© 2026 Program Studi Ilmu Lingkungan Sekolah Pascasarjana UNDIP
JURNAL ILMU LINGKUNGAN
Volume 24 Issue 5 (2026) : 1116-1123 *ISSN 1829-8907*

Perbandingan Kemampuan Dekolorisasi Naftol Merah dan Naftol Biru oleh *Bacillus velezensis* IBLTT_1, *Bacillus cereus* IBLTT_5, dan *Enterococcus faecalis*

Apfia Priska Justiciana[1], Vincentia Irene Meitiniarti[2*], dan Rully Adi Nugroho[2]

[1]Program studi S1 Biologi, Fakultas Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga, Indonesia
[2]Program studi S2 Biologi, Fakultas Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga, Indonesia; e-mail: irene.meitiniarti@uksw.edu

ABSTRAK

Dekolorisasi pewarna sintetis oleh bakteri merupakan salah satu pendekatan biologis yang dapat digunakan untuk mengurangi warna pada limbah yang mengandung pewarna. Penelitian ini bertujuan membandingkan kemampuan tiga strain bakteri, yaitu *Bacillus velezensis* IBLTT_1, *B. cereus* IBLTT_5, dan *Enterococcus faecalis*, dalam mendekolorisasi naftol merah dan naftol biru. Penelitian dilakukan secara eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan dua faktor, yaitu strain bakteri dan jenis pewarna, dengan empat ulangan biologis pada setiap kombinasi perlakuan. Dekolorisasi dievaluasi setelah inkubasi selama 48 jam berdasarkan persentase dekolorisasi dan laju dekolorisasi, sedangkan efisiensi relatif dekolorisasi digunakan sebagai parameter deskriptif. Data persentase dan laju dekolorisasi dianalisis menggunakan Two-Way ANOVA setelah pengujian asumsi dan transformasi data sesuai kebutuhan, dengan uji lanjut Bonferroni. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *E. faecalis* memiliki persentase dekolorisasi tertinggi terhadap naftol merah (80,03 ± 0,18%) dan naftol biru (93,68 ± 0,81%), sedangkan *B. velezensis* IBLTT_1 menunjukkan persentase dekolorisasi 73,22 ± 1,12% dan 30,73 ± 1,17%, serta *B. cereus* IBLTT_5 sebesar 50,28 ± 1,34% dan 66,96 ± 2,24% terhadap naftol merah dan naftol biru. Strain bakteri, jenis pewarna, dan interaksi keduanya berpengaruh signifikan terhadap persentase dan laju dekolorisasi ($P < 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa kemampuan dekolorisasi berbeda antarstrain dan bergantung pada jenis pewarna. Namun, hasil dekolorisasi tidak dapat secara langsung diinterpretasikan sebagai biodegradasi karena produk transformasi dan aktivitas enzim yang terlibat tidak dianalisis.

***Kata kunci*:** bakteri, *Bacillus*, dekolorisasi, *Enterococcus faecalis*, naftol biru, naftol merah

ABSTRACT

Bacterial decolorization of synthetic dyes is a biological approach that may be used to reduce dye coloration in contaminated wastewater. This study aimed to compare the decolorization ability of three bacterial strains, *Bacillus velezensis* IBLTT_1, *B. cereus* IBLTT_5, and *Enterococcus faecalis*, toward Naphthol Red and Naphthol Blue. The experiment was conducted using a completely randomized design with two factors, bacterial strain and dye type, with four biological replicates for each treatment combination. Decolorization was evaluated after 48 h of incubation based on decolorization percentage and decolorization rate, while relative decolorization efficiency was used as a descriptive parameter. Percentage and rate data were analyzed using two-way ANOVA after assessment of statistical assumptions and data transformation when required, followed by Bonferroni post hoc comparisons. *E. faecalis* showed the highest decolorization percentages for both Naphthol Red (80.03 ± 0.18%) and Naphthol Blue (93.68 ± 0.81%). *B. velezensis* IBLTT_1 showed decolorization percentages of 73.22 ± 1.12% and 30.73 ± 1.17%, whereas *B. cereus* IBLTT_5 showed 50.28 ± 1.34% and 66.96 ± 2.24% for Naphthol Red and Naphthol Blue, respectively. Bacterial strain, dye type, and their interaction significantly affected both decolorization percentage and rate ($P < 0.05$). These findings demonstrate that bacterial decolorization ability varied among strains and depended on the dye type. However, the observed decolorization cannot be directly interpreted as biodegradation because dye transformation products and the activities of enzymes potentially involved in the process were not analyzed.

***Keywords*:** bacteria, Bacillus, decolorization, *Enterococcus faecalis,* Naphthol Red, Naphthol Blue

Citation: Justiciana, A. P., Meitiniarti, V. I., dan Nugroho, R. A. (2026). Perbandingan Kemampuan Dekolorisasi Naftol Merah dan Naftol Biru oleh *Bacillus velezensis* IBLTT_1, *Bacillus cereus* IBLTT_5, dan *Enterococcus faecalis*. Jurnal Ilmu Lingkungan, 24(5), 1116-1123, doi:10.14710/jil.24.5.1116-1123

1. PENDAHULUAN

Pertumbuhan sektor industri di Indonesia yang semakin meluas, baik pada tingkat rumah tangga maupun industri berskala besar, berperan signifikan dalam mendorong peningkatan ekonomi nasional serta memperluas peluang kerja. Meskipun demikian, aktivitas produksi yang dilakukan juga menghasilkan limbah cair dalam jumlah besar yang berpotensi menimbulkan pencemaran lingkungan. Salah satu komponen dominan dalam limbah industri tersebut adalah zat pewarna sintetis yang memiliki struktur kimia kompleks dan kestabilan tinggi, sehingga sukar mengalami degradasi secara alami (Benammar et al. 2021). Menurut Aprilia (2022), walaupun tersedia berbagai jenis pewarna, penggunaan pewarna sintetis tetap banyak digunakan dalam industri karena ketersediaannya yang mudah didapatkan, warna yang beragam, serta biaya produksi yang relatif rendah. Bahkan, sekitar 60-70% sektor industri termasuk tekstil, plastik, kosmetik dan pangan menggunakan pewarna sintetis dalam proses produksinya (Moharrery et al. 2025).

