

**IDENTIFIKASI KEBERAGAMAN BAKTERI PADA COMMERCIAL-  
SEED PENGOLAH LIMBAH CAIR CAT****IDENTIFICATION OF COMMERCIAL-SEED BACTERIA FOR PAINT  
LIQUID WASTE TREATMENT****Bening Mayanti<sup>1</sup> dan Herto Dwi Ariesyady<sup>2</sup>**  
Program Studi Teknik LingkunganFakultas Teknik Sipil dan Lingkungan, Institut Teknologi Bandung, Jl Ganesha 10 Bandung 40132  
<sup>1</sup>bening.mayanti@gmail.com dan <sup>2</sup>herto@ftsl.itb.ac.id

**Abstrak :** Pengolahan secara biologis merupakan pengolahan yang efektif dan efisien dalam mendegradasi materi organik dengan prinsip memanfaatkan aktivitas mikroorganisme untuk menguraikan/memecahkan senyawa kimia yang terkandung dalam air buangan menjadi bentuk yang lebih sederhana, dengan kata lain. mikroorganisme memegang peranan penting dalam proses biologis. Bakteri yang digunakan dapat berupa commercial seed maupun bakteri yang secara alami tumbuh pada suatu limbah. Untuk itulah, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari keragaman bakteri yang terdapat dalam commercial seed pengolah limbah cair cat dengan menggunakan metode isolasi dan pewarnaan Gram serta metoda konvensional menggunakan serangkaian uji biokimia. Identifikasi bakteri pendegradasi cat perlu dilakukan karena sekitar 10.000 zat warna dan pigmen yang berbeda digunakan untuk keperluan industri. Isolat yang didapat terdiri atas bakteri gram positif Genus *Bacillus*. Pada penelitian ini berhasil diidentifikasi spesies dari bakteri yang terdapat pada commercial seed tersebut, yaitu *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, dan *Bacillus cereus*. Keberadaan bakteri-bakteri tersebut menunjukkan proses pengolahan yang menggunakan bakteri konsorsium yang setiap bakterinya memiliki pola pertumbuhan yang berbeda dalam media Nutrient Broth. Hal tersebut ditunjukkan oleh perbedaan kurva pertumbuhan yang ditandai waktu generasi(g), yaitu waktu yang diperlukan untuk memperbanyak diri sebanyak dua kali lipat, yang berbeda dan dengan konstanta laju pertumbuhan (k) yang nilainya berbeda pula baik untuk kultur murni maupun kultur campuran. Waktu generasi dan konstanta laju pertumbuhan untuk *Bacillus licheniformis* adalah 25,20 menit dan  $1,52 \text{ jam}^{-1}$ ; *Bacillus subtilis* sebesar 33,43 menit dan  $1,15 \text{ jam}^{-1}$ ; *Bacillus cereus* sebesar 30,95 menit dan  $1,28 \text{ jam}^{-1}$ ; dan mixed culture sebesar 42,48 menit dan  $0,90 \text{ jam}^{-1}$ .

**Kata kunci :** *Bacillus*, commercial seed, waktu generasi, konstanta laju pertumbuhan

**Abstract:** Biological treatment is a kind of treatment which can breakdown organic matter effectively and efficiently. The basic principle to treat the waste which has the high level of organic matter is utilization of microorganism activities to breakdown the chemical compounds and turn them into a simple one, in the other word, microorganism play a role of a biological process. To treat the waste, the bacteria can be isolated from the commercial seed contain a package of bacteria or from the waste itself. Studying the diversity of bacteria inside the commercial seed used to treat paint liquid waste through isolation process and Gram reaction, then conventional method with biochemical tests is the purpose of this research. Identification of commercial seed is important because Approximately 10,000 different dyes and pigments are used industrially. Genus for all of the bacteria from commercial seed is *Bacillus*. In this research, three species from commercial seed were identified successfully. They were *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, and *Bacillus cereus*. The presence of three kinds bacteria indicates that the biological process used a consortium bacteria. Every bacteria has different growth pattern in Nutrient Broth media. It was shown by the difference of growth curve which has been indicated by generation time(g), interval for binary fision, and growth rate constant of (k) both pure cultures and mixed culture.. The value of generation time and growth rate constant for *Bacillus licheniformis* were 25.20 minutes and  $1.52 \text{ hour}^{-1}$ ; *Bacillus subtilis* 33.43 minutes and  $1.15 \text{ hour}^{-1}$ ; *Bacillus cereus* 30.95 minutes and  $1.28 \text{ hour}^{-1}$ ; mixed culture 42.48 minutes and  $0.90 \text{ hour}^{-1}$ .

