

**IDENTIFIKASI KEBERAGAMAN BAKTERI  
PADA LUMPUR HASIL PENGOLAHAN LIMBAH CAT  
DENGAN TEKNIK KONVENSIONAL**

**IDENTIFICATION OF BACTERIAL DIVERSITY  
IN WASTE RECYCLING PAINT SLUDGE  
BY CONVENTIONAL MICROBIOLOGICAL TECHNIQUE**

**<sup>1\*</sup>Dwipayana, <sup>2</sup>Herto Dwi Ariesyady, dan <sup>3</sup>Sukandar**

<sup>1,2,3</sup> Program Studi Teknik Lingkungan

Fakultas Teknik Sipil dan Lingkungan, Institut Teknologi Bandung

Jl Ganesha 10 Bandung 40132

\*nhulz\_nih@yahoo.com

**Abstrak:** Biodegradasi dengan metode lumpur aktif dilakukan dengan memanfaatkan bakteri yang digunakan selama proses pengolahan yang kemudian diresirkulasi kembali ke proses setelah mengalami pengendapan. Pengolahan ini dapat juga diterapkan pada pengolahan limbah cat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi bakteri pendegradasi limbah cat dari lumpur hasil pengolahan serta membandingkannya dengan keberagaman bakteri yang ada pada commercial seed. Bakteri yang dihasilkan dari identifikasi pada lumpur terdiri dari lima jenis, yaitu *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, dan *Pseudomonas fluorescens*. Keberadaan bakteri-bakteri tersebut menunjukkan proses pengolahan menggunakan bakteri konsorsium yang setiap bakterinya memiliki pola pertumbuhan yang berbeda. Hal itu ditunjukkan oleh perbedaan waktu generasi (g) dan konstanta laju pertumbuhan (k). Nilai waktu generasi dan konstanta laju pertumbuhan adalah 44,67 menit dan 0,93 jam<sup>-1</sup> untuk *Pseudomonas fluorescens*; 45,04 menit dan 0,92 jam<sup>-1</sup> untuk *Bacillus subtilis*; 35 menit dan 1,17 jam<sup>-1</sup> untuk *Bacillus licheniformis*; 18 menit dan 2,27 jam<sup>-1</sup> untuk *Bacillus cereus*, 19 menit dan 2,18 jam<sup>-1</sup> untuk *Bacillus megaterium*, serta 53 menit dan 0,79 jam<sup>-1</sup> untuk kultur campuran. Bakteri commercial seed yang digunakan pada saat pengolahan dan kembali terdapat di lumpur hasil pengolahan menandakan bahwa bakteri tersebut mampu menggunakan limbah sebagai sumber karbon dan berperan dalam pengolahan limbah.

**Kata kunci:** lumpur limbah cat, identifikasi, waktu generasi, konstanta laju pertumbuhan

**Abstract :** Biodegradation with activated sludge method is done by using bacteria that are used during treatment process, which was then returned to the treatment process after had been settled. This process can be applied to liquid waste paint treatment. The objectives of this research are to identify the paint waste degradation bacteria of sludge and to compare them with the bacterial types in the commercial seed. The result of bacteria identification from sludge obtained five species. They are *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, and *Pseudomonas fluorescens*. The presence of five kinds bacteria indicates that the biological process used a consortium bacteria, that has different growth pattern. It was shown by the difference of generation time (g) and growth rate constant of (k) both pure cultures and mixed culture. Value of generation time (g) and growth rate constant (k) for each bacteria were 44.67 minutes and 0.93 hour<sup>-1</sup> for *Pseudomonas fluorescens*; 45.04 minutes and 0.92 hour<sup>-1</sup> for *Bacillus subtilis*; 35 minutes and 1.17 hour<sup>-1</sup> for *Bacillus licheniformis*; 18 minutes and 2.27 hour<sup>-1</sup> for *Bacillus cereus*, 19 minutes and 2.18 hour<sup>-1</sup> for *Bacillus megaterium*, and 53 minutes and 0.79 hour<sup>-1</sup> for mixed culture. Commercial seed bacteria used during the treatment process and then present in the produced sludge indicates that the bacteria are able to use waste as a source of carbon, and indeed a role in waste treatment process.

**Key words:** paint waste sludge, identification, generation time, growth rate constant

## PENDAHULUAN

Dalam setiap proses yang terjadi di suatu industri, selain dihasilkan produk yang diinginkan juga dihasilkan produk samping (*by product*) baik yang masih dapat dimanfaatkan maupun yang tidak dapat dimanfaatkan dan dikategorikan sebagai limbah. Salah satu jenis limbah industri adalah limbah cat yang memiliki kandungan zat warna yang dapat berbahaya bagi lingkungan bila tidak ditangani dengan tepat.

