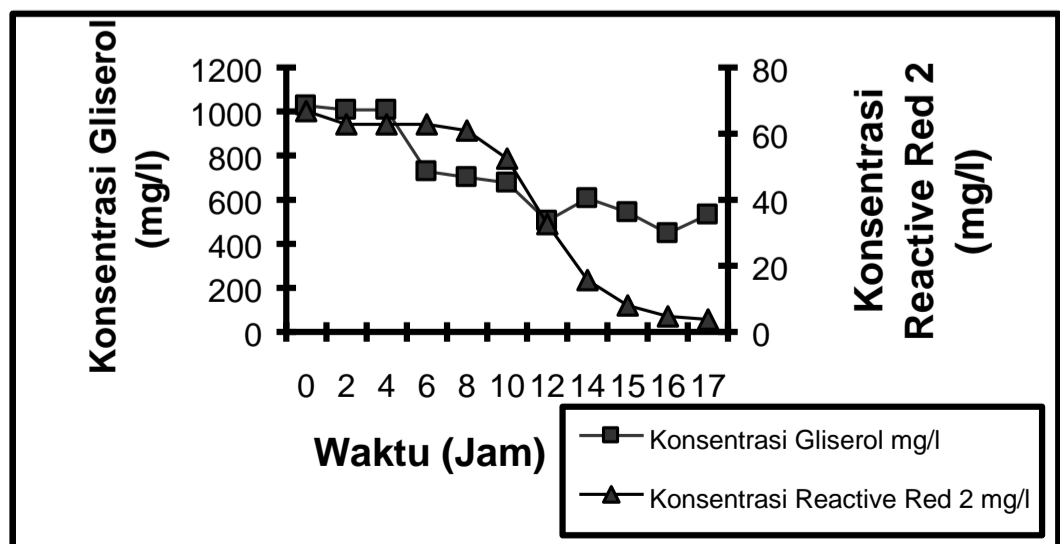
Kemampuan Dekolorisasi *E- Faecalis* Id 6017



Gambar 2. Pertumbuhan *E. faecalis* ID-6017 pada medium yang mengandung gliserol dan *Reactive Red-2*



Gambar 3. Penurunan konsentrasi *Reactive Red-2* selama pertumbuhan *E. faecalis* ID6017 dalam medium tanpa gliserol



Gambar 4. Penurunan konsentrasi gliserol dan *Reactive Red-2* oleh *E. faecalis* ID6017

Dekolorisasi *Reactive Red -2* oleh *E. faecalis* ID 6017

Tingkat penurunan konsentrasi *Reactive Red-2* terjadi seiring dengan peningkatan tingkat konsumsi gliserol dan konsentrasi sel (Gambar 3 dan 4). Dekolorisasi *Reactive Red-2* terjadi apabila sel dalam keadaan tumbuh. Peran gliserol dalam proses dekolourisasi adalah sebagai sumber donor elektron. Dari gliserol akan dihasilkan NADH yang berfungsi memacu aktivitas azoreduktase untuk memutuskan ikatan kromofor pada *Reactive Red-2* sehingga konsentrasi *Reactive Red-2* berangsur-angsur menurun (terdekolourisasi). Senyawa hasil dekolourisasi *Reactive Red-2* diduga adalah aromatik amin (Haug et al., 1991).

Kesimpulan

Pertumbuhan *E. faecalis* ID 6017 pada medium yang mengandung gliserol lebih baik dibandingkan medium non-gliserol. Penambahan *Reactive Red-2* pada medium yang mengandung gliserol dapat menghambat pertumbuhan *E. faecalis* ID 6017.

Keberadaan gliserol pada medium yang mengandung *Reactive Red-2*, diperlukan untuk pertumbuhan *E. faecalis* ID 6017 dan proses dekolourisasi. Jika tidak ada gliserol, maka bakteri tidak tumbuh.