Salah satu pewarna yang digunakan adalah pewarna naftol yang termasuk dalam golongan azo dan diaplikasikan sebagai bahan pencelup pada wol, nilon, sutra serta batik (Ferkous et al. 2015). Pewarna azo merupakan kelompok pewarna sintetis terbesar yang ditandai dengan keberadaan satu atau lebih ikatan azo (-N=N-) dalam strukturnya (Benammar et al. 2021). Berdasarkan klasifikasinya, pewarna azo dapat diklasifikasikan menjadi monoazo, diazo, triazo, dan poliazo. Monoazo memiliki satu ikatan, sementara diazo memiliki dua ikatan azo yang menyebabkan struktur molekul lebih kompleks dan pada umumnya lebih resisten terhadap mikroba lain. Pewarna yang digunakan dalam penelitian ini adalah Naptol Merah Lombok dan Naptol Biru Panci, yang merupakan dua varian warna komersial dari produk Naptol Wenter Celup merek Walet untuk pewarnaan tekstil. Istilah "Merah Lombok" dan "Biru Panci" merupakan nama varian warna yang tercantum pada kemasan produk, sedangkan kemasan tidak mencantumkan nama senyawa kimia spesifik, nomor Colour Index (C.I.), nomor CAS, maupun struktur molekul dari masing-masing varian. Oleh karena itu, dalam penelitian ini kedua pewarna diidentifikasi berdasarkan nama komersialnya dan tidak ditetapkan sebagai senyawa kimia spesifik.

Naphthol dyes yang juga dikenal sebagai *azoic dyes* merupakan kelompok pewarna tekstil yang terutama digunakan untuk serat selulosa. Pada sistem pewarnaan naphthol, komponen pengkopel berbasis naphthol dan komponen diazonium diaplikasikan secara terpisah, kemudian bereaksi melalui reaksi kopling diazonium pada serat untuk membentuk kromofor azo yang menghasilkan warna (Hubbe et al. 2012; OECD, 2017). Naftol juga banyak digunakan dalam proses pewarnaan batik di Indonesia (Harsini et al. 2017). Sistem pewarnaan naphthol dapat menghasilkan berbagai warna bergantung pada kombinasi komponen kimia yang digunakan (Hubbe et al. 2012; OECD, 2017). Dengan demikian, nama "Naptol Merah Lombok" dan "Naptol Biru Panci" sebagai nama warna komersial tidak dengan sendirinya menunjukkan satu struktur molekul tertentu. Karakteristik struktur kimia dan gugus substituen pada pewarna azo dapat memengaruhi interaksinya dengan mikroorganisme serta karakteristik dekolorisasinya (Hsueh et al. 2009). Oleh karena itu, perbedaan respons dekolorisasi terhadap Naptol Merah Lombok dan Naptol Biru Panci yang diamati dalam penelitian ini dapat berkaitan dengan perbedaan karakteristik kimia dari formulasi pewarna komersial tersebut, meskipun komposisi molekuler spesifik kedua produk tidak ditentukan dalam penelitian ini.

Permasalahan utama yang timbul berkaitan dengan penggunaan pewarna azo adalah persistensi serta sifat toksiknya terhadap lingkungan dan kesehatan manusia. Benammar et al. (2021), menyatakan bahwa senyawa ini dapat menyebabkan gangguan pada ekosistem perairan, termasuk kerusakan komunitas akuatik, serta menimbulkan dampak negatif bagi kesehatan manusia seperti mual, muntah, iritasi, dermatitis, reaksi alergi, hingga potensi karsinogenik. Oleh sebab itu, keberadaan zat pewarna dalam limbah cair perlu diminimalkan atau diolah terlebih dahulu sebelum dibuang. Berbagai metode fisik dan kimiawi telah dikembangkan untuk mendegradasi pewarna dari limbah tekstil namun metode-metode tersebut sering kali memerlukan biaya operasional yang tinggi dan masih membutuhkan perlakuan lanjutan sebelum dibuang ke lingkungan. Oleh sebab itu, pendekatan metode biologis menggunakan mikroorganisme bisa menjadi alternatif untuk mendegradasi limbah tekstil (Tripathi et al. 2023). Prakoso et al. (2022), mengemukakan bahwa penurunan konsentrasi pewarna azo dapat dilakukan melalui proses penghilangan pewarna (dekolorisasi). Sementara itu, Moharrery et al. (2025), melaporkan bahwa dekolorisasi oleh bakteri dapat menjadi tahap awal dalam transformasi senyawa pewarna dan, pada kondisi tertentu, dapat diikuti oleh proses degradasi hingga mineralisasi. Namun, penurunan warna yang ditunjukkan melalui penurunan absorbansi tidak dengan sendirinya membuktikan terjadinya degradasi atau mineralisasi senyawa pewarna, karena hilangnya warna dapat pula disebabkan oleh adsorpsi pewarna pada biomassa bakteri atau transformasi parsial senyawa pewarna.

Berbagai penelitian mengenai dekolorisasi dan biodegradasi pewarna azo oleh mikroorganisme telah dilaporkan secara luas, termasuk penggunaan bakteri, fungi, dan sistem biologis lainnya. Literatur menunjukkan bahwa keberhasilan dekolorisasi oleh mikroorganisme dipengaruhi oleh karakteristik kimia pewarna, kondisi lingkungan seperti pH, suhu, konsentrasi pewarna, dan waktu inkubasi, serta karakteristik fisiologis dan mekanisme enzimatik

© 2026, Program Studi Ilmu Lingkungan Sekolah Pascasarjana UNDIP

mikroorganisme yang digunakan (Aragaw, 2024a; Carrascal-Hernández et al. 2025; El Awady et al. 2024; Kumaravel and Shanmugam, 2024). Perbedaan jenis pewarna dan strain mikroorganisme juga dapat menghasilkan tingkat dekolorisasi yang berbeda, sehingga kemampuan suatu strain terhadap satu jenis pewarna tidak serta-merta menunjukkan kemampuan yang sama terhadap jenis pewarna lainnya. Dengan demikian, informasi mengenai kemampuan strain bakteri tertentu terhadap kelompok atau jenis pewarna tertentu tetap diperlukan, meskipun kemampuan mikroorganisme dalam mendekolorisasi pewarna azo secara umum telah banyak dilaporkan.