Salah satu alternatif pengolahan yang dapat diaplikasikan dalam mengolah limbah adalah pengolahan secara biologi yang dikenal sebagai biodegradasi. Biodegradasi didefinisikan sebagai suatu proses oksidasi senyawa organik oleh mikroorganisme, baik di tanah, perairan, atau pada instalasi pengolahan air limbah (Reynold, 1982). Pengolahan limbah secara biologi sering dipilih karena membutuhkan biaya yang relatif sedikit dan menghasilkan lumpur hasil pengolahan yang tidak terlalu banyak bila dibandingkan dengan pengolahan secara kimia atau fisik (Meitiniarti *et al.*, 2008). Proses biodegradasi yang umum dilakukan adalah lumpur aktif, yang didefinisikan sebagai suatu proses biologi dalam pengolahan limbah cair, dimana pencampuran antara limbah cair dengan lumpur aktif diaerasi pada suatu tangki aerasi. Padatan biologi yang aktif tersebut mengoksidasi limbah kemudian padatannya dialirkan kembali ke bak pengendap akhir, hingga mengalami siklus yang berulang (Reynold, 1982).

Biodegradasi limbah cat dapat dilakukan melalui dua pendekatan utama, yaitu modifikasi lingkungan dan *seeding*. Modifikasi lingkungan bertujuan untuk meningkatkan aktivitas metabolisme mikroba dengan penambahan nutrisi, terutama nitrogen dan fosfor, peningkatan jumlah oksigen dan kelembaban nutrisi, serta penambahan kosubstrat sebagai penunjang pertumbuhan mikroba, sedangkan *seeding* dilakukan dengan menginokulasi mikroba ke dalam instalasi pengolahan limbah. Mikroba yang digunakan dapat asli berasal dari lokasi tercemar (*indigenous*) atau dari luar lokasi yang tercemar (*non indigenous*).

*Seeding* umumnya dilakukan dengan menggunakan mikroba komersial yang lebih mahal dan belum tentu sesuai dengan karakteristik limbah yang diolah. Mikroba yang diisolasi dari lumpur hasil pengolahan limbah cair cat tentu memiliki kemampuan untuk mendegradasi limbah cat, sehingga akan didapat mikroba dari *seeding* yang mampu bertahan dan berpengaruh terhadap degradasi limbah cat, serta mikroba *indigenous* yang mampu mengurangi penggunaan bakteri komersial dan mengurangi biaya pengolahan limbah cat secara biologis.

Beberapa penelitian memperlihatkan bahwa terdapat bakteri yang dapat mendegradasi zat warna, diantaranya adalah *Pseudomonas luteola*, *Pseudomonas sp.*, *Escherichia coli*, *Bacillus sp*, *Alcaligenes faecalis*, *Rhodococcus erythropolis*, dan *Enterococcus faecalis* (Chang *et al.*, 2000; Kalyani *et al.*, 2009; Mutafov *et al.*, 2008; Meitiniarti *et al.*, 2008). Berdasarkan hal tersebut, masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menganalisis keanekaragaman bakteri yang dapat mendegradasi zat warna dan limbah cat.

Tujuan dari penelitian adalah mengidentifikasi isolat bakteri yang didapatkan dari lumpur hasil pengolahan limbah cat kemudian membandingkan dengan isolat bakteri yang didapatkan dari *seeding*. Pengidentifikasi ini akan menghasilkan informasi lebih lanjut mengenai karakteristik bakteri yang didapat dan dapat digunakan untuk penelitian lebih lanjut mengenai kemampuan degradasi limbah cat oleh bakteri tersebut.

## METODOLOGI

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Higiene Industri dan Toksikologi, Laboratorium Kualitas Air, dan Laboratorium Buangan Padat dan Bahan Berbahaya dan Beracun Program Studi Teknik Lingkungan ITB.

### Pengembangan Kultur Bakteri Pendegradasi Limbah Cat

Sampel lumpur hasil pengolahan limbah cat dikumpulkan di suatu reactor aerob skala laboratorium dengan volume 1500 ml di Laboratorium Higiene Industri dan Toksikologi Program Studi Teknik Lingkungan ITB. Reaktor ini disimpan pada suhu kamar 25°C dan diberi suplai oksigen untuk menjamin kondisi selalu aerob.

## Isolasi Bakteri

Mikroorganisme dikembangkan dengan menginokulasikan mikroorganisme ke agar nutrisi. Teknik inokulasi yang digunakan adalah teknik cawan tuang, dengan sebelumnya dilakukan pengenceran terlebih dahulu agar hasil koloni yang didapat berupa biakan murni. Setelah inkubasi dalam keadaan aerob selama 24 jam, koloni tunggal yang terbentuk diperiksa menggunakan pewarnaan Gram untuk melihat karakteristik dinding sel dan bentuk dari sel tersebut. Pengamatan dengan mikroskop dilakukan dengan menggunakan mikroskop jenis mikroskop cahaya. Untuk pengamatan dinding sel bakteri, digunakan perbesaran sebesar 1000x dan menggunakan minyak imersi.