Daftar Pustaka

- Brown, J.P. 1981. Reduction of Polymeric Azo and Nitro Dyes by Intestinal Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 41 (5): 1283-1286.
- Chang, J.S, Chou, C., Lin, Y.C., Lin, P.J. et al., 2001. Kinetic Characteristics of Bacterial Azo Dyes Decolorization By *Pseudomonas luteola*. *Water Research* 35 (12): 2841-2850
- Dawes, E. A., D.J. Mc Gill and M. Midgley. 1971. Analysis of Fermentation Product. In: J.R. Norris and D.W. Ribbons (Eds.) *Methods in Microbiology*. Academic Press. New York.
- Haug, W., A. Schmidt., B. Nortemann. et al., 1991. Mineralization of the Sulfonated Azo Dye Mordant Yellow 3 by a 6-Aminonaphthalene-2-Sulfonate-Degrading Bacteria Consortium. *Applied and Environmental Microbiology* 57 (11) : 3144-3149.
- Keck, A., J. Klein, M. Kudlich, A. Stolz, H-J. et al. 1997. Reduction of azo dyes by redox mediators originating in the naphthalenesulfonic acid degradation pathway of *Sphingomonas* sp. strain BN6. *Applied and Environmental Microbiology* 63 (9): 3684-3690.
- Liem, D.L. 1997. *Identifikasi dan Karakterisasi Isolat-isolat Bakteri Pereduksi Amaranth yang Diisolasi dari Limbah Industri Tekstil*. Skripsi S1 Fak. Biologi, UKSW. Salatiga.
- Mangimbulude, J.C., V.I. Meitiniarti, dan S. Haryanti. 2002. Efek Beberapa Kosubstrat terhadap Degradasi Merah Reaktif oleh *Brevibacterium* sp. SWCU-96-I03 dalam Kondisi Aerob. Makalah dalam *Seminar Nasional FMIPA, UNNES, Semarang, 2 April 2002*.
- McConnel, M.A. and G.W. Tannock. 1991. Lactobacilli and Azoreductase Activity in the Murine Cecum. *Applied and Environmental Microbiology* 57 (12): 3664-3665.
- Meitiniarti, V.I. dan S. Alexandra. 2001. Kemampuan Dekolorisasi Pewarna Kuning Merah, dan Biru Reaktif oleh Isolat SWCU 96-I03 pada Kondisi Anaerob. *Seri Penelitian FB Vol. 4, No. 1 September 2001*
- Meitiniarti, V.I. dan Y.G.S.P. Rahayu. 2002. Pengaruh Glukose dan Ekstrak Khamir terhadap Pertumbuhan dan Kemampuan Dekolorisasi Amaranth oleh *Brevibacterium* sp. SWCU-96-I03. *Seri Penelitian FB Vol. 5 No. 1 Maret 2002*.
- Meitiniarti, V.I. dan K.H. Timotius. 2002. *Karakterisasi dan Identifikasi bakteri SWCU 96-I03 dan SWCU 96-I01 serta Pertumbuhan dan Kemampuan Dekolorisasinya pada Medium yang Mengandung Pewarna*. Laporan Penelitian Fak. Biologi, UKSW. Salatiga.

Kemampuan Dekolorisasi E- Faecalis Id 6017

- Oei, I. dan V.I. Meitiniarti. 1999. Pengaruh Penambahan Glukosa dan Pengocokan Medium terhadap Pertumbuhan *Brevibacterium* sp. SWCU-96-I03 dan Kemampuannya dalam Menurunkan Warna Amaranth. *Seri Penelitian FB No. 2 Th. II Maret 1999*.
- Rafii, F., W. Franklin, and C.E. Cerniglia. 1990. Azoreductase Activity of Anaerobic Bacteria Isolated from Human Intestinal Microflora. *Applied and Environmental Microbiology* 56 (7): 2146-2151.
- Rince, A., J-C. Giard, V. Pichereau, S. Flahaut, *et al*, 2001. Identification and Characterization of *gsp65*, an Organic Hydroperoxide Resistance (*ohr*) Gene Encoding a General Stress Protein in *Enterococcus faecalis*. *Journal of Bacteriology* 183 (4): 1482-1488.
- Robert, T.A., A.C.B. Parker, and R.B. Tompkin. 1996. *Microorganisms in Foods. Microbiological Spesification of Food Pathogen*. 5th ed. Blakie Academic and Profesional. London.
- Spadaro, J.T., M.H. Gold, and V. Renganathan. 1992. Degradation of azo dyes by lignin-degradating fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmental Microbiology* 58 (8): 2397-2401.
- Tan, N.C.G. and J.A. Field. 2000. Biodegradation of Sulfonated Aromatic Compound. In: Lens, P. and L. Hulshoff-Pol (Eds.) *Environmental Technologies to Treat Sulfur Pollution. Principles and Engineering*. IWA Publishing. London.
- Zimmermen, T., H.G. Kulla, and T. Leisinger. 1982. Properties of purified Orange II azoreductase, the enzyme initiating azo dye degradation by *Pseudomonas* KF46. *Europe Journal of Biochemistry* 129: 197-203.