**Key words:** *Bacillus*, commercial seed, generation time, growth rate constant

## 1. PENDAHULUAN

Limbah merupakan produk buangan yang dihasilkan dari proses produksi maupun hasil dari proses pengolahan limbah baik skala industri maupun domestik. Bila ditinjau secara kimiawi, limbah terdiri atas dua macam, yaitu limbah organik dan anorganik. Keberadaan limbah dapat memberikan efek negatif bagi lingkungan dan kesehatan bila ada dalam konsentrasi tinggi dan tidak ditangani dengan benar. Limbah- limbah tersebut ada dalam berbagai jenis, salah satunya adalah limbah cair cat yang mengandung zat warna dan biasanya dilepaskan langsung ke lingkungan. Walaupun konsentrasi zat warna kurang dari 1 ppm, lebih rendah dari senyawa lain yang ditemukan dalam limbah cair, masalah warna adalah yang utama dan terlihat. Sekitar 10.000 zat warna dan pigmen yang berbeda digunakan untuk keperluan industri (Sukumar *et al.*, 2007).

Berbagai zat warna digunakan dalam jumlah besar untuk berbagai industri dan dalam jumlah yang signifikan masuk ke lingkungan dalam bentuk limbah cair. Pewarna yang didesain agar resisten terhadap cahaya, air, dan agen pengoksidasi akan sulit didegradasi begitu dilepaskan ke sistem perairan. Sistem pengolahan limbah cair secara konvensional sering memberi hasil yang tidak efisien, mahal, menghabiskan banyak waktu, dan sering membutuhkan metodologi tertentu. Oleh sebab itu, sangat diperlukan pengembangan dari alternatif degradasi zat warna seperti bioremediasi yang sudah dikenal dengan reputasi yang baik terhadap lingkungan dan teknologi pengolahannya dapat diterima. Sistem yang menggunakan campuran kultur mikroba akan memberi hasil yang lebih efektif karena aktivitas metabolismenya bersama-sama. Campuran kultur mikroba tersebut akan memberikan aktivitas katabolik yang saling melengkapi satu sama lain. Penggunaan dari konsorsium mikroba ini sangat memberikan manfaat daripada kultur murni. Suatu kultur bakteri dapat menyerang suatu molekul pada posisi yang berbeda atau dapat menggunakan produk dekomposisi yang dihasilkan dari kultur lain untuk proses dekomposisi lebih jauh (Jadhav *et al.*, 2008).

Terdapat dua pendekatan utama dalam proses biodegradasi limbah cair cat, yaitu *seeding* dan modifikasi lingkungan. *Seeding* adalah inokulasi mikroba ke instalasi pengolahan limbah cair. Mikroba yang diinokulasikan tersebut dapat diperoleh dari luar lokasi yang tercemar (*indigenous*), sedangkan modifikasi lingkungan bertujuan untuk meningkatkan aktivitas metabolisme mikroba dengan penambahan nutrisi, terutama yang mengandung nitrogen dan fosfor, peningkatan jumlah organisme dan kelembaban, penambahan kosubstrat sebagai penunjang pertumbuhan mikroba.

Pada pengolahan secara biologis, penghilangan zat warna menggunakan bakteri merupakan alternatif pengolahan secara aerob. Beberapa bakteri aerob galur tertentu memiliki kemampuan untuk menggunakan zat warna azo sebagai sumber karbon dan nitrogen tunggal, bakteri lain hanya mereduksi grup azo dengan azo reduktase (Sharma *et al.*, 2009).

Pada umumnya, *seeding* dilakukan dengan menggunakan paket mikroba komersial (*commercial seed*) yang belum tentu sesuai dengan karakteristik limbah yang akan diolah. Selain itu, mikroba komersial pun memiliki harga yang lebih mahal dan dapat mengakibatkan terjadinya kompetisi dengan mikroba alami yang terdapat di dalam sistem. Indonesia adalah negara tropis memiliki potensi besar untuk mendapatkan isolat-isolat lokal dari daerah tercemar yang memiliki kemampuan mendegradasi limbah dengan baik. Mikroba yang diisolasi dari daerah yang tercemar oleh limbah cat kemungkinan besar memiliki kemampuan untuk mendegradasi limbah cat.

Penelitian-penelitian terdahulu yang pernah dilakukan, menunjukkan penggunaan mikroba konsorsium ataupun mikroba murni yang belum diketahui jenisnya (*undefined*) untuk proses degradasi warna. Saat ini mikroba konsorsium yang digunakan untuk

mendegradasi zat warna adalah *Galactomyces geotrichum* MTCC 1360 dan *Bacillus* sp (Jadhav *et al.*, 2008).