## Media

Medium kultur yang digunakan terdiri dari agar nutrisi dan kaldu nutrisi atau *nutrient broth* (NB) (Merck, Jerman). Komposisi medium tersebut dalam gram per liter adalah 1 gram ekstrak sapi, 2 gram ekstrak yeast, 5 gram peptone, 5 gram NaCl, 1 liter akuades, serta tambahan 15 gram agar khusus untuk media agar nutrisi. Media lain yang dibutuhkan adalah media untuk uji biokimia untuk masing-masing genus yang didapat. Media kemudian disterilkan menggunakan autoclave.

## Identifikasi Bakteri

Setelah diperoleh bakteri kultur murni, maka dilakukan identifikasi untuk dapat mengetahui jenis bakteri yang terdapat dalam reactor. Metode identifikasi bakteri yang dilakukan adalah dengan cara konvensional (Cowan, 1974). Testerhadap tiap jenis bakteri dilakukan secara duplo dan bila hasilnya berbeda dilakukan triplo.

## Uji Pertumbuhan

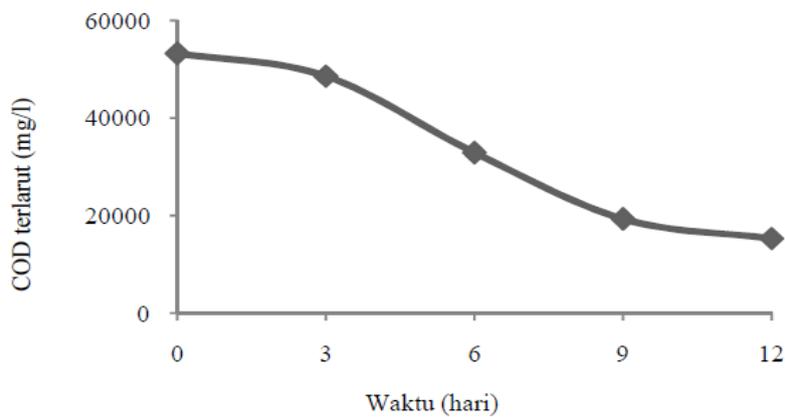
Uji pertumbuhan dilakukan untuk mengetahui sifat pertumbuhan suatu jenis bakteri melalui kurva pertumbuhan dengan cara mengukur jumlah bakteri yang ditandai dengan kekeruhan pada media cair (NB) menggunakan spektrofotometer (*Spectronic 20 Genesys*) dari suatu biakan bakteri dengan bantuan alat penggoyang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

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengayaan Mikroorganisme

Kultur dikembangkan dalam suatu reaktor aerob yang berisi lumpur hasil pengolahan limbah cair cat. Hal ini dimaksudkan agar bakteri yang tumbuh di reaktor tersebut merupakan bakteri yang berperan dalam proses degradasi limbah cair cat. Kultur dalam reaktor tersebut hanya diberi nutrisi berupa glukosa 0,5 mg/l setiap hari. Glukosa dipilih karena merupakan sumber karbon yang sederhana dan dapat digunakan oleh sebagian besar bakteri sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan bakteri.

Setelah dikembangkan selama 1 bulan, kondisi reaktor mengalami perubahan, seperti perubahan warna menjadi lebih gelap dari hari ke hari. Glukosa tidak lagi ditambahkan ke dalam kultur setelah pengembangan kultur selama 1 bulan. Kemudian pengukuran nilai COD terlarut dilakukan selama 12 hari. **Gambar 1** memperlihatkan bahwa nilai COD terlarut setelah kultur tidak lagi diberi nutrisi mengalami penurunan. Hal itu menandakan bahwa limbah cat tersebut dijadikan sumber karbon oleh bakteri dan bakteri yang tumbuh diperkirakan merupakan bakteri yang dapat menggunakan limbah cat sebagai sumber karbonnya. Berdasarkan Hvitved-Jacobson (2002), COD terlarut merupakan komponen karbon yang terlarut di dalam air dan dapat digunakan oleh mikroorganisme sebagai sumber karbonnya.



**Gambar 1.** Grafik penurunan COD terlarut

### Hasil Isolasi dan Identifikasi Mikroorganisme

Isolasi diawali dengan pengenceran pada sampel lumpur dengan akuades steril kemudian dilanjutkan dengan penanaman sampel ke media agar nutrisi. Pengenceran ini dilakukan untuk mengetahui perkiraan jumlah koloni bakteri yang terdapat dalam sampel lumpur. Selain itu, hal ini juga dilakukan agar koloni bakteri yang tumbuh pada agar nutrisi tidak terlalu padat dan memudahkan dalam pengidentifikasian bakteri selanjutnya. Pengenceran dilakukan dari  $10^{-1}$  hingga  $10^{-7}$ . Hasil pengenceran pada sampel lumpur ditunjukkan pada **Tabel 1**.

