



BioLink
Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, Kesehatan

Available online <http://ojs.uma.ac.id/index.php/biolink>

BIOTRANSFORMASI TARTRAZIN OLEH BAKTERI USUS MANUSIA

Biotransformation of Tartrazine by Human Intestine Bacteria

Melvariani Syari Batubara¹⁾ dan Nurmaini Ginting²⁾

^{1), 2)} Dosen Program Studi Pendidikan Biologi FKIP UMTS

*Corresponding author: E-mail: melya_smile@yahoo.com

Abstrak

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui bakteri usus yang dapat membiotransformasi tartrazin, untuk mengetahui dosis tartrazin yang dapat dibiotransformasi oleh bakteri usus manusia (*Streptococcus faecalis*, *Eschericia coli*, *Salmonella Sp.*, dan *Vibrio fischeri*), dan untuk mengetahui hubungan aktivitas bakteri dengan hasil biotransformasi tartrazin. Metode yang dipakai dalam penelitian ini adalah termasuk dalam penelitian eksperimen dengan metode signifikan korelasi untuk mengetahui kemampuan biotransformasi tartrazin oleh bakteri usus manusia. Pengukuran dilakukan satu kali dalam waktu yang bersamaan. Kegiatan yang dilaksanakan adalah pembuatan media bakteri, pembuatan suspensi bakteri usus manusia dan uji aktivitas bakteri usus manusia. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semua biakan bakteri usus manusia yang digunakan pada penelitian ini dapat membiotransformasikan pewarna tartrazin. Kemudian diperoleh juga hasil bahwa semakin tinggi dosis pewarna tartrazin maka semakin tinggi juga kemampuan biotransformasi bakteri usus manusia yang digunakan pada penelitian ini. Dosis pewarna tartrazin yang tertinggi adalah 15 mg, dan kemampuan biotransformasi bakteri usus manusia tertinggi adalah pada biakan bakteri *Vibrio sp.* dimana ditandai dengan rata-rata diameter zona hambatnya adalah 1,22 cm dan rata-rata luas zona jernihnya adalah 1,44 cm². Secara statistik menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada hubungan dosis tartrazin dan rata-rata luas zona jernih ($0,001 < P < 0,05$), namun secara statistik menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada hubungan biakan bakteri dan rata-rata luas zona jernih ($0,05 < P < 0,268$).

Kata Kunci: Tartrazine, Biotransformasi, Bakteri Usus Manusia

Abstract

The aimed of this research was to investigated human intestinal bacteria (*Streptococcus faecalis*, *Eschericia coli*, *Salmonella Sp.*, and *Vibrio fischeri*), to investigated dose of tartrazine, and to investigated biotransformation of tartrazine by human intestinal bacteria (*Streptococcus faecalis*, *Eschericia coli*, *Salmonella Sp.*, and *Vibrio fischeri*). The method of this research was experiment with significant correlation to investigated biotransformation of tartrazine by human intestinal bacteria (*Streptococcus faecalis*, *Eschericia coli*, *Salmonella Sp.*, and *Vibrio fischeri*). This study is primarily focussed on made bacteria medium, made standart inoculums of bacteria, and evaluation for activity of human intestinal bacteria (*Streptococcus faecalis*, *Eschericia coli*, *Salmonella Sp.*, and *Vibrio fischeri*). The results obtained were attributed to the human intestinal bacteria was used in this research was biotransformed tartrazine. From the results that had been increase dose of tartrazine correlation with increase biotransformation by human intestinal bacteria. Highest dose of tartrazine was 15 mg, and highest biotransformation by *Vibrio fischeri*, which rate of zone decolourisation diameter was 1,22 cm, and rate of zone decolourisation was 1,44 cm². Statistically showed significantly in correlation dose of tartrazine with rate of zone decolourisation ($0,001 < P < 0,05$), but statistically showed non significantly in correlation bacteria with rate of zone decolourisation ($0,05 < P < 0,268$).

Keywords: Tartrazine, Biotransformation, Human Intestinal Bacteria

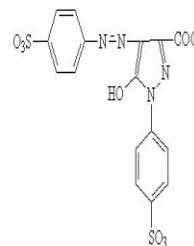
How to Cite: Batubara, M.S., dan Ginting, N, (2018), Biotransformasi Tartrazin oleh Bakteri Usus Manusia, *BioLink*, Vol. 4 (2), Hal. 101-111

PENDAHULUAN

“The Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food” menyediakan opini ilmiah evaluasi kembali keamanan dari tartrazin (E 102). Tartrazin sebelumnya dievaluasi oleh “Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)” pada 1966 dan “EU Scientific Committee for Food (SCF)” pada 1975 dan 1984. Kedua komite ditetapkan “Acceptable Daily Intake” (ADI) adalah 0-7.5 mg/kg bb/hari. Panel tidak disediakan dengan dosis terbaru yang diajukan dan didasarkan evaluasi itu pada evaluasi sebelumnya, tambahan literatur menjadi dimanfaatkan sejak itu dan data dimanfaatkan mengikuti panggilan publik untuk data (European Food Safety Authority (EFSA) Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS), 2009).