Proses isolasi yang pernah dilakukan menghasilkan penemuan bahwa bakteri *Bacillus* sp.B29 memiliki kemampuan tinggi dalam menghilangkan zat warna toksik yaitu azo dye methyl red (MR) yang diisolasi dari tanah (Ooi, *et al.*, 2007).

Selain konsorsium dari *Galactomyces geotrichum* MTCC 1360 dan *Bacillus* sp, terdapat mikroorganisme lain yang diyakini berperan dalam proses degradasi warna, mikroorganisme tersebut adalah jamur (*Penicillium decumbens*, *Aspergillus* sp., *Aspergillus niger*, *Flavodon flavus*), jamur putih pembusuk (*Phanerochaete* sp., *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*, *Coriolus* sp.), ragi (*Citeromyces* sp.), dan bakteri (*Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., acetogenic bacteria). Banyak penelitian yang menyatakan bahwa jamur putih pembusuk sangat efektif untuk menghilangkan warna, namun untuk aplikasi pengolahan skala besar tidak tepat (Jiranuntipon *et al.*, 2008).

Kultur bakteri murni atau jamur terus dikembangkan untuk menunjang proses biologis untuk pengolahan limbah cair cat. Namun, performa jamur dalam proses degradasi warna sangat terbatas akibat siklus pertumbuhan yang panjang dan kemampuan degradasinya yang sedang. Sebaliknya, proses degradasi warna oleh bakteri biasanya lebih cepat namun membutuhkan kultur campuran beberapa bakteri untuk mendegradasi warna (Jiranuntipon *et al.*, 2008).

Untuk pengolahan limbah cair cat, penekanan dilakukan terhadap kemampuan bakteri dalam menggunakan komponen kimia dalam cat sebagai sumber karbon. Untuk pigmen sendiri, komposisinya tidak mendominasi dalam komponen cat, sehingga komponen yang diuji adalah pigmen yang dilarutkan pada tiner, melamin, dan resin akrilik.

## 2. METODOLOGI

### Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Higiene Industri dan Toksikologi, dan Laboratorium Buangan Padat dan B3 Program Studi Teknik Lingkungan ITB.

### Bahan Penelitian

Pada penelitian ini, digunakan *commercial seed* yang dipakai untuk mengolah limbah cair cat. Bahan lain yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah *nutrient agar* (Oxoid) untuk isolasi kultur murni, labu erlenmeyer 250 ml yang berisi *Nutrient Broth* (Oxoid) sebagai media pengaya, SBS (*Salt Base Solution*) untuk media tumbuh bakteri, labu erlenmeyer 250 ml sebagai reaktor skala laboratorium, bahan-bahan yang diperlukan dalam prosedur uji biokimia pada proses identifikasi bakteri, tiner, melamin, dan resin akrilik yang digunakan untuk mengetahui pengaruh keberadaan komponen tersebut terhadap pertumbuhan bakteri.

### Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah reaktor untuk pengembangan kultur bakteri pendegradasi zat warna berupa labu erlenmeyer dengan kapasitas 250 ml sebanyak 5 buah. Peralatan lain yang digunakan adalah pipet, mikro pipet, timbangan analitik, penangas, alat-alat gelas seperti tabung reaksi, cawan petri, gelas ukur, erlenmeyer dan alat gelas lainnya, pH meter, sprektofotometer, inkubator, dan *orbital shaker*.

### Isolasi Bakteri

Proses isolasi bakteri bertujuan untuk mendapatkan kultur murni, yaitu kultur yang hanya terdiri dari satu jenis bakteri.

Proses pemurnian bakteri tersebut dilakukan dalam berbagai tahapan, yaitu :

- Pengenceran terhadap *commercial seed* dengan akuades steril.
- Pemisahan koloni melalui metoda cawan tuang.
- Pemurnian menggunakan jarum inokulasi kemudian dilakukan penggoresan (*streak*) pada NA dalam cawan petri agar didapatkan satu jenis koloni.
- Satu jenis koloni yang terpisah kemudian dipindahkan ke dalam NA miring .

### Identifikasi Bakteri

Bakteri yang diperoleh dari hasil isolasi, diidentifikasi untuk mengetahui spesies bakteri pendegradasi tersebut. Identifikasi yang dilakukan berupa uji-uji biokimia yang dilakukan untuk mengetahui sifat suatu bakteri sehingga dapat diidentifikasi jenisnya, diantaranya adalah hidrolisa gelatin, reaksi terhadap karbohidrat, reduksi nitrat, dan lain-lain menurut *Manual for Identification of Medical Bacteriology* (Cowan, 1974).