**Tabel 1**

Jumlah Koloni yang Didapat Hasil Metode Cawan Tuang

No.	Tingkat pengenceran	Jumlah koloni
1	$10^{-1}$	Too Numerous To Count (TNTC)
2	$10^{-2}$	TNTC
3	$10^{-3}$	TNTC
4	$10^{-4}$	TNTC
5	$10^{-5}$	207
6	$10^{-6}$	21
7	$10^{-7}$	-

Jumlah koloni yang dapat dijadikan acuan untuk penentuan jumlah koloni bakteri per ml sampel adalah jumlah koloni yang berkisar antara 30-300, yaitu pada pengenceran  $10^{-5}$ . Pada bakteri dengan jumlah koloni lebih dari 300, pertumbuhan bakteri terlalu padat dan mengakibatkan terjadi pertumbuhan koloni yang saling menumpuk satu sama lain sehingga tidak seluruh koloni dapat terhitung. Maka nilai tersebut dianggap tidak valid. Bila koloni bakteri yang tumbuh dengan jumlah koloni kurang dari 30, data yang didapat juga tidak valid karena pertumbuhan bakteri yang sangat sedikit dan tidak representatif. Dari seluruh koloni bakteri yang tumbuh pada masing-masing hasil pengenceran, diambil beberapa koloni berbeda untuk kemudian diidentifikasi. Pemilihan koloni yang berbeda didasarkan pada morfologinya. Berdasarkan pemilihan tersebut, didapat 6 koloni bakteri, yang diberi nama A, B, C, D, E, dan F. **Tabel 2** menunjukkan hasil pengamatan morfologi untuk setiap bekteri.

**Tabel 2**

Ciri-ciri morfologi bakteri hasil isolasi pada lumpur

Kode Bakteri	A	B	C	D	E	F	
Identifikasi Parameter Utama	Bentuk Koloni	Tidak beraturan	Rhizoid	Rhizoid	Filamentous	Tidak beraturan	Filamentous
	Tepian	Keriting	Rhizoid	Rhizoid	Filamentous	Keriting	Filamentous
	Elevasi	Timbul	Timbul	Timbul	Timbul	Timbul	Timbul
	Ukuran Koloni	sedang	Besar	Sedang	Sedang	Sedang	Sedang
	Tekstur	Lembut	Lembut	Lembut	Lembut	Lembut	Lembut
	Penampakan	Kusam	Kusam	Kusam	Kusam	Kusam	Kusam
	Pigmentasi	<i>Cream</i>	<i>Tan/</i> Kecoklatan	<i>Tan/</i> Kecoklatan	<i>Tan/</i> Kecoklatan	<i>Cream/</i> Kehijauan	<i>Tan/</i> Kecoklatan
	Optikal	Tembus cahaya	Tembus cahaya	Tembus cahaya	Tembus cahaya	Tembus cahaya	Tembus cahaya

Untuk identifikasi pada tahap awal dilakukan pemurnian dan pewarnaan Gram untuk melihat apakah bakteri tersebut sudah murni atau belum. Pewarnaan Gram juga dilakukan untuk melihat bentuk bakteri dan reaksi terhadap pewarnaan Gram. Bila bakteri sudah murni maka dapat dilakukan uji biokimia selanjutnya untuk menentukan genus dan spesies dari masing-masing bakteri (Cowan, 1974). Hasil uji pendahuluan untuk penentuan genus ditampilkan pada **Tabel 3** dan **Tabel 4**.

**Tabel 3**

Hasil Uji Penentuan Genus Bakteri Gram Positif

No	Jenis Bakteri	Identifikasi/Penentuan Genus untuk Gram Positif						
		Bentuk Bakteri	Spora	Motilitas	Pertumbuhan		Katalase	Glukosa
					Di Udara	Secara Anaerob		
1	B	Batang	+	+	+	+	+	+
2	C	Batang	+	+	+	+	+	+
3	D	Batang berantai	+	+	+	+	+	+
4	F	Batang berantai	+	+	+	+	+	+

**Tabel 4**

Hasil Uji Penentuan Genus Bakteri Gram Negatif

No	Jenis Bakteri	Identifikasi/Penentuan Genus untuk Gram Negatif						
		Bentuk Bakteri	Motilitas	Pertumbuhan		Katalase	Glukosa	OF
				Di Udara	Secara Anaerob			
1	A	Batang pendek	+	+	+	+	-	0
2	E	Batang pendek	+	+	+	+	-	0

Berdasarkan uji biokimia untuk penentuan genus yang dilakukan, bakteri B, C, D, dan F memiliki sifat-sifat yang serupa dengan Genus *Bacillus*, sedangkan untuk bakteri A dan E memiliki sifat-sifat yang serupa dengan Genus *Pseudomonas*. Dengan diketahuinya genus dari masing-masing bakteri maka identifikasi dapat dilanjutkan hingga ke tahap penentuan spesies. Dilakukan kembali serangkaian uji biokimia yang sesuai untuk penentuan spesies pada Genus

*Bacillus* dan Genus *Pseudomonas*. **Tabel 5** menunjukkan hasil uji biokimia terhadap Genus *Bacillus* dan **Tabel 6** menunjukkan hasil uji biokimia untuk Genus *Pseudomonas*.