Panel mencatat bahwa tartrazin negatif pada studi karsinogenisitas jangka panjang dan efek pada migrasi DNA inti diobservasi pada tikus *in vivo Comet assay* tidak diharapkan pada hasil dalam karsinogenisitas (European Food Safety Authority (EFSA) Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS), 2009).

Panel menyimpulkan bahwa pada level penggunaan dilaporkan, disaring masukan estimasi adalah dibawah ADI. Panel menyimpulkan bahwa tartrazin kelihatan dapat menarik reaksi intoleransi pada dalam fraksi kecil pada populasi terbuka. Panel juga mencatat bahwa tartrazin sensitivitas individual dapat bereaksi dengan tartrazin pada level dosis dalam ADI (European Food Safety Authority (EFSA) Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS), 2009).



Gambar 1. Struktur kimia Tartrazin menunjukkan kelompok azo (N=N)

Masalah pewarna terutama tartrazin sebenarnya telah banyak diteliti. Meskipun demikian penelitian tersebut belum mengungkap bagaimana efek kesehatan yang merugikan khususnya pada sistem pencernaan manusia. Pewarna, konstituen penting dari makanan, sangat diperlukan untuk konsumen modern sebagai sarana untuk identifikasi cepat dan penerimaan utama dari makanan. Sebuah jumlah tinjauan tentang toksikologi dari alam dan pewarna sintesis, terutama yang digunakan dalam makanan, telah muncul sejak zat warna menjadi potensi tersangka untuk menyebabkan kanker. Sejumlah besar pewarna alami atau sintesis telah dihapus dari kedua daftar nasional dan internasional pewarna makanan diizinkan karena aktivitas mutagenik atau karsinogenik mereka. Untuk sebagian besar zat aditif makanan JECFA/FAO telah ditetapkan "Admissible Daily Intake Dose" (ADI), yang sering sementara dan menekankan perlunya untuk evaluasi genotoksik lanjut, karena beberapa dari mereka dilaporkan menjadi genotoksik di bawah dosis ADI. Di India, masalahnya adalah berat karena terlepas dari regulasi dan pembatasan oleh "Prevention of Food Adulteration Act of 1954", penggunaan pewarna makanan tidak diizinkan

adalah lazim. Kami telah menguji efek mutagenik dan genotoksik amaranth, dan tartrazine memanfaatkan *Ames Mutagenicity Assay* dan *in vivo assay* sumsum tulang tikus. *Salmonella typhimurium* TA97a, TA98 dan TA100 telah digunakan untuk *Ames Mutagenicity Assay* tanpa aktivasi metabolik. Pewarna itu dilarutkan dalam air steril suling ganda pada konsentrasi yang berbeda (10, 100, 250, 500 dan 1000 µg/plate). Untuk pengujian genotoksitas empat hewan per dosis diberikan intra peritoneal dengan dosis yang berbeda dari amaranth atau tartrazine (50, 100 dan 200 µg/kg berat badan). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan pembatasan protokol diikuti, pewarna yang ditemukan menjadi tidak mutagenik dan tidak genotoksik (Das & Mukherjee, 2006).

Pewarna lemon kuning azo tartrazin digunakan secara luas dalam makanan dan persiapan obat. Hal ini disetujui untuk digunakan di banyak tapi tidak semua negara dan ada bukti efek samping pada beberapa individu. Pengurangan metabolik ikatan azo telah dibuktikan oleh bakteri usus dari tikus dan manusia tapi pewarna dianggap tidak menyeberang dinding usus. Bukti terbaru bahwa beberapa pewarna makanan sintesis dapat diserap oleh individu dengan peningkatan permeabilitas usus menimbulkan pertanyaan metabolisme tartrazin oleh enzim jaringan tubuh. Menggunakan enzim haloperoksidase dari *Corallina officinalis* sebagai model enzim, kami telah menunjukkan bahwa, dengan adanya enzim, hidrogen peroksida dan kalium bromida, tartrazin adalah biotransformator. Menghilangkan

komponen dari campuran inkubasi atau mengganti enzim haloperoksidase *Corallina* oleh *horse-radish peroxidase* mencegah biotransformasi. Reaksi ini diblokir oleh glutation tereduksi, metionin, NADH dan vitamin C. Pewarna terhalogenasi *Lissamine Fast Yellow* juga biotransformator kondisi ini menunjukkan bahwa biotransformasi yang tidak harus brominasi zat warna. Bukti disajikan untuk menunjukkan bahwa katalis haloperoksida yang oksidasi tartrazin ke radikal bebas melalui produksi asam hipobromus. Enzim haloperoksidase *Corallina* dapat digantikan oleh enzim mieloperoksidase manusia. Implikasi dibahas (Jervis & Northcott, 2006).