### Uji Pertumbuhan

Uji pertumbuhan dilakukan untuk mengetahui sifat pertumbuhan suatu jenis bakteri melalui kurva pertumbuhan dengan cara mengukur jumlah bakteri yang ditandai dengan kekeruhan pada media cair (NB) menggunakan spektrofotometer (*Spectronic 20 Genesys*) dari suatu biakan bakteri dengan bantuan alat penggoyang (*shaker*) dan inkubator.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi Mikroorganisme *Commercial Seed*

Isolasi langsung dilakukan dengan sumber *commercial seed*. Pemurnian dilakukan agar kultur murni bisa didapat melalui metoda cawan tuang dengan pengenceran  $10^{-1}$  sampai dengan  $10^{-8}$  dan dilakukan secara duplo. **Tabel 1** menunjukkan hasil pengenceran pada *commercial seed*.

**Tabel 1** Jumlah Koloni Hasil Metoda Cawan Tuang

No.	Tingkat Pengenceran	Jumlah Koloni (I)	Jumlah Koloni (II)
1	$10^{-1}$	<i>Too Numerous To Count</i> (TNTC)	TNTC
2	$10^{-2}$	TNTC	TNTC
3	$10^{-3}$	TNTC	TNTC
4	$10^{-4}$	TNTC	TNTC
5	$10^{-5}$	213	158
6	$10^{-6}$	49	63
7	$10^{-7}$	9	11
8	$10^{-8}$	-	-

Pada pengenceran  $10^{-1}$  sampai dengan  $10^{-4}$  didapatkan hasil TNTC (*Too Numerous To Count*), yaitu pertumbuhan koloni lebih dari 300 koloni, hasil ini tidak dapat digunakan dalam perhitungan jumlah sel tiap mililiternya. Jumlah koloni di atas 300 merupakan hasil yang tidak valid karena pertumbuhan mikroorganisme yang terlalu padat mengakibatkan terjadinya pertumbuhan koloni yang dapat menempel dan saling menumpuk satu sama lain sehingga tidak seluruh koloni dapat terhitung. Bila jumlah koloni yang didapat pada cawan petri berada di bawah 30, menandakan populasi bakteri yang terlalu sedikit dan tidak representatif. Hasil ini didapat pada pengenceran  $10^{-7}$  sampai dengan  $10^{-8}$ . Pada penelitian ini didapat hasil yang valid pada pengenceran  $10^{-5}$  sampai dengan  $10^{-6}$ .

Terdapat enam kultur bakteri yang diisolasi untuk diteliti, namun hasil akhir uji biokimia menunjukkan kesamaan terhadap beberapa bakteri. Didapatkan tiga spesies bakteri dan diberi kode BM1, BM2, dan BM3, yang kemudian diamati morfologinya dengan hasil pada **Tabel 2**.

**Tabel 2** Ciri-Ciri Morfologi Bakteri Hasil Isolasi *Commercial Seed*

No.	Karakteristik	Bakteri		
		BM1	BM2	BM3
1	Bentuk	bundar tepian karang	tak beraturan	bundar tepian karang
2	Tepian	berombak	bercabang, berombak	berlekuk
3	Elevasi	timbul	timbul	timbul
4	Ukuran	kecil	besar	besar
5	Tekstur	lembut	lembut	lembut
6	Penampakan	kusam	kusam	kusam
7	Pigmen	nonpigmen	nonpigmen	nonpigmen
8	Optikal	buram	tembus cahaya	tembus cahaya

Proses pengamatan ciri-ciri morfologi suatu bakteri atau *screening morphology* dapat membantu mengelompokkan dua atau lebih bakteri yang diduga memiliki spesies yang sama, terutama bila bakteri yang akan diidentifikasi ada dalam jumlah yang banyak. Sehingga pada proses uji biokimia, bakteri yang memiliki kesamaan morfologi yang identik dapat dieliminasi untuk memudahkan proses identifikasi. Namun, proses *screening morphology* membutuhkan kemampuan tertentu, agar bakteri yang dieliminasi adalah bakteri yang sama dan bukan bakteri dengan spesies yang berbeda.

Setelah proses *morphology screening*, dilakukan uji pendahuluan untuk menentukan genus seperti yang ditampilkan pada **Tabel 3**.

**Tabel 3** Hasil Uji Penentuan Genus Isolasi Bakteri *Commercial Seed*

No.	Jenis Prosedur	BM1	BM2	BM3
1	Pewarnaan Gram	+	+	+
2	Bentuk	Batang	Batang	Batang
3	Motilitas	+	+	+
No.	Jenis Prosedur	BM1	BM2	BM3
4	Pewarnaan spora	+	+	+
5	Uji katalase	+	+	+
6	Pertumbuhan pada glukosa	+	+	+

Keterangan : (+) hasil positif  
(-) hasil negatif

Setelah reaksi Gram dari setiap bakteri didapat, dilakukan uji-uji pendahuluan untuk menentukan genus bakteri berdasarkan *Manual for the Identification of Medical Bacteria* (Cowan, 1974) dan didapatkan genus *Bacillus*.