**Tabel 5**  
Hasil Uji Biokimia untuk Genus *Bacillus*

Kode Bakteri		B	C	D	F	
Oval Tes Karakteristik	Gram	+	+	+	+	
	Motilitas	+	+	+	+	
	Morfologi	1	1	1	1	
	Spora	Bentuk	Oval	oval	oval	oval
		Posisi	tengah	tengah	tengah	tengah
	Pembekakan tubuh		-	-	-	-
	Pertumbuhan	45 <sup>o</sup> C	+	+	+	+
		65 <sup>o</sup> C	-	-	-	-
		Glukosa anaerob	-	+	+	-
		pH 5,7	+	+	+	+
		7 % NaCl	+	+	+	-
	Hidrolisa	Pati	+	+	+	+
		Kasein	+	+	+	+
		Gelatin	+	+	+	+
	Sitrat		-	+	-	-
	Uji Gula-gula	Glukosa	+	+	+	+
		Arabinosa	+	+	-	-
		Manitol	+	+	-	-
		Xylose	-	-	-	+
	VP		+	+	-	-
Indol		-	-	-	-	
Urease		-	-	-	-	

Keterangan : + = Hasil positif  
 - = Hasil negative  
 1 = spora berbentuk oval atau silinder, berada ditengah, tidak mengalami pembekakan pada bagian tubuh

Teori dari identifikasi bakteri dengan teknik konvensional adalah membandingkan bakteri yang sedang diidentifikasi dengan bakteri yang telah teridentifikasi sebelumnya. Bila tidak terdapat bakteri yang ciri-cirinya 100% serupa, maka dilakukan pendekatan terhadap bakteri yang memiliki ciri-ciri yang paling menyerupai. Oleh karena itu teknik identifikasi dengan metode konvensional akan selalu menghasilkan suatu bakteri tertentu yang sudah teridentifikasi sebelumnya dan tidak akan dapat menemukan spesies baru (Cowan, 1974). Hasil uji biokimia memberikan lima jenis spesies bakteri yang ada pada **Tabel 7**.

Berdasarkan serangkaian uji biokimia yang dilakukan, didapat bakteri dengan spesies *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus cereus*, dan *Bacillus megaterium* untuk Genus *Bacillus*, serta spesies *Pseudomonas fluorescens* untuk Genus *Pseudomonas*. Bakteri yang diidentifikasi dari lumpur pengolahan limbah cat kemungkinan besar merupakan bakteri yang turut berperan dalam proses pengolahan limbah cat yang dilakukan secara biologis dengan metode lumpur aktif. Berdasarkan penelitian yang dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri pada *commercial seed* untuk pengolahan limbah ini didapat bakteri dengan spesies *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, dan *Bacillus cereus*. Seluruh bakteri yang ada pada *seeding* ini dijumpai lagi pada lumpur hasil pengolahan limbah cat. Dapat dikatakan bahwa seluruh bakteri tersebut dapat bertahan hidup dengan keberadaan limbah cat dan menggunakan limbah cat tersebut

sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya. Maka bakteri-bakteri tersebut merupakan bakteri yang berperan dalam degradasi limbah cat. Dengan kata lain, proses biodegradasi limbah cat dilakukan dengan bakteri konsorsium. Penggunaan bakteri konsorsium memiliki keunggulan dalam proses biodegradasi dibandingkan dengan bakteri galur murni, jika pemilihan bakteri konsorsium tersebut tepat (Jadhav *et al.*, 2008).

**Tabel 6**  
Hasil Uji Biokimia untuk Genus *Pseudomonas*

Kode Bakteri		A	E	
Tes Karakteristik	Motilitas	+	+	
	Pigmen	+	+	
	Flourescence pada lampu UV	+	+	
	Pertumbuhan	5 <sup>0</sup> C	+	+
		42 <sup>0</sup> C	+	+
		Mac Conkey	+	+
	Uji Gula-gula	Glukosa	-	-
		Laktosa	-	-
		Maltosa	-	-
		Manitol	-	-
		Salicin	-	-
		Sukrosa	-	-
		Xylose	-	-
	Hidrolisis	Pati	-	-
		Gelatin	-	-
		Kasein	+	+
	Reduksi	Nitrat	+	+
Nitrit		+	+	
Urease	-	-		
Arginin dihidrilase	+	+		