Penelitian yang dilakukan oleh Permatasari et al. (2018) berhasil mengisolasi beberapa galur bakteri yang memiliki kemampuan mendekolorisasi pewarna azo, seperti *Sumifix Blue* dan *Reactive Red*. Hasil identifikasi molekuler menunjukkan bahwa isolat IBLTT_1 merupakan *Bacillus velezensis*, sedangkan isolat IBLTT_2, IBLTT_3, IBLTT_4 dan IBLTT_5 merupakan *B. cereus* (Meitiniarti et al. 2022). Selain itu, *Enterococcus faecalis* telah dilaporkan mampu mendekolorisasi beberapa pewarna tekstil golongan azo, antara lain *Reactive Red 2* (Meitiniarti et al. 2004), *Acid Red 27* (Handayani et al. 2007), dan *Orange II* (Meitiniarti et al. 2012). Temuan tersebut menunjukkan bahwa ketiga strain bakteri tersebut memiliki kemampuan dekolorisasi terhadap beberapa jenis pewarna azo. Namun, kemampuan dekolorisasi ketiga strain tersebut terhadap pewarna naftol yang digunakan dalam penelitian ini belum diketahui. Mengingat karakteristik kimia setiap pewarna dapat memengaruhi interaksi dengan mikroorganisme dan respons dekolorisasi, kemampuan suatu strain terhadap satu jenis pewarna tidak dapat secara langsung diekstrapolasikan terhadap jenis pewarna lainnya. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh strain bakteri dan jenis pewarna terhadap persentase dan laju dekolorisasi pewarna naftol serta mendeskripsikan efisiensi relatif dekolorisasi oleh tiga strain bakteri.

2. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

2.1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi pewarna naftol merah dan biru yang diperoleh melalui pembelian pribadi di Toko Alat Jahit Timur Baru (Jl. Jendral Sudirman, Salatiga), serta tiga strain bakteri uji, yaitu *B. velezensis* IBLTT_1, *B. cereus* IBLTT_5, dan *E. faecalis*, yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Biologi, UKSW.

2.2. Metode

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan dua faktor, yaitu strain bakteri dan jenis pewarna. Faktor strain bakteri terdiri atas tiga strain bakteri uji, yaitu *B. velezensis* IBLTT_1, *B. cereus* IBLTT_5, dan *E. faecalis*, sedangkan faktor jenis pewarna terdiri atas pewarna naftol merah dan naftol biru, masing-masing dengan konsentrasi 15 mg/L. Konsentrasi pewarna tersebut ditetapkan berdasarkan hasil observasi pendahuluan yang dilakukan sebelum penelitian utama. Setiap kombinasi perlakuan dilakukan dalam empat ulangan biologis ($n = 4$).

2.2.1. Persiapan Kultur dan Media

B. velezensis IBLTT_1 dan *B. cereus* IBLTT_5 diremajakan pada medium *Nutrient Agar* (NA), sedangkan *E. faecalis* diremajakan pada *Tryptic Soy Agar* (TSA) menggunakan metode gores. Seluruh kultur diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang selama 48 jam. Kultur yang tumbuh selanjutnya diuji kemurniannya melalui pengamatan morfologi koloni dan morfologi sel secara mikroskopis.

Medium prekultur dibuat menggunakan *Nutrient Broth* (NB) termodifikasi yang terdiri atas glukosa (18 g/L), NaCl (2 g/L), NB (5 g/L), dan larutan unsur kelumit (0,5 mL/L). pH medium disesuaikan hingga mencapai pH 8. Larutan unsur kelumit terdiri atas $CuSO_4.5H_2O$ (23,4 mg/100 mL), $ZnSO_4.7H_2O$ (110 mg/100 mL), $MnCl_2.4H_2O$ (350 mg/100 mL), dan $FeSO_4.7H_2O$ (630 mg/100 mL). Komposisi medium untuk pengujian kemampuan dekolorisasi sama dengan medium prekultur hanya diberi tambahan pewarna naftol merah dan biru sebanyak 15 mg/L. Konsentrasi ini ditetapkan berdasarkan observasi pendahuluan yang dilakukan sebelum penelitian utama. Pada konsentrasi tersebut, isolat bakteri yang digunakan masih mampu tumbuh dan menunjukkan aktivitas dekolorisasi terhadap kedua pewarna. Oleh karena itu, konsentrasi 15 mg/L dipilih sebagai konsentrasi kerja dalam penelitian utama.

2.2.2. Persiapan Inokulum Perlakuan

Prekultur masing-masing strain disiapkan dengan menginokulasikan dua ose kultur berumur 48 jam ke dalam 50 mL medium NB termodifikasi, kemudian diinkubasi pada shaker dengan kecepatan 100 rpm selama 48 jam. Selanjutnya, prekultur dipindahkan ke dalam 200 mL medium perlakuan dan diinkubasi pada shaker dengan kecepatan 120 rpm selama 48 jam. Kultur kemudian dipanen dengan sentrifugasi pada 9.000 rpm selama 10 menit. Pelet dicuci dua kali menggunakan larutan garam fisiologis, kemudian diresuspensi dalam larutan garam fisiologis. Nilai OD_{600} diukur untuk memperoleh kepadatan inokulum yang digunakan pada masing-masing strain dalam uji dekolorisasi.