*Bacillus* merupakan bakteri berbentuk batang, tergolong bakteri gram positif pada kultur muda, motil (reaksi nonmotil kadang terjadi), memproduksi spora yang biasanya resisten pada panas, aerob (beberapa spesies anaerob fakultatif), katalase positif, dan oksidasi bervariasi. Tiap spesies berbeda dalam penggunaan gula, sebagian menyerang dan sebagian tidak (Cowan, 1974).

Bakteri golongan *Bacillus* merupakan bakteri golongan Gram positif, namun bakteri pembentuk spora ini menjadi golongan Gram negatif ketika memasuki fase stasioner dalam pertumbuhannya. Sebagian besar *Bacillus* merupakan bakteri mesofil yang tumbuh dengan temperatur optimal antara 30-45°C, meski ada beberapa yang termasuk golongan termofil dengan temperatur optimal pada 65°C (Todar, 2009).

Tahap selanjutnya adalah proses identifikasi spesies melalui uji biokimia yang ditunjukkan **Tabel 4**.

**Tabel 4** Hasil Uji Biokimia Penentuan Spesies Bakteri *Commercial Seed*

No.	Jenis Uji	Bakteri		
		BM1	BM2	BM3
1	Pewarnaan Gram	J	+	+
2	Motilitas	+	+	+
3	Grup Morfologi	1	1	1
4	Bentuk spora	oval	oval	oval
5	Posisi spora	tengah	tengah	tengah
6	Pembesaran badan batang	-	-	-
7	Pertumbuhan pada 45°C	+	+	+
8	Pertumbuhan pada 65°C	-	-	-
9	Pertumbuhan pada pH 5,7	+	+	+
10	Pertumbuhan dalam 7% NaCl	+	+	+
11	Penggunaan sitrat	+	+	+
12	Pertumbuhan anaerob pada kaldu glukosa	+	-	+
13	Karbohidrat dari:			
	glukosa	+	+	+
	arabinosa	-	+	-
	mannitol	+	+	-
	xylose	+	+	-
14	VP tes	+	-	+
15	Hidrolisis pati	+	+	+
16	Reduksi Nitrat	+	-	+
17	Indol	-	-	-
18	Hidrolisis gelatin	+	+	+
19	Hidrolisis kasein	+	+	+
20	Urease	-	-	lemah

Keterangan : (J) hasil positif pada kultur muda, tidak konstan pada kultur tua

(+) hasil positif

(-) hasil negatif

(1) spora oval atau silinder; terletak di tengah, agak ujung atau di ujung; sedikit pembesaran batang atau tidak sama sekali

Serangkaian uji-biokimia digunakan dalam menentukan spesies dari genus *Bacillus*. Uji-biokimia merupakan metoda konvensional menggunakan sistem pendekatan, yaitu hasil yang didapat dari penelitian dicocokkan dengan tabel hasil uji (Cowan, 1974). Hasil dari uji biokimia memberikan tiga jenis spesies pada **Tabel 5**.

**Tabel 5** Hasil Identifikasi Bakteri dari *Commercial Seed*

No.	Kode	Jenis Bakteri
1	BM1	<i>Bacillus licheneformis</i>
2	BM2	<i>Bacillus subtilis</i>
3	BM3	<i>Bacillus cereus</i>