Biotransformasi pewarna makanan (Tartrazin dan Quinoline kuning) oleh *Streptococcus faecalis* dan *Escherichia coli* yang diisolasi dari mikroflora usus manusia diselidiki. Biotransformasi media mengandung pewarna digunakan sebagai indeks dari biotransformasi. Biotransformasi lebih tinggi di bawah kondisi aerobik dibandingkan dalam kondisi anaerob. Hasil yang diperoleh dikaitkan dengan organisme sitosol *flavin-dependent reduktase* dan reaksi redoks setara dihasilkan oleh metabolisme amilum terlarut yang mentransfer elektron ke kelompok kromoforik dari pewarna. Risiko kesehatan potensial dari metabolit pewarna yang dihasilkan (amina aromatik) sedang diselidiki (Oranusi & Njoku, 2006).

Flora usus membentuk ekosistem kompleks yang memetabolisme nutrisi makanan dan endogen dalam kondisi terutama anaerobik. Penyerapan pewarna azo telah diusulkan sebagai salah satu sumber potensial agen

genotoksik. Banyak bakteri usus dapat mengurangi ikatan azo (disebut azofission), yang membebaskan senyawa naftol tersubstitusi. Tes Ames standar belum menunjukkan mutagenisitas baik oleh berbagai umum pewarna makanan atau produk akhir mereka berkurang di *Salmonella typhimurium* strain TA98 dan TA100. Sebaliknya, toksisitas genetik ditunjukkan dalam *Escherichia coli* uji diferensial membunuh dan *S. typhimurium* TA 102 untuk pewarna berkurang. Radikal bebas superoksida diproduksi oleh ikatan azo yang pewarna hanya setelah pengurangan oleh bakteri usus *Enterococcus faecalis* dan *Bacteroides thetaiotaomicron* (Sweeney *et al.*, 2006).

Sementara itu, pewarna azo secara luas digunakan dalam industri tekstil, percetakan, pembuatan kertas, farmasi, dan industri makanan dan juga di laboratorium penelitian. Ketika senyawa ini baik sengaja atau dengan desain masuk ke dalam tubuh melalui konsumsi, mereka dimetabolisme untuk metabolit amina aromatik oleh mikroorganisme usus. Enzim reduktif dalam hati juga dapat mengkatalisis pembelahan reduktif dari hubungan ikatan azo untuk menghasilkan metabolit amina aromatik. Namun, bukti menunjukkan bahwa enzim azoreduktase mikroba usus mungkin lebih penting daripada enzim hati dalam pengurangan ikatan azo (Chung *et al.*, 2006).

Kegiatan enzim azoreduktase di berbagai persiapan usus dipengaruhi oleh berbagai faktor makanan seperti selulosa, protein, serat, antibiotik, atau suplementasi dengan kultur hidup laktobasilus (Chung *et al.*, 2006).

Berbagai macam bakteri anaerob yang diisolasi dari isi sekum atau kotoran dari hewan percobaan dan manusia memiliki kemampuan untuk membelah banyak ikatan azo untuk menghasilkan metabolit amina aromatik. Banyak enzim azoreduktase mengkatalisis reaksi ini dan telah ditemukan untuk menjadi oksigen sensitif dan memerlukan flavin untuk kegiatan yang optimal (Chung *et al.*, 2006).

Toksistas C. I. Reactive Black 5 dan pewarna three Procion, seperti yang ditemukan dalam limbah tekstil, ditentukan dengan menggunakan bioluminesent bakteri *Vibrio fischeri*. Dihidrolisis Reactive Black memiliki toksistas yang sedikit lebih besar dari bentuk induk (EC_{50} $11,4 \pm 3,68$ dan $27,5 \pm 4,01$ $mg\ l^{-1}$, masing-masing). Sebuah bioreaktor bingung dengan kondisi anaerob dan kondisi kompartemen aerobik digunakan untuk biotransformasi dihidrolisis Reactive Black 5 dalam limbah sintesis. Biotransformasi dari dihidrolisis Reactive Black mengakibatkan peningkatan toksistas (EC_{50} $0,2 \pm 0,03$ $mg\ l^{-1}$). Toksistas tidak terdeteksi ketika biotransformasi Reactive Black 5 telah dimetabolisme dalam kondisi aerobik. Tidak ada genotoksistas terdeteksi setelah biotransformasi baik tetua atau pewarna reaktif dihidrolisis, baik *in vitro* atau dalam bioreaktor. Toksistas dan genotoksistas biotransformasi C. I. Acid Orange 7 adalah karena produksi 1-amino-2-naftol (EC_{50} $0,1 \pm 0,03$ $mg\ l^{-1}$) (Gottlieb *et al.*, 2006).