2.2.3. Uji Kemampuan Dekolorisasi

Medium *Nutrient Broth* (NB) termodifikasi dengan pH 8 ditambahkan pewarna naftol merah dan naftol biru masing-masing sebesar 15 mg/L, kemudian disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Sebanyak 2 mL suspensi bakteri (OD_{600} = 1 atau ± 8 × 10^8 sel/mL) diinokulasikan ke dalam 100 mL medium dan diinkubasi secara statis selama 48 jam. Sampel

© 2026, Program Studi Ilmu Lingkungan Sekolah Pascasarjana UNDIP

sebanyak 2 mL diambil pada waktu 0 dan 48 jam, kemudian disentrifugasi pada 5.000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan biomassa bakteri dari supernatan. Supernatan digunakan untuk pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV-1280. Panjang gelombang pengukuran ditentukan berdasarkan hasil *scanning* spektrum masing-masing pewarna, yaitu 485 nm untuk naftol merah dan 570 nm untuk naftol biru. Medium NB termodifikasi tanpa penambahan pewarna yang mengalami proses inkubasi dan sentrifugasi yang sama digunakan sebagai blanko. Nilai absorbansi yang diperoleh dikonversi menjadi konsentrasi pewarna berdasarkan persamaan kurva standar masing-masing pewarna.

Konsentrasi pewarna pada waktu 0 dan 48 jam selanjutnya digunakan untuk menghitung persentase dekolorisasi, laju dekolorisasi, dan efisiensi relatif dekolorisasi berdasarkan metode (Al-Garni et al. 2013). Persentase dekolorisasi dihitung menggunakan persamaan:

$$\text{Persentase dekolorisasi (\%)} = \frac{C_0 - C_{48}}{C_0} \times 100$$

dengan C_0 adalah konsentrasi pewarna pada waktu 0 jam dan C_{48} adalah konsentrasi pewarna pada waktu 48 jam. Laju dekolorisasi dihitung menggunakan persamaan:

$$\text{Laju dekolorisasi } (mg/L\ /jam) = \frac{C_0 - C_{48}}{48}$$

dengan 48 merupakan periode inkubasi dalam jam. Efisiensi relatif dekolorisasi dihitung dengan membandingkan laju dekolorisasi setiap pengamatan (R_i) terhadap laju dekolorisasi tertinggi ($R_{\max}$) untuk masing-masing jenis pewarna:

$$\text{Efisiensi relatif dekolorisasi (\%)} = \frac{R_i}{R_{max}} \times 100$$

dengan R_i adalah laju dekolorisasi pada pengamatan ke-i, sedangkan $R_{\max}$ adalah laju dekolorisasi tertinggi yang diperoleh dari seluruh strain bakteri dan ulangan pada jenis pewarna yang sama. Konsentrasi pewarna dihitung berdasarkan persamaan kurva standar masing-masing pewarna, yaitu $y = 0{,}0191x - 0{,}0567$ untuk naftol merah dan $y = 0{,}0111x - 0{,}0072$ untuk naftol biru, dengan y merupakan absorbansi dan x merupakan konsentrasi pewarna (mg/L).

2.2.4. Analisis Data

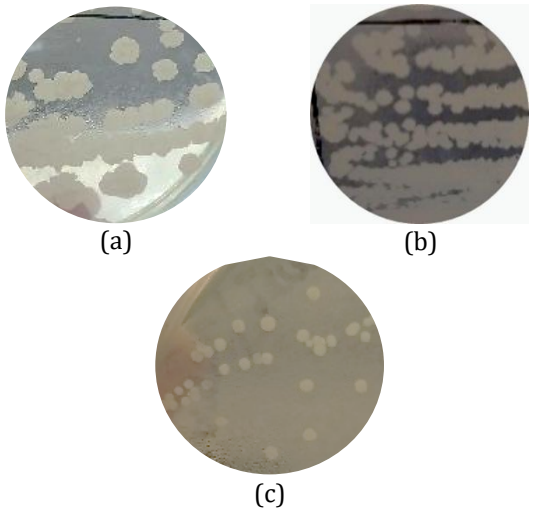
Data persentase dan laju dekolorisasi dianalisis menggunakan *Two-Way ANOVA* pada taraf signifikansi 5% untuk mengevaluasi pengaruh strain bakteri, jenis pewarna, serta interaksi antara keduanya. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan tiga strain bakteri dan dua jenis pewarna, dengan empat ulangan biologis pada setiap kombinasi perlakuan ($n = 4$). Sebelum analisis *Two-Way ANOVA*, dilakukan pengujian asumsi normalitas residual menggunakan uji Shapiro–Wilk dan homogenitas varians menggunakan uji Levene.

Data persentase dekolorisasi memenuhi asumsi normalitas residual dan homogenitas varians sehingga dianalisis menggunakan data tanpa transformasi. Data laju dekolorisasi tidak memenuhi asumsi homogenitas varians pada data awal sehingga ditransformasi menggunakan log10. Setelah transformasi, data laju dekolorisasi memenuhi asumsi normalitas residual dan homogenitas varians dan selanjutnya dianalisis menggunakan *Two-Way ANOVA*. Apabila terdapat pengaruh yang signifikan, perbedaan antarperlakuan dianalisis menggunakan uji perbandingan berpasangan dengan koreksi Bonferroni pada taraf signifikansi 5%. Efisiensi relatif dekolorisasi dihitung berdasarkan rasio laju dekolorisasi terhadap laju dekolorisasi tertinggi pada masing-masing jenis pewarna dan disajikan secara deskriptif. Seluruh analisis statistik dilakukan menggunakan IBM SPSS Statistics versi 25.0.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Karakterisasi Morfologi Strain Bakteri

Hasil pengamatan morfologi koloni menunjukkan bahwa ketiga strain bakteri, yaitu *B. velezensis* IBLTT_1, *B. cereus* IBLTT_5, dan *E. faecalis* menunjukkan karakteristik kologi yang seragam tanpa adanya indikasi kontaminasi. *B. velezensis* IBLTT_1 memiliki koloni berbentuk bulat, berukuran besar, tidak berpigmen dengan tepi sedikit bergelombang. *B. cereus* IBLTT_5 dan *E. faecalis* memiliki koloni berbentuk bulat dengan tepi rata dan berukuran kecil, sedangkan koloni *E. faecalis* tampak agak kekuningan (Gambar 1).