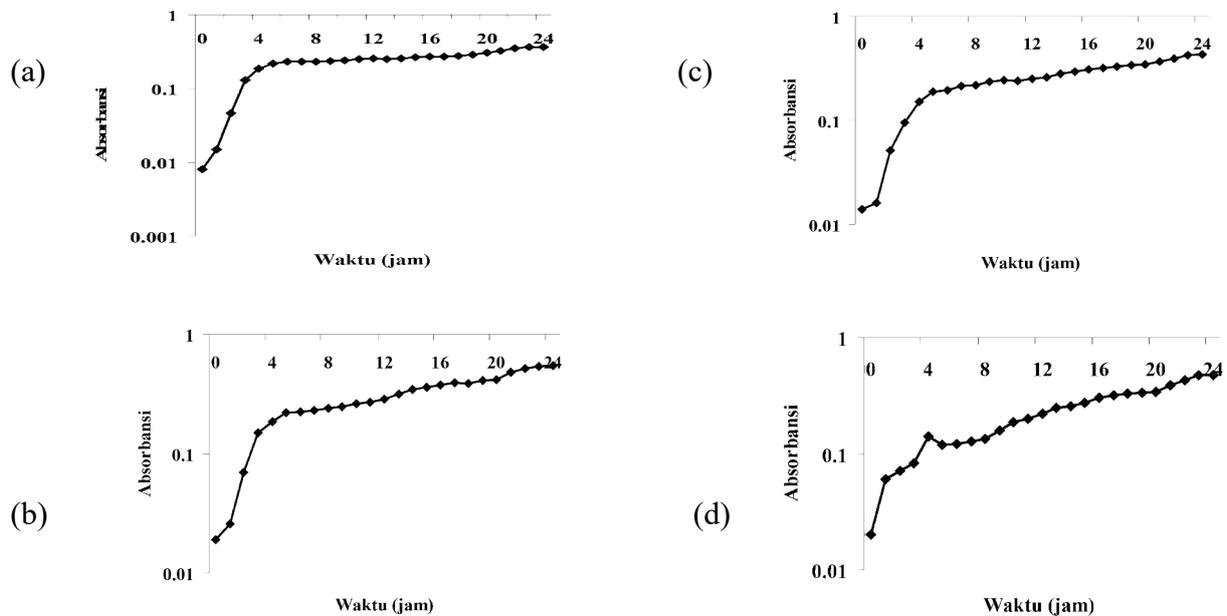
Hasil akhir dari proses identifikasi menunjukkan tiga spesies bakteri dari genus *Bacillus*, yaitu *Bacillus licheneformis*, *Bacillus cereus*, dan *Bacillus subtilis*. Dengan kata lain, pada *commercial seed* terdapat bakteri konsorsium yang digunakan untuk mengolah limbah cair cat. Beberapa galur yang diteliti menunjukkan bahwa *Bacillus subtilis* dapat menghilangkan warna dan mendegradasi zat warna (Itoh *et al.*, 1993).

Selain keuntungan yang didapat dari interaksi positif yang terbangun dalam penggunaan mikroorganisme konsorsium atas proses metabolisme satu sama lain, perlu pula diwaspadai adanya interaksi kompetisi di mana terjadi ketergantungan bersama terhadap faktor pembatas pertumbuhan atau substrat, sehingga spesies yang tumbuh lebih cepat akan menguasai spesies yang tumbuh lebih lambat kecuali laju pertumbuhannya identik (Sterritt dan Lester, 1988).

Oleh karena itu, perlu ditentukan penentuan laju pertumbuhan dengan menggunakan spesies tunggal dan juga kultur tercampur (konsorsium).

### Laju Pertumbuhan Mikroorganisme

Laju pertumbuhan mikroorganisme diukur dengan menumbuhkan isolat setiap kultur bakteri murni dan campuran menggunakan media NB (*beef extract* 1 g/L, *yeast extract* 2 g/L, *peptone* 5 g/L, *sodium chloride* 5 g/L). Hasil pertumbuhan tersebut dapat dilihat pada **Gambar 1**.