Berdasarkan uraian di atas dan dilandasi oleh keingintahuan peneliti dalam mengungkapkan suatu penyelidikan tentang implikasi tartrazin

untuk dibiotransformasikan oleh bakteri usus manusia maka peneliti tertarik menyajikan dan memilih topik penelitian yaitu Biotransformasi Tartrazin Oleh Bakteri Usus Manusia (*Streptococcus faecalis*, *Eschericia coli*, *Salmonella Sp.*, dan *Vibrio fischeri*).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimen dengan metode yang akan digunakan adalah metode signifikan korelasi untuk mengetahui kemampuan biotransformasi tartrazin oleh bakteri usus manusia. Pengukuran dilakukan satu kali dalam waktu yang bersamaan.

Tahapan Penelitian

Sterilisasi Kering

- Alat-alat gelas (petridish, tabung reaksi, erlenmeyer, dll) yang akan disterilkan dibungkus dengan kertas.
- Peralatan tersebut dimasukkan ke dalam oven. Suhu dan waktu diatur pada suhu 180°C selama 2 jam. Tombol tenaga dihidupkan.
- Setelah 2 jam, suhu diturunkan dan tombol tenaga dimatikan
- Peralatan yang telah disterilkan tersebut diambil dari oven dan diletakkan pada tempat yang bersih.

Pembuatan Media Bakteri

- Tentukan jumlah media yang diperlukan. Perkirakan banyaknya tabung reaksi dan cawan petri yang diperlukan. Hitung jumlah tepung media dan akuades berdasarkan formula sebanyak yang diperlukan.
- Sobek/potong sedikit aluminium foil sebagai wadah tepung media.
- Gunakan spatula kering untuk mengambil tepung, lalu tepung ditimbang.

- Tekuk aluminium foil segera setelah penimbangan dan beri tanda.
- Dengan hati-hati pindahkan tepung yang sudah ditimbang ke dalam erlenmeyer/beaker glass dengan spatula. Bilas spatula dengan akuades di atas erlenmeyer/beaker glass.
- Tambahkan akuades secara perlahan-lahan, goyang erlenmeyer untuk melarutkan tepung dengan akuades.
- Homogenkan media dalam erlenmeyer/beaker glass dengan meletakkannya di atas hot plate sekitar 15 menit, aduk terus dengan menggunakan pengaduk magnet (magnetic stirrer).
- Masukkan cairan media ke dalam tabung reaksi, dan tutup dengan sumbat kapas.
- Media kultur segera disterilisasi dalam autoklaf.
- Setelah proses sterilisasi, biarkan hingga mengeras/memadat.
- Untuk membuat media cawan, dinginkan agar hingga 45°C dengan cara mengalirkan air di sisi luar erlenmeyer/beaker glass. Hangatnya agar dapat dirasakan dengan kulit lengan. Buka tutup erlenmeyer sambil memanaskan mulut erlenmeyer dengan lampu Bunsen.
- Buka tutup cawan petri (lakukan di dekat bunsen) dan tuangkan media secukupnya ke dalam cawan petri. Tutup kembali cawan petri dan dipanaskan sisinya dengan lampu bunsen. Panaskan juga mulut erlenmeyer sebelum ditutup kembali.
- Susun cawan petri dan selotip untuk menghindari masuknya serangga kecil. Media sangat baik diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam untuk memeriksa ada tidaknya kontaminasi.

Dosis Eksperimen :

- Kontrol akuades (P0)
- Perlakuan dengan dosis 3,75 mg tartrazin (P1)
- Perlakuan dengan dosis 7,5 mg tartrazin (P2)
- Perlakuan dengan dosis 15 mg tartrazin (P3)

Dosis 7,5 mg/kg/berat badan/hari ini berdasarkan "Joint FAO/WHO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations/World Health Organisation)". Ahli "Committee on Food Additives" dan "Acceptable Daily Intake".

Kelompok	Dosis Tartrazin (mg)
<u>Kontrol :</u>	
P0	0
<u>Perlakuan :</u>	
P1	3,75
P2	7,5
P3	15

Kelompok kontrol dan kelompok perlakuan masing-masing terdiri dari 3 ulangan.