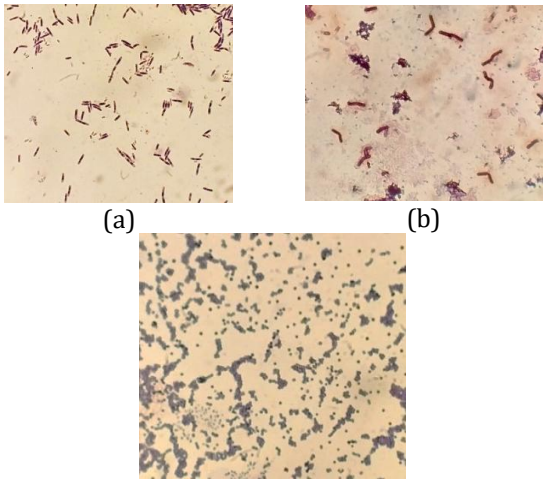


Gambar 1. Morfologi Koloni Strain Bakteri (a) *B. velezensis* IBLTT_1, (b) *B. cereus* IBLTT_5, dan (c) *E. faecalis*

Hasil pengamatan mikroskopis setelah pewarnaan Gram menunjukkan bahwa ketiga strain merupakan bakteri Gram-positif. *B. velezensis* IBLTT_1 dan *B.*

© 2026, Program Studi Ilmu Lingkungan Sekolah Pascasarjana UNDIP

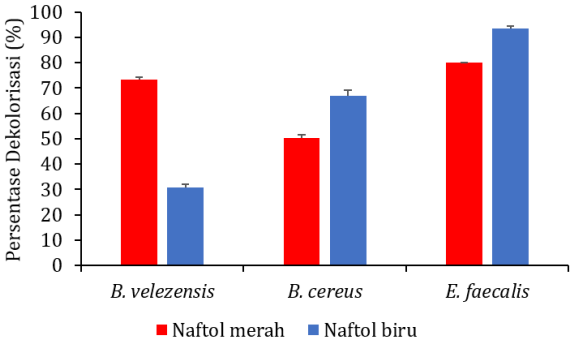
cereus IBLTT_5 memiliki bentuk sel basil, sedangkan *E. faecalis* memiliki bentuk sel kokus (Gambar 2).



Gambar 2. Bentuk Sel Strain Bakteri Setelah Pewarnaan Gram: (a) *B. velezensis* IBLTT_1, (b) *B. cereus* IBLTT_5, dan (c) *E. faecalis*

3.2. Dekolorisasi Naftol Merah dan Naftol Biru oleh Tiga Strain Bakteri

Kemampuan tiga strain bakteri dalam mendekolorisasi naftol merah dan naftol biru setelah inkubasi selama 48 jam menunjukkan pola yang berbeda antarstrain dan antarjenis pewarna (Gambar 3). Berdasarkan persentase dekolorisasi, *E. faecalis* menunjukkan kemampuan dekolorisasi tertinggi terhadap kedua pewarna, yaitu 80,03 ± 0,18% pada naftol merah dan 93,68 ± 0,81% pada naftol biru. *B. velezensis* IBLTT_1 menunjukkan persentase dekolorisasi sebesar 73,22 ± 1,12% pada naftol merah, tetapi hanya 30,73 ± 1,17% pada naftol biru. Sebaliknya, *B. cereus* IBLTT_5 menunjukkan persentase dekolorisasi sebesar 50,28 ± 1,34% pada naftol merah dan 66,96 ± 2,24% pada naftol biru.



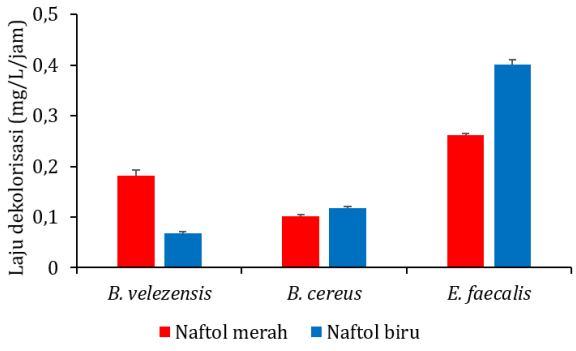
Gambar 3. Persentase Dekolorisasi Naftol Merah dan Naftol Biru oleh Tiga Strain Bakteri. Nilai Disajikan sebagai Rerata ± SD (n = 4)

Pola tersebut menunjukkan bahwa kemampuan dekolorisasi tidak hanya berbeda antarstrain, tetapi juga bergantung pada jenis pewarna. *E. faecalis* menunjukkan kemampuan yang relatif tinggi terhadap kedua pewarna, sedangkan *B. velezensis* IBLTT_1 menunjukkan perbedaan kemampuan yang cukup besar antara naftol merah dan naftol biru. *B. cereus* IBLTT_5 menunjukkan pola sebaliknya, dengan persentase dekolorisasi yang lebih tinggi pada naftol biru dibandingkan naftol merah.

Analisis *Two-Way ANOVA* menunjukkan bahwa strain bakteri, jenis pewarna, dan interaksi antara strain bakteri dan jenis pewarna berpengaruh signifikan terhadap persentase dekolorisasi (P < 0,001). Signifikannya interaksi antara kedua faktor menunjukkan bahwa respons dekolorisasi suatu strain tidak dapat dipisahkan dari jenis pewarna yang digunakan. Dengan demikian, perbedaan kemampuan dekolorisasi antarstrain perlu dipertimbangkan bersama dengan karakteristik masing-masing pewarna.

Selain persentase dekolorisasi, kemampuan dekolorisasi juga dievaluasi berdasarkan laju dekolorisasi (Gambar 4). *E. faecalis* menunjukkan laju dekolorisasi tertinggi terhadap kedua pewarna, yaitu 0,26 ± 0,005 mg/L/jam pada naftol merah dan 0,40 ± 0,01 mg/L/jam pada naftol biru. Laju dekolorisasi *B. velezensis* IBLTT_1 masing-masing sebesar 0,18 ± 0,01 mg/L/jam dan 0,07 ± 0,003 mg/L/jam untuk naftol merah dan naftol biru. Sementara itu, *B. cereus* IBLTT_5 menunjukkan laju dekolorisasi sebesar 0,10 ± 0,004 mg/L/jam pada naftol merah dan 0,12 ± 0,005 mg/L/jam pada naftol biru.