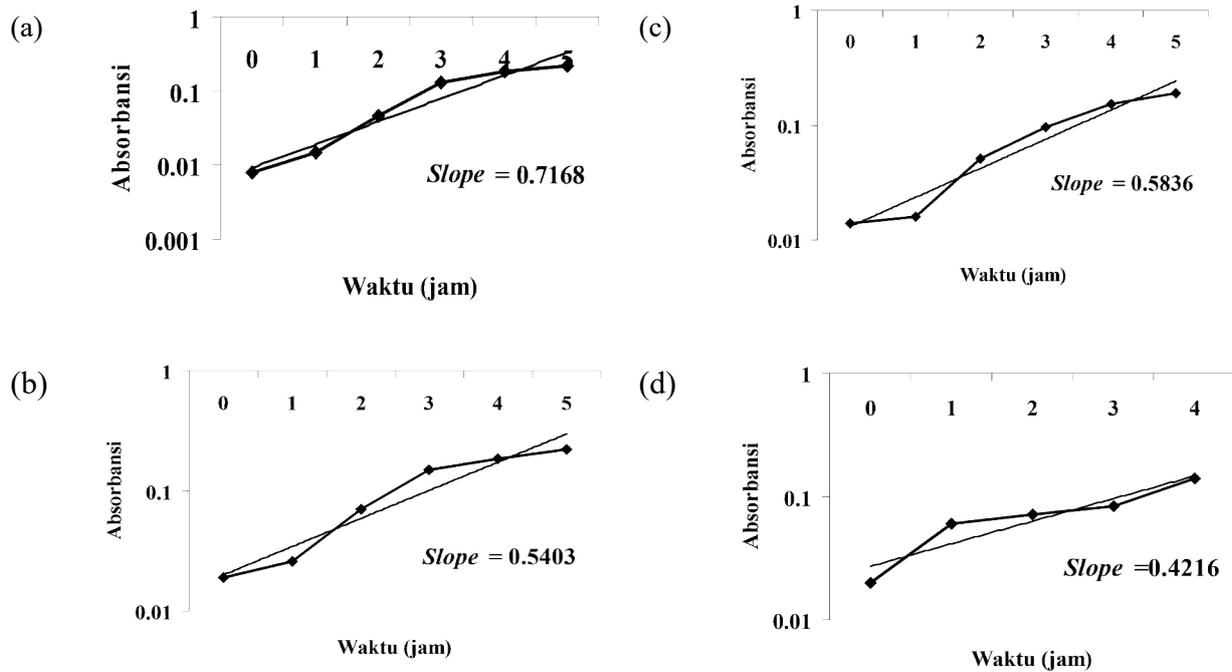


**Gambar 1** Kurva Pertumbuhan Kultur Murni dan Kultur Campuran

- (a) Kurva Pertumbuhan *Bacillus licheneformis*
- (b) Kurva Pertumbuhan *Bacillus subtilis*
- (c) Kurva Pertumbuhan *Bacillus cereus*
- (d) Kultur Pertumbuhan *Mixed Culture*

Kurva pertumbuhan menunjukkan terjadinya fase lag, eksponensial, dan stasioneri. Pada beberapa bakteri tidak terlihat adanya fase lag, hal ini dapat disebabkan oleh pengukuran yang dilakukan setiap satu jam sekali, sehingga perubahan yang terjadi dalam rentang waktu satu jam tidak diketahui.

Hasil ekstrapolasi fase eksponensial untuk menghitung waktu generasi ( $g$ ) dan konstanta laju pertumbuhan ( $k$ ) dapat dilihat pada **Gambar 2**.



**Gambar 2** Hasil Ekstrapolasi Fase Eksponensial Kultur Murni dan Kultur Campuran

- (a) Ekstrapolasi *Bacillus licheniformis*
- (b) Ekstrapolasi *Bacillus subtilis*
- (c) Ekstrapolasi *Bacillus cereus*
- (d) Ekstrapolasi *Mixed Culture*

Dalam laboratorium dengan kondisi optimal bagi pertumbuhan, bakteri golongan *Bacillus* menunjukkan waktu generasi sekitar 25 menit (Todaro, 2009).

Dari hasil ekstrapolasi fase eksponensial,  $g$  (waktu generasi) dan  $k$  (konstanta laju pertumbuhan) dapat dihitung dengan formula (Madigan *et al.*, 2003):

$$g = 0,301 / \text{slope}$$

$$k = 0.693 / g$$

Besarnya waktu generasi dan konstanta laju pertumbuhan dapat dilihat pada **Tabel 6**.

**Tabel 6** Waktu Generasi dan Konstanta Laju Pertumbuhan Kultur Murni dan Tercampur

No.	Bakteri	Nilai	
		$g$ (menit)	$k$ (jam-1)
1	<i>Bacillus licheniformis</i>	25,20	1,52
2	<i>Bacillus subtilis</i>	33,43	1,15
3	<i>Bacillus cereus</i>	30,95	1,28
4	<i>Mixed culture</i>	42,84	0,90

Waktu generasi yang dihasilkan setiap kultur, baik murni maupun tercampur, menunjukkan hasil berbeda. Waktu generasi kultur murni berkisar di antara 25,20 menit sampai dengan 42,84 menit sesuai dengan literatur (Todar, 2009). Hal tersebut menunjukkan bahwa kondisi optimal bagi pertumbuhan bakteri terpenuhi, sedangkan konstanta laju pertumbuhan menunjukkan banyaknya bakteri yang tumbuh per unit waktu pada kultur yang tumbuh secara eksponensial. Konstanta laju pertumbuhan dari setiap bakteri berbeda, tergantung pada kemampuan metabolisme tiap bakteri berbeda satu sama lain, pada kemampuan enzim yang dimiliki bakteri dalam proses metabolisme terhadap senyawa yang terkandung dalam media pertumbuhan bakteri. Nilainya bervariasi antara  $0,9 \text{ jam}^{-1}$  sampai dengan  $1,52 \text{ jam}^{-1}$ . Terlihat bahwa laju pertumbuhan tertinggi terjadi pada *Bacillus licheniformis*, sedangkan laju pertumbuhan terlambat terjadi pada *mixed culture*. Pertumbuhan kultur campuran lebih lambat, hal ini dapat disebabkan oleh interaksi antara kultur. Hal ini mengindikasikan terjadi kompetisi dalam memperebutkan substrat, sehingga pertumbuhan bakteri menjadi lambat.