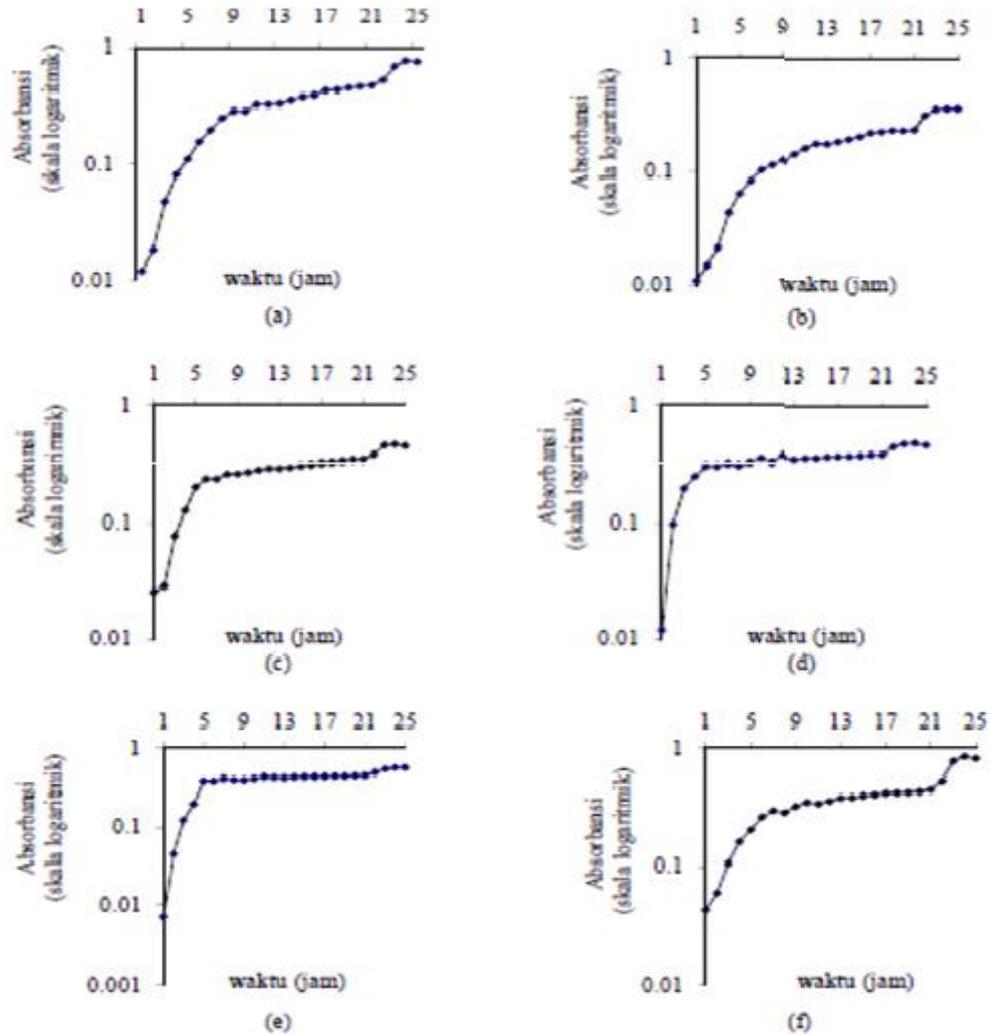
Keterangan : + = Hasil positif  
- = Hasil negative

**Tabel 7**  
Hasil Identifikasi Bakteri

No	Kode	Jenis bakteri
1	A	<i>Pseudomonas Flourescens</i>
2	B	<i>Bacillus subtilis</i>
3	C	<i>Bacillus licheniformis</i>
4	D	<i>Bacillus cereus</i>
5	E	<i>Pseudomonas Flourescens</i>
6	F	<i>Bacillus megaterium</i>