Analisis statistik terhadap laju dekolorisasi dilakukan setelah transformasi log10 untuk memenuhi asumsi homogenitas varians. Hasil *Two-Way ANOVA* menunjukkan bahwa strain bakteri, jenis pewarna, dan interaksi antara keduanya berpengaruh signifikan terhadap laju dekolorisasi (P < 0,05). Pada perbandingan antarstrain menggunakan koreksi Bonferroni, *E. faecalis* berbeda signifikan dari *B. velezensis* IBLTT_1 dan *B. cereus* IBLTT_5, sedangkan perbedaan antara *B. velezensis* IBLTT_1 dan *B. cereus* IBLTT_5 tidak signifikan (P = 0,962).



Gambar 4. Laju Dekolorisasi Naftol Merah dan Naftol Biru oleh Tiga Strain Bakteri. Nilai Disajikan sebagai Rerata ± SD (n = 4)

Efisiensi relatif dekolorisasi menunjukkan pola yang sejalan dengan laju dekolorisasi. *E. faecalis* memiliki efisiensi relatif tertinggi pada kedua pewarna, yaitu 98,05 ± 1,75% pada naftol merah dan 97,16 ± 2,42% pada naftol biru. Efisiensi relatif *B.*

© 2026, Program Studi Ilmu Lingkungan Sekolah Pascasarjana UNDIP

velezensis IBLTT_1 masing-masing sebesar 68,14 ± 4,16% dan 16,48 ± 0,78% pada naftol merah dan naftol biru, sedangkan *B. cereus* IBLTT_5 menunjukkan efisiensi relatif sebesar 38,01 ± 1,43% dan 28,30 ± 1,14%. Nilai efisiensi relatif tersebut menunjukkan posisi laju dekolorisasi masing-masing strain terhadap laju dekolorisasi maksimum yang diperoleh untuk masing-masing jenis pewarna.

3.3. Perbedaan Kemampuan Dekolorisasi Antarstrain dan Jenis Pewarna

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan kemampuan dekolorisasi antarstrain bakteri dan respons yang berbeda terhadap jenis pewarna. *E. faecalis* menunjukkan kemampuan dekolorisasi yang relatif tinggi terhadap kedua pewarna, dengan persentase dekolorisasi sebesar 80,03 ± 0,18% untuk naftol merah dan 93,68 ± 0,81% untuk naftol biru. Sebaliknya, *B. velezensis* IBLTT_1 menunjukkan persentase dekolorisasi yang lebih tinggi terhadap naftol merah (73,22 ± 1,12%) dibandingkan naftol biru (30,73 ± 1,17%), sedangkan *B. cereus* IBLTT_5 menunjukkan pola yang berlawanan, yaitu 50,28 ± 1,34% pada naftol merah dan 66,96 ± 2,24% pada naftol biru. Pola yang serupa juga terlihat pada laju dekolorisasi. Hasil analisis statistik yang menunjukkan adanya interaksi signifikan antara strain bakteri dan jenis pewarna memperkuat bahwa respons dekolorisasi bergantung pada kombinasi antara karakteristik strain dan pewarna yang digunakan.

Perbedaan kemampuan antarstrain dapat berkaitan dengan perbedaan karakteristik fisiologis dan metabolik masing-masing bakteri. Strain bakteri yang berbeda dapat memiliki kapasitas reduksi, sistem transfer elektron, kemampuan berinteraksi dengan molekul pewarna, serta toleransi terhadap senyawa pewarna yang berbeda. Literatur menunjukkan bahwa kemampuan dekolorisasi dapat bervariasi antarstrain dan dipengaruhi oleh kondisi fisiologis mikroorganisme serta karakteristik senyawa pewarna yang digunakan (Khan and Borah, 2024; Kumaravel and Shanmugam, 2024). Oleh karena itu, perbedaan persentase dan laju dekolorisasi yang diamati pada *B*. *velezensis* IBLTT_1, *B*. *cereus* IBLTT_5, dan *E. faecalis* kemungkinan mencerminkan perbedaan kapasitas masing-masing strain dalam berinteraksi dan mentransformasi pewarna pada kondisi penelitian.

Kemampuan *E. faecalis* yang relatif tinggi terhadap kedua pewarna juga memiliki kesesuaian dengan penelitian sebelumnya. *E. faecalis* R1107 dilaporkan mampu mendekolorisasi beberapa pewarna azo, yaitu Congo Red, Reactive Black 5, dan Direct Black 38, masing-masing sebesar 90,17%, 96,82%, dan 81,95% setelah inkubasi selama 48 jam (Wang et al. 2022). Meskipun demikian, hasil tersebut tidak dapat digunakan untuk menyimpulkan bahwa strain *E. faecalis* yang digunakan dalam penelitian ini memiliki mekanisme dekolorisasi yang sama dengan strain R1107 karena karakteristik strain dan pewarna yang digunakan berbeda.

Selain karakteristik bakteri, struktur kimia pewarna kemungkinan turut menentukan respons dekolorisasi. Perbedaan struktur, berat molekul, serta jenis dan posisi gugus fungsional pada molekul pewarna dapat memengaruhi interaksi pewarna dengan sel mikroba dan kerentanannya terhadap transformasi biologis. Reviu terbaru menunjukkan bahwa struktur dan konsentrasi pewarna merupakan faktor penting yang memengaruhi proses dekolorisasi dan degradasi oleh kultur bakteri; pewarna dengan struktur yang lebih kompleks dapat menunjukkan tingkat penghilangan warna yang berbeda dibandingkan pewarna dengan struktur yang lebih sederhana (Kumaravel and Shanmugam, 2024). Dalam penelitian ini, perbedaan respons IBLTT_1 dan IBLTT_5 terhadap naftol merah dan naftol biru menunjukkan kemungkinan adanya pengaruh karakteristik masing-masing pewarna terhadap kemampuan dekolorisasi strain.