Pada penelitian proses pengolahan limbah skala laboratorium, biasanya ditambahkan kosubstrat sebagai makanan awal bakteri, kemudian sumber makanan kedua adalah limbah yang perlu diolah, sehingga pemilihan bakteri konsorsium seharusnya didasarkan pada kurva pertumbuhan setiap bakteri. Bakteri yang akan digabungkan sebagai bakteri konsorsium seharusnya bakteri yang memiliki perbedaan saat memasuki fase eksponensial tahap dua, hal ini bertujuan untuk menghindari terjadinya perebutan sumber karbon kedua (berupa limbah) sebagai substrat pertumbuhan sel yang menjadi inti utama dalam proses degradasi.

#### 4. KESIMPULAN

Bakteri yang terdapat dalam *commercial seed* merupakan bakteri genus *Bacillus* dengan spesies *Bacillus licheniformis*, *Bacillus cereus*, dan *Bacillus subtilis*. Bakteri tersebut diidentifikasi menggunakan metoda konvensional menggunakan serangkaian uji biokimia. Keberadaan ketiga bakteri tersebut dalam *commercial seed* menunjukkan bahwa pengolahan limbah cair cat dilakukan menggunakan menggunakan konsorsium bakteri.

Setiap bakteri memiliki waktu generasi dan konstanta laju pertumbuhan yang berbeda, di mana pada bakteri *Bacillus licheniformis* sebesar 25,20 menit dan  $1,52 \text{ jam}^{-1}$ ; *Bacillus subtilis* sebesar 33,43 menit dan  $1,15 \text{ jam}^{-1}$ ; *Bacillus cereus* sebesar 30,95 menit dan  $1,28 \text{ jam}^{-1}$ ; *mixed culture* sebesar 42,48 menit dan  $0,90 \text{ jam}^{-1}$ . Konstanta laju pertumbuhan dari setiap bakteri berbeda, tergantung pada kemampuan metabolisme tiap bakteri berbeda satu sama lain, pada kemampuan enzim yang dimiliki bakteri dalam proses metabolisme terhadap senyawa yang terkandung dalam media pertumbuhan bakteri.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Cowan S.T. 1974. *Manual for Identification of Medical Bacteria*. Cambridge University Press. Cambridge .
- Itoh, K.,Yatome,C.,Ogawa,T. 1993. Biodegradation of Anthraquinone Dyes by *Bacillus subtilis*. *Environmental Contamination and Toxicology*. Vol 50. pp 522-527.
- Jadhav, S.U., Jadhav,U.U.,Dawkar,V.V., dan Govindwar, S.P. 2008. Biodegradation of Disperse Dye Brown 3REL by Microbial Consortium of *Galactomyces geotrichum* TCC 1360 and *Bacillus sp. VUS*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. Vol 13. pp 232-239.

- Jiranuntipon,S., Chareonpornwattana,S., Damronglerd, S., Albasi, C.,Delia, M.L.2008.** Decolorization of synthetic Melanoidins-Containing Wastewater by a Bacterial Consortium. *Industrial Microbiology & Biotechnology*. **Vol 35**. pp 1313-1321.
- Madigan, M.T.,Martinko,J.M.,Parker, P. 2003.** *Biology of Microorganism*. 10<sup>th</sup> Edition. Prentice Hall.USA.
- Ooi, T., Shibata, T., Sato, R., Ohno, H., Kinoshita,S., Thuoc,T.L., Taguchi, S. 2007.** An Azoreductase, Aerobic NADH-dependent Flavoprotein Discovered from *Bacillus* sp.:Functional Expression and Enzymatic Characterization. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **Vol 75**. pp 377-386
- Sharma, P., Singh,L., Dilbaghi,N. 2009.**Optimization of Process Variable for Decolorization of Disperse Yellow 211 by *Bacillus subtilis* using Box-Behnken Design. *Journal of Hazardous Materials*. **Vol 164**. pp 1024-1029.
- Sterrit, R.M., J.N. Lester. 1988.** *Microbiology for Environmental and Public Health Engineers*. E&FN Spon Ltd. London.
- Sukumar, M., Sivasamy,A., Swaminathan, G. 2007.** Decolorization of Textile Dye Effluent by Genetically Improved Bacterial Strains. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. **Vol 136** .pp 53-62.
- Todar, Kenneth. 2009.** The Genus *Bacillus*. <http://www.textbookofbacteriology.net>. Diakses pada 15 Juni 2009.