## Laju Pertumbuhan Mikroorganisme

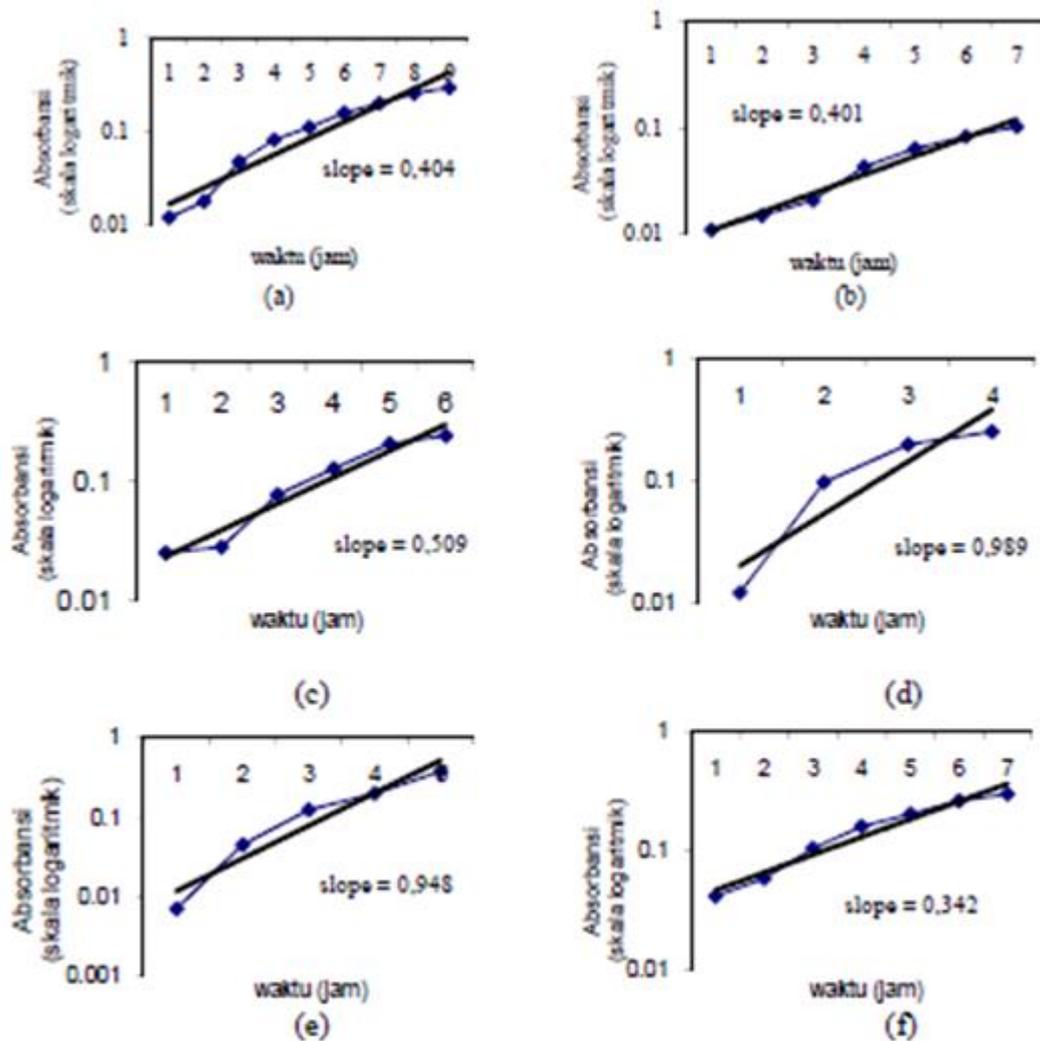
Laju pertumbuhan mikroorganisme diukur dengan menumbuhkan isolate setiap kultur bakteri murni dan campuran dalam media kaldu nutrisi (NB), diinkubasi pada 37°C dan dilakukan pengukuran nilai OD setiap satu jam sekali WW7-9 selama 24 jam. Kurva pertumbuhan dari kultur murni dan campuran diplot pada skala logaritmik dan dapat dilihat pada **Gambar 2**.



**Gambar 2.** Kurva pertumbuhan bakteri (a) *Pseudomonas fluorescens* (b) *Bacillus subtilis* (c) *Bacillus cereus* (d) *Bacillus cereus* (e) *Bacillus megaterium* (f) kultur campuran

Kurva pertumbuhan bakteri dibuat dengan tujuan untuk melihat fase-fase pertumbuhan dari masing-masing bakteri, yaitu fase lag, eksponensial, stasioner, dan kematian. Pada beberapa bakteri tidak terlihat adanya fase lag karena pengukuran dilakukan satu jam sekali, sehingga perubahan yang terjadi dalam rentang waktu kurang dari satu jam tidak diketahui. Fase kematian juga tidak terlihat karena pembuatan kurva pertumbuhan dengan metode tidak langsung ini tidak dapat membedakan sel mati serta sel yang hidup, sehingga seolah-olah tidak ada fase kematian.

Hasil linearisasi dari fase eksponensial digunakan untuk menentukan waktu generasi ( $g$ ) dan konstanta laju pertumbuhan ( $k$ ) dan dapat dilihat pada **Gambar 3**.



**Gambar 3.** Linearisasi fase eksponensial pada kurva tumbuh bakteri: (a) *Pseudomonas fluorescens* (b) *Bacillus subtilis* (c) *Bacillus cereus* (d) *Bacillus cereus* (e) *Bacillus megaterium* (f) kultur campuran

Dari hasil linearisasi fase eksponensial, nilai  $g$  dan  $k$  dapat dihitung dengan formula (Madigan, *et al.*, 2003) :

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

$$k = 0,693 / g$$

Nilai waktu generasi dan konstanta laju pertumbuhan untuk masing-masing bakteri dapat dilihat pada **Tabel 8**.