Salah satu mekanisme biologis yang telah banyak dilaporkan dalam dekolorisasi pewarna azo adalah reduksi ikatan azo (–N=N–) yang dapat melibatkan enzim azoreduktase dan reduktase lainnya. Enzim-enzim tersebut dapat menggunakan donor elektron seperti NADH atau NADPH dalam proses reduksi ikatan azo (Aragaw, 2024a; Veluchamy et al. 2024). Selain mekanisme enzimatik, penghilangan warna oleh bakteri juga dapat melibatkan interaksi fisikokimia, termasuk biosorpsi pada permukaan sel. Literatur menunjukkan bahwa penghilangan warna oleh bakteri dapat melibatkan kombinasi antara adsorpsi pada biomassa dan transformasi biologis, dengan kontribusi masing-masing mekanisme yang dapat berbeda bergantung pada mikroorganisme dan pewarna (Khongthaw et al. 2024).

Namun, mekanisme tersebut belum dapat ditentukan secara spesifik pada ketiga strain yang digunakan dalam penelitian ini. Aktivitas azoreduktase atau enzim dekolorisasi lainnya tidak diukur, dan produk transformasi pewarna juga tidak diidentifikasi. Dengan demikian, keterlibatan reduksi ikatan azo, aktivitas azoreduktase, maupun biosorpsi dalam dekolorisasi yang diamati dalam penelitian ini hanya dapat dipandang sebagai kemungkinan yang didukung oleh literatur, bukan sebagai mekanisme yang telah dibuktikan secara eksperimental.

3.4. Keterbatasan Interpretasi Dekolorisasi

Penurunan konsentrasi pewarna yang diamati dalam penelitian ini menunjukkan terjadinya dekolorisasi, tetapi belum dapat digunakan sebagai bukti bahwa pewarna telah mengalami biodegradasi atau mineralisasi secara menyeluruh. Dekolorisasi menunjukkan hilangnya warna atau berkurangnya konsentrasi senyawa pewarna yang terdeteksi, sedangkan biodegradasi melibatkan transformasi molekul menjadi senyawa lain melalui aktivitas biologis. Pada pewarna azo, pemutusan ikatan azo

© 2026, Program Studi Ilmu Lingkungan Sekolah Pascasarjana UNDIP

dapat menghasilkan senyawa antara berupa amina aromatik yang memiliki karakteristik dan potensi toksisitas berbeda dari senyawa pewarna awal (Aragaw, 2024b; Goswami et al. 2024).

Dalam penelitian ini, dekolorisasi dievaluasi berdasarkan perubahan konsentrasi pewarna antara waktu awal dan setelah 48 jam menggunakan pengukuran spektrofotometri. Penelitian ini tidak mencakup identifikasi produk transformasi menggunakan teknik analitik seperti kromatografi atau spektrometri massa serta tidak mengukur aktivitas enzim yang diduga terlibat dalam proses dekolorisasi. Oleh karena itu, hasil penelitian ini lebih tepat diinterpretasikan sebagai kemampuan dekolorisasi ketiga strain terhadap naftol merah dan naftol biru, bukan sebagai bukti langsung terjadinya biodegradasi, mineralisasi, atau detoksifikasi pewarna.

Meskipun demikian, perbedaan persentase dan laju dekolorisasi yang diamati menunjukkan bahwa ketiga strain memiliki kemampuan yang berbeda dalam menghilangkan warna naftol merah dan naftol biru pada kondisi penelitian. Hasil ini dapat menjadi dasar untuk penelitian lanjutan yang menguji mekanisme dekolorisasi secara lebih spesifik melalui pengukuran aktivitas enzim, identifikasi produk transformasi, serta evaluasi perubahan toksisitas setelah perlakuan. Pendekatan tersebut diperlukan untuk membedakan penghilangan warna semata dari transformasi biologis yang menghasilkan produk akhir dengan toksisitas lebih rendah (Goswami et al. 2024).

4. KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa tiga strain bakteri yang diuji memiliki kemampuan dekolorisasi yang berbeda terhadap naftol merah dan naftol biru. *E. faecalis* menunjukkan kemampuan dekolorisasi tertinggi dan relatif konsisten terhadap kedua pewarna, sedangkan *B. velezensis* IBLTT_1 menunjukkan kemampuan lebih tinggi terhadap naftol merah dan *B. cereus* IBLTT_5 menunjukkan kemampuan relatif lebih tinggi terhadap naftol biru. Analisis statistik menunjukkan bahwa strain bakteri, jenis pewarna, serta interaksi antara keduanya berpengaruh terhadap persentase dan laju dekolorisasi. Hasil ini menunjukkan bahwa kemampuan dekolorisasi dipengaruhi oleh karakteristik strain dan jenis pewarna yang digunakan. Namun, penurunan konsentrasi pewarna yang diamati belum dapat digunakan untuk menyimpulkan terjadinya biodegradasi atau mineralisasi karena aktivitas enzim dan produk transformasi pewarna tidak dianalisis. Dengan demikian, ketiga strain terutama menunjukkan kemampuan dekolorisasi terhadap naftol merah dan naftol biru pada kondisi penelitian yang digunakan, dengan *E. faecalis* menunjukkan kemampuan paling tinggi di antara strain yang diuji.

DAFTAR PUSTAKA

Al-Garni, S.M., Ghanem, K.M., Kabli, S.A., and Biag, A.K., (2013), Decolorization of Crystal Violet by Mono and Bacterial Culture Techniques Using Optimized Culture Conditions. *Polish Journal of Environmental Studies,* 22(5), 1297-1306.

Aprilia, T., (2022), Pewarna Batik Zat Sintetis di Rumah Batik Pandan Mengurai Kota Sungai Penuh. *Gorga: Jurnal Seni Rupa*, 11(1), 2301-5942.

Aragaw, T.A., (2024)a, Potential and Prospects of Reductases in Azo Dye Degradation: A Review. *The Microbe*, 4, 100162.

Aragaw, T.A., (2024)b, A Review of Dye Biodegradation in Textile Wastewater, Challenges Due to Wastewater Characteristics, and the Potential of Alkaliphiles. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 16, 100493.