Jumlah ulangan untuk tiap kelompok perlakuan ditentukan dengan menggunakan rumus Federer yaitu : $(t-1)(n-1) \geq 15$, dimana :
 t = jumlah perlakuan
 n = jumlah ulangan
 (Chairul dkk, 1996).

$$Luas\ zona\ jernih = \frac{Diameter\ zona\ hambat - Diameter\ cakram}{Diameter\ cakram}$$

Diameter cakram = 0,5 cm

Pembuatan Suspensi Bakteri

Diambil 1 ose biakan, lalu dimasukkan ke dalam 10 ml akuades steril, lalu di vorteks. Kemudian dibandingkan dengan kekeruhan *Mc Farland* ($10^8\ cfu$). Jika belum sama kekeruhan, ditambah lagi bakterinya sampai benar-benar sama dengan *Mc Farland*.

Uji Aktivitas Bakteri

Diambil cakram kosong (*blank disk*) lalu dimasukkan ke dalam suspensi biakan. Lalu diletakkan di dalam media yang telah dilakukan perlakuan. Dilakukan 3x pengulangan. Lalu diamati zona bening di sekitar cakram, lalu diukur zona hambat tersebut.

Pengujian dengan menggunakan Blank Disk (Kirby-Bauer)

Uji dilakukan dengan cara difusi agar menggunakan *blank disk* (cakram). Isolat bakteri patogen dibuat menjadi suspensi *Mc Farland*, yaitu setara dengan $10^8\ sel/cfu$. Kemudian media yang telah dimodifikasi (dengan penambahan pewarna makanan) dituang ke dalam plate. Selanjutnya diletakkan disk (cakram) yang telah dicelupkan ke dalam suspensi bakteri di bagian tengah plate. Diinkubasi 1 sampai 2 x 24 jam. Diamati degradasi zat warna yang terbentuk dengan adanya zona jernih di sekitar disk (cakram). Diukur luas zona jernih yang terbentuk.

Teknik Analisis Data

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial. Teknik analisa data secara statistik dilakukan dengan ANOVA dan menggunakan komputer (SPSS 15).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

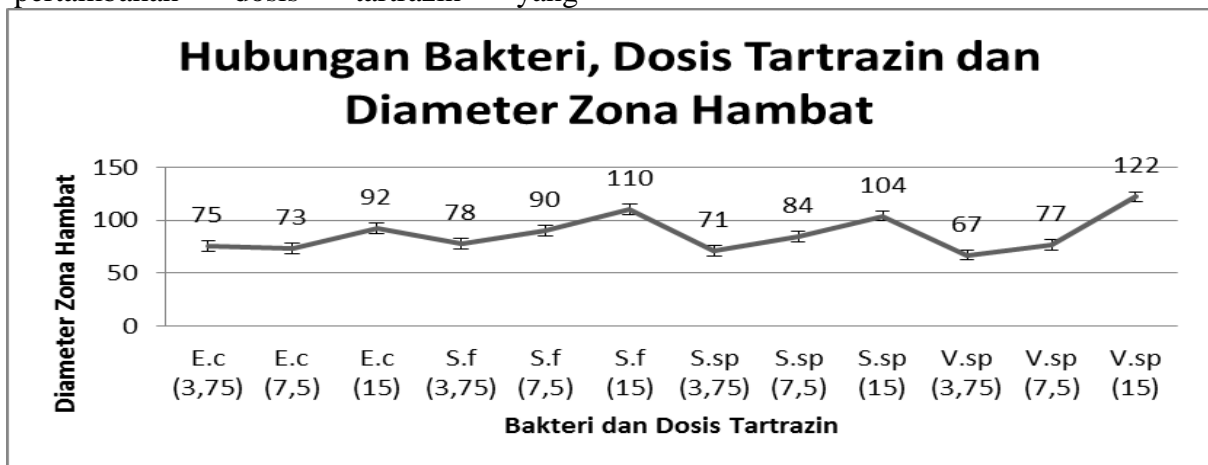
Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat biakan bakteri, maka diperoleh hasil rata-rata diameter zona hambat biakan bakteri, yang terdapat pada Tabel 1. berikut ini :

Tabel 1. Rata-rata Diameter Zona Hambat (cm) Biakan Bakteri

Bakteri	Tartrazin (mg)		
	3,75	7,5	15
<i>Eschericia coli</i>	0,72	0,73	0,92
<i>Streptococcus faecalis</i>	0,78	0,9	1,1
<i>Salmonella sp.</i>	0,71	0,84	1,04
<i>Vibrio fischeri</i>	0,67	0,77	1,22

Hasil analisis pengukuran rata-rata diameter zona hambat biakan bakteri yang telah dilakukan terhadap faktor biakan bakteri dan dosis tartrazin didapat terjadinya peningkatan rata-rata diameter zona hambat biakan bakteri seiring dengan penambahan dosis tartrazin yang

digunakan. Selain itu dari Tabel 1. dapat dilihat bahwa zona hambat ada pada semua biakan bakteri dengan rata-rata diameter yang bervariasi.



Gambar 2. Hubungan Bakteri, Dosis Tartrazin dan Diameter Zona Hambat

Keadaan ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan hasil aktivitas biakan bakteri dengan kemampuan biotransformasi tartrazin oleh biakan bakteri. Rata-rata

diameter zona hambat tertinggi terjadi pada dosis tartrazin 15 mg dan biakan bakteri *Vibrio fischeri* yaitu 1,22 cm, dapat dilihat pada Gambar 2. berikut ini :

Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat biakan bakteri dan perhitungan dengan menggunakan rumus luas zona jernih, maka diperoleh hasil rata-rata luas zona jernih biakan bakteri, yang terdapat pada Tabel 2. berikut ini :

Tabel 2. Rata-rata Luas Zona Jernih Biakan Bakteri

Bakteri	Tartrazin (mg)
	3,75
<i>Eschericia coli</i>	0,45 ± 0,93
<i>Streptococcus faecalis</i>	0,57 ± 0,93
<i>Salmonella sp.</i>	0,41 ± 0,93
<i>Vibrio fischeri</i>	0,35 ± 0,93

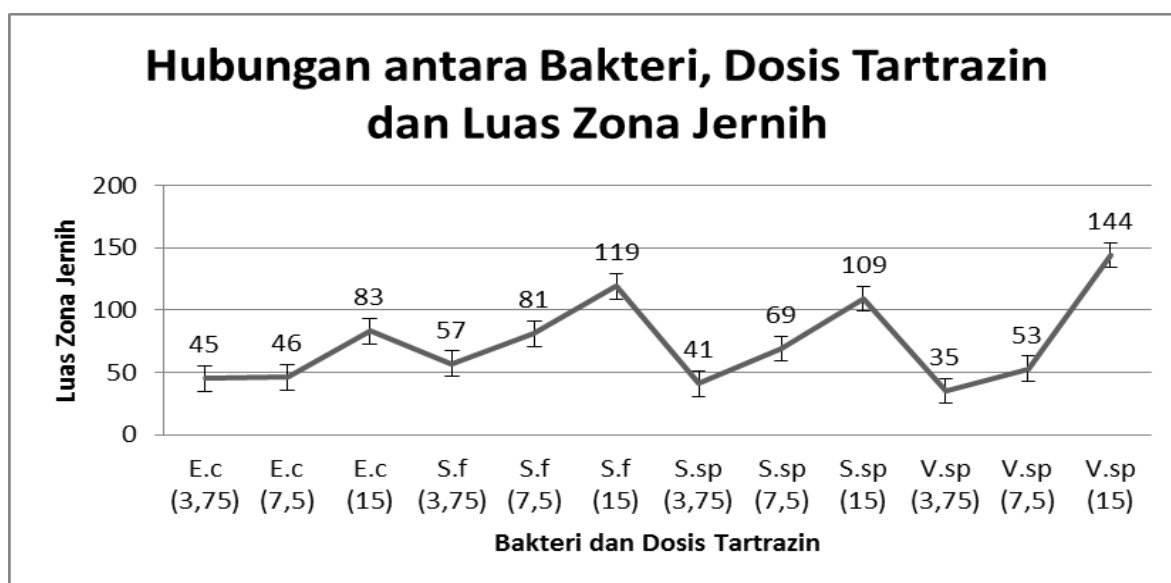
Ket : Mean ± SD (Standard Deviation)

P = 0,001 < 0,06 < 0,268

SEM (Standard Error of Mean) = 0,1

dengan menggunakan rumus, yang telah dilakukan terhadap faktor biakan bakteri dan dosis tartrazin didapat terjadinya peningkatan rata-rata luas zona jernih biakan bakteri seiring dengan pertambahan dosis tartrazin yang digunakan. Selain itu dari Tabel 2. dapat dilihat bahwa zona jernih ada pada semua biakan bakteri dengan luas yang bervariasi. Keadaan ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan hasil aktivitas biakan bakteri dengan kemampuan biotransformasi tartrazin oleh biakan bakteri. Rata-rata luas zona jernih tertinggi terjadi pada dosis tartrazin 15 mg dan biakan bakteri *Vibrio fischeri* yaitu 1,44 cm², dapat dilihat pada Gambar 3. berikut ini :

Hasil analisis pengukuran rata-rata luas zona jernih biakan bakteri



Gambar 3. Hubungan antara Bakteri, Dosis Tartrazin dan Luas Zona Bersih

Pada hasil penelitian, dari Tabel 4. dapat diketahui bahwa dosis pewarna tartrazin yang tertinggi yang dapat dibiotransformasikan oleh bakteri usus manusia adalah 15 mg. Sedangkan biakan bakteri usus manusia yang paling tinggi kemampuan membiotransformasikan pewarna tartrazin adalah *Vibrio sp.* yang ditandai dengan rata-rata luas zona jernih yang terbesar yaitu $1,44 \pm 0,25$.