Benammar, H.S., Guergazi, S., Youcef, S., and Youcef, L., (2021), Removal of Congo Red and Naphthol Blue Black Dyes from Aqueous Solution by Adsorption on Activated Carbon. Characterization, Kinetic and Equilibrium in Nonlinear Models Studies. *Desalination and Water Treatment,* 221, 396-405.

Carrascal-Hernández, D.C., Orozco-Beltrán, E.J., Insuasty, D., Márquez, E., and Grande-Tovar, C.D., (2025), Systematic Evaluation of Biodegradation of Azo Dyes by Microorganisms: Efficient Species, Physicochemical Factors, and Enzymatic Systems. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(16), 7973

El Awady, M.E., El-Shall, F.N., Mohamed, G.E., Abd-Elaziz, A.M., Abdel-Monem, M.O., and Hassan, M.G., (2024), Exploring the Decolorization Efficiency and Biodegradation Mechanisms of Different Functional Textile Azo Dyes by *Streptomyces albidoflavus* 3MGH. *BMC Microbiology*, 24, 210.

Ferkous, H., Hamdaoui, O., and Merouani, S., (2015), Sonochemical Degradation of Naphthol Blue Black in Water: Effect of Operating Parameters. *Ultrasonics Sonochemistry, 26*, 40-47.

Goswami, D., Mukherjee, J., Mondal, C., and Bhunia, B., (2024), Bioremediaztion of Azo Dye: A Review on Strategies, Toxicity Assessment, Mechanisms, Bottlenecks and Prospects. *Science of The Total Environment*, 954, 176426.

Handayani, W., Meitiniarti, V.I., and Timotius, K.H., (2007), Decolorization of Acid Red 27 and Reactive Red 2 by *Enterococcus faecalis* Under a Batch System. *Word Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(9), 1239-1244.

Harsini, M., Suyanto, Y.G.Y., Rhodifasari, L., and Darmokoesomo, H., (2017), Electrochemical Degradation of Naphthol AS-BO Batik Dyes. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, 52(6), 1116-1122.

Hubbe, M.A., Beck, K.R., O'Neal, W.G., and Sharma, Y.C., (2012), Cellulosic Substrates for Removal of Pollutants from Aqueous Systems: A Review. 2. Dyes, *BioResources*, 7(2), 2592-2687.

Hsueh, C.C., Chen, B.Y., and Yen, C.Y., (2009), Understanding Effects of Chemical Structure on Azo Dye Decolorization Characteristics by *Aeromonas hydrophila*. *Journal of hazardous materials, 167*(1-3), 995-1001.

Khan, S., and Borah, D., (2024), Microbial Cell Factories in the Degradation of Azo-Dye and Their Limiting Factors: An Insight. *Cleaner Water*, 2, 100034.

© 2026, Program Studi Ilmu Lingkungan Sekolah Pascasarjana UNDIP

Khongthaw, B., Chauhan, P.K., Chishty, N., Kumar, D., Velmurugan, A., Singh, A., Bhtoya, R., Devi, N., Nene, A., Sadeghzade, S., and Ighalo, J.O., (2024), Aqueous Phase Textile Dye Degradation by Microbes and Nanoparticles: A Review. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2024, 8845873.

Kumaravel, R., and Shanmugam, V.K., (2024), Biomimetic and Ecological Perspective Towards Decolorization of Industrial Important Azo Dyes Using Bacterial Cultures – A Review. *Sustainable Chemistry for the Environment*, 7, 100130.

Meitiniarti, V.I., Napitupulu, M.M., and Timotius, K.H., (2004), Pertumbuhan Curah *Enterococcus faecalis* ID6017 dan Kemampuan Dekolorisasi Reactive Red-2 pada Medium yang Mengandung Gliserol. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 9(1), 19-24.

Meitiniarti, V.I, Timotius, K.H., Soetarto, E.S., and Sugiarto, E., (2012), Decolorization of Orange II by Mixed Culture of *Enterococcus faecalis* ID6017 and *Chryseobacterium indologenes* ID6016. *Microbiology Indonesia*, 6(3),117-123.

Moharrery, L., Ardestani, N.S., and Otadi, M., (2025), Bio Decolorization of the Oil Soluble Azo Dye Toluidine Red by *Halomonas* strain A3. *Scientific Reports*, 15(1), 33249.

OECD, (2017), *Use of Textile Dyes*. OECD Series on Emission Scenario Documents, No. 36. OECD Publishing, Paris.

Permatasari, I., Nugroho, R.A., and Meitiniarti, V.I., (2018), Dekolorisasi Pewarna Tekstil Sumifix Blue dan Reactive Red 2 oleh Mikroba yang Diisolasi dari Limbah Industri Tekstil. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 5(1), 2548-611.

Prakoso, T.H., Firda W., Annisa M.S., Yora F., and Happy. W., (2022), Dekolorisasi Pewarna Tekstil Menggunakan Teknik Batch dan Rotary Biological Contraktor Dengan Tiga Jenis Agen Hayati. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 32(3), 295-304.

Tripathi, M., Singh, S., Pathak, S., Kasaudhan, J., Mishra, A., Bala, S., Garg, D., Singh, R., Singh, P., Singh, P.K., Shukla, A K., and Pathak, N., (2023), Recent Strategies for the Remediation of Textile Dyes from Wastewater: A Systematic Review. *Toxics*, 11(11), 940.

Veluchamy, A., Jeyabalan, J., Singh, A., Narayanasamy, S., and Verma, A., (2024), A Review on Recent Insights of Azoreductases Mediated Dye Degradation: A Sustainable Approach for Bioremediation of Industrial Wastewater. *Journal of Water Process Engineering*, 68, 106403.

Wang, R., Li, H., Liu, Y., Chen, J., Peng, F., Jiang, Z., Liu, J., and Song, H., (2022), Efficient Removal of Azo Dyes by *Enterococcus faecalis* R1107 and Its Application in Simulated Textile Effluent Treatment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 238, 113577.

© 2026, Program Studi Ilmu Lingkungan Sekolah Pascasarjana UNDIP