Hasil analisis data penelitian secara ANOVA yang telah dilakukan pada hubungan antara dosis tartrazin terhadap rata-rata luas zona jernih biakan bakteri didapat Fhitung 15,97, dan tidak memperlihatkan pengaruh yang berarti (signifikan) ($0,001 < P < 0,05$). Hasil analisis data penelitian secara ANOVA yang telah dilakukan pada hubungan biakan bakteri terhadap rata-rata luas zona jernih biakan bakteri didapat Fhitung 0,268, dan tidak memperlihatkan pengaruh yang berarti (signifikan) ($0,05 < P < 0,847$) (Lampiran 5).

Hubungan diameter zona hambat biakan dan luas zona jernih biakan bakteri sesuai hukum mekanika adalah diameter berbanding lurus dengan luas permukaan. Secara umum peningkatan rata-rata diameter zona hambat biakan bakteri ini dapat meningkatkan rata-rata luas zona jernih biakan bakteri.

Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian ditemukan bahwa semakin tinggi dosis pewarna tartrazin maka semakin tinggi juga kemampuan biotransformasi bakteri usus manusia yang digunakan pada penelitian ini. Dosis pewarna tartrazin yang tertinggi adalah 15 mg, dan kemampuan biotransformasi

bakteri usus manusia tertinggi adalah pada biakan bakteri *Vibrio sp.* dimana ditandai dengan rata-rata diameter zona jernihnya adalah 1,22 cm dan rata-rata luas zona jernihnya adalah $1,44 \text{ cm}^2$.

Dengan kata lain semua jenis biakan bakteri usus manusia dapat membiotransformasikan pewarna makanan tartrazin. Hasil penelitian tersebut, didukung oleh penelitian Sweeney *et al.* (2006), menyatakan bahwa senyawa azo adalah pewarna sintesis yang paling umum yang digunakan dalam makanan, farmasi, dan industri kosmetik. Juga dikenal sebagai pewarna tar batubara, mengandung cincin aromatik yang dihubungkan oleh ikatan azo ke cincin naftalena atau benzena kedua. Masalah pewarnaan makanan sintesis memasuki saluran usus dikarenakan adanya asam, enzim pencernaan, dan mikroflora. Senyawa azo bisa mencapai usus langsung setelah dikonsumsi secara oral atau melalui empedu setelah pemberian parenteral. Pewarna makanan sintesis dikurangi dengan reduktase azo dari bakteri usus, dan pada tingkat yang lebih rendah, oleh enzim dari fraksi sitosolik dan mikrosomal hati. Langkah katabolik pertama mereduksi pewarna azo, yang diiringi dengan penurunan absorbansi cahaya yang terlihat dan kemudian biotransformasi pewarna makanan sintesis, adalah pengurangan ikatan azo untuk menghasilkan amina aromatik.

Hasil penelitian Oranusi & Njoku (2006), menunjukkan bahwa pewarna azo terdiri dari amina diazotisasi yang digabungkan ke amina atau fenol dan mengandung satu atau lebih ikatan azo. Pewarna azo terdiri dari sekitar 60-70% dari total konsumsi pewarna, yang menyiratkan kejadiannya yang luas

pada pewarna makanan sintetis. Perkiraan pewarna azo yang saat ini digunakan bervariasi antara 2.000-3.000 dan banyak digunakan dalam makanan, kosmetik, industri farmasi sebagai pewarna atau untuk pencelupan di industri tekstil dan kulit. Tingkat penggunaannya dalam hal ini industri terkait dengan tingkat industrialisasi. Biotransformasi pewarna azo oleh mikroba usus manusia telah dilaporkan.

Hasil penelitian Das & Mukherjee (2006), menunjukkan bahwa Tartrazine (FD & C Yellow No.5), adalah pewarna monoazo digunakan sebagai aditif makanan di banyak negara. Ini pewarna populer digunakan sebagai pewarna makanan, obat-obatan dan produk industri manufaktur, ditujukan untuk konsumsi manusia.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan : (1) Semua biakan bakteri usus manusia yang digunakan dalam penelitian ini dapat membiotransformasi pewarna tartrazin yaitu *Streptococcus faecalis*, *Eschericia coli*, *Salmonella Sp.*, dan *Vibrio fischeri*, (2) Bakteri usus manusia yang dapat membiotransformasi pewarna tartrazin tertinggi adalah *Vibrio fischeri* dengan rata-rata luas zona jernihnya yaitu 1,44 cm², (3) Dosis pewarna tartrazin yang paling efektif yang dapat dibiotransformasi oleh bakteri usus manusia (*Streptococcus faecalis*, *Eschericia coli*, *Salmonella Sp.*, dan *Vibrio fischeri*) adalah 15 mg, (4) Hubungan aktivitas bakteri usus manusia dengan hasil biotransformasi pewarna tartrazin adalah semakin tinggi dosis pewarna tartrazin yang digunakan maka semakin

luas zona jernih biakan bakteri usus manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Blakeman, D. 2009. Tartrazine. Blends Colour And Flavours For Food & Drink.
- Chairul, M. Harapini, dan Y. Daryati. 1996. Pengaruh Ekstrak Kencur (*Kaempferia galanga L.*) Terhadap Kehamilan Mencit Putih (*Mus musculus*). Seminar Nasional Indonesia IV. Jakarta ; Lab. Treub Puslitbang Biologi LIPI, Bogor dan Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus 1945
- Chung, King-Thorn, S.E. Stevens and C. E. Cerniglia. 2006. The Reduction of Azo Dyes by the Intestinal Microflora. *Critical Reviews in Microbiology*. 18 (3) : p. 175-190.
- Das, A and A. Mukherjee. 2006. Genotoxicity Testing of the Food Colours Amaranth and Tartrazine. *Int. J. Hum. Genet.* 4 (4) : p. 277-280.
- Dwidjoseputro, D. 2010. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Penerbit Djambatan : Malang.
- Edicol Colour. 2009. Tartrazine. European Food Safety Authority (EFSA) Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). 2009. Scientific Opinion on the re-evaluation Tartrazine (E 102). *EFSA Journal*. 7 (11) : p. 1331. Flavour Master Limited. 2009. Tartrazine.
- Gottlieb, A., C. Shaw, A. Smith, A. Wheatly and S. Forsythe. 2006. The Toxicity of Textile Reactive Azo Dyes after Hydrolysis and Decolourisation. *Journal of Biotechnology*. 101 (1) : p. 49-56.
- Jervis, L. and C. Northcott. 2006. Metabolism of Tartrazine by Haloperoxidase.
- McCann, J., Ames, B. N., Yamasaki, E. 2007. Methods for Detecting Carcinogens and Mutagens with Salmonella Mammalian Microsome Mutagenicity Test. *Mutat. Res.* 31 : p. 347-364.
- Nakayama, T., Kimura, T., Kodama, M., and Nagata, C. 2007. Generation of Hydrogen Peroxide and Superoxide Anions from Active Metabolites of Naphthalamines and Aminoazo Dyes : Its Possible Role in Carcinogenesis. *Carcinogenesis*. 4 : p. 765-769.
- Oranusi, N. A. and Njoku, H. O. 2006. Biotransformation of Food Dyes by Human Intestinal Bacteria (*Streptococcus faecalis*, *Eschericia coli*). *J. Appl. Sci. Environ. Mgt.* 10 (2) : p. 159-163.

- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 2010. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Penerbit Universitas Indonesia : Jakarta.
- Sasaki, Y. F., Kawaguchi, S., Kayama, A., Ohshita, M. Kabasawa, K. and Iwama, K. 2007. The Comet Assay with 8 Mouse Organs : Results with 39 Currently Used Food Additives. *Mutat. Res.* 519 : p. 103-109.
- Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2010. Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran. Edisi Revisi. Penerbit Binarupa Aksara : Jakarta.
- Sweeney, E. A., J. K. Chipman and S. J. Forsythe. 2006. Evidence for Direct-acting Oxidative Genotoxicity by Reduction Product of Azo Dyes. *Environ. Health Perspect.* 102 (6) : p. 119-122.
- Tanaka, T. 2007. Reproductive and Neurobehavioral Toxicity Study of Tartrazine Administered to Mice in the Diet. *Food and Chemical Toxicology Journal.* 1 (1) : p. 1-9.
- The South African Association For Food Science And Technology. 2009. Tartrazine.
- Batubara, M.S., Siregar, Y., Rusmarilin, H., Soviani, S., Febriani, H., 2017, Hubungan Kadar Tartrazin dan Senag (ZN) Dalam Darah Pada Anak Penderita Defisit Perhatian dan Gangguan Hiperaktivitas (ADHD), *BioLink*, Vol. 4 (2): Hal. 1-10.