**Tabel 8**

Waktu generasi dan konstanta laju pertumbuhan untuk masing-masing bakteri

Bakteri	Waktu generasi (menit)	Konstanta laju pertumbuhan ( $\text{jam}^{-1}$ )
<i>Pseudomonas Fluorescens</i>	44,67	0,93
<i>Bacillus subtilis</i>	45,04	0,92
<i>Bacillus licheniformis</i>	35,42	1,17
<i>Bacillus cereus</i>	18,29	2,27
<i>Bacillus megaterium</i>	19,04	2,18
<i>Bakteri konsorsium</i>	52,70	0,79

Waktu generasi dari masing-masing bakteri memiliki nilai yang berbeda dan berkisar antara 18,29 menit hingga 52,70 menit. Konstanta laju pertumbuhan dari masing-masing bakteri juga memiliki nilai yang berbeda, yang tergantung pada kemampuan metabolisme masing-masing bakteri. Konstanta laju pertumbuhan ini menunjukkan banyaknya bakteri yang tumbuh per unit waktu pada kultur yang tumbuh secara eksponensial. Nilainya bervariasi antara 0,79 jam<sup>-1</sup> hingga 2,27 jam<sup>-1</sup>. Terlihat bahwa laju pertumbuhan tertinggi terjadi pada *Bacillus cereus*, sedangkan laju pertumbuhan terendah terjadi pada bakteri konsorsium. Hal ini mengindikasikan terjadi kompetisi dalam memperebutkan substrat pada bakteri konsorsium, sehingga pertumbuhan bakteri menjadi lambat.

Pada penelitian biodegradasi skala laboratorium, kosubstrat ditambahkan sebagai substrat awal selama bakteri beradaptasi dengan substrat utamanya, dalam hal ini limbah. Maka pemilihan bakteri konsorsium yang digunakan pada pengolahan limbah harus didasarkan pada kurva pertumbuhan. Bakteri konsorsium akan bekerja optimal jika masing-masing bakteri yang digabungkan memiliki fase eksponensial tahap kedua yang berbeda. Dengan demikian, masing-masing bakteri tidak akan mengalami kompetisi sumber karbon, dalam hal ini limbah, selama pertumbuhannya.

## KESIMPULAN

Bakteri yang didapat dari hasil identifikasi bakteri pada lumpur pengolahan limbah cat adalah *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, dan *Pseudomonas fluorescens*. Seluruh bakteri yang berasal dari *seeding* mampu bertahan selama proses pengolahan limbah cat dan terdapat pula pada lumpur hasil pengolahan limbah cat.

Nilai waktu generasi (g) dan konstanta laju pertumbuhan (k) untuk masing-masing bakteri adalah 44,67 menit dan 0,93 jam<sup>-1</sup> untuk *Pseudomonas fluorescens*; 45,04 menit dan 0,92 jam<sup>-1</sup> untuk *Bacillus subtilis*; 35 menit dan 1,17 jam<sup>-1</sup> untuk *Bacillus licheniformis*; 18 menit dan 2,27 jam<sup>-1</sup> untuk *Bacillus WW7-12 cereus*, 19 menit dan 2,18 jam<sup>-1</sup> untuk *Bacillus megaterium*, serta 53 menit dan 0,79 jam<sup>-1</sup> untuk kultur campuran. Perbedaan nilai ini didasarkan pada kemampuan metabolisme masing-masing bakteri.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian yang dibiayai oleh PT Showa Mfg. melalui Yayasan LAPI ITB Tahun 2009.

## DAFTAR PUSTAKA

- Chang, Jo-Shu., Kuo, Tai-Shin., Chao, Yun-Peng., Ho, Jin-Yen., Lin, Ping-Jei. 2000. Azo dye decolorization with a mutant *Escherichia coli* strain. *Biotechnology Letters* **22** pp 807-812
- Cowan, S.T. 1974. *Manual for the Identification of Medical Bacteria*. Great Britain : Cambridge University Press
- Hvitved-Jacobsen.,2002. *Sewer processes*, CRC Press, USA.
- Jadhav, S.U., Jadhav, U. U., Dawkar, V. V., Govindwar, S. P., 2008. Biodegradation of Disperse Dye Brown 3REL by Microbial Consortium of *Galactomyces geotrichum* MTCC 1360 and *Bacillus* sp. VUS. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. **Vol. 13** pp 232-239
- Kalyani, Dayanad C., Telke, Amar A., Govindwar, S. P., Jadhav, J. P. 2009. Biodegradation and Detoxification of Reactive Textile Dye by Isolated *Pseudomonas* sp. *Water Environment Research. ProQuest Agriculture Journals*. p 298
- Madigan, M.T.,Martinko,J.M.,Parker, P. 2003. *Biology of Microorganism*. 10<sup>th</sup> Edition. Prentice Hall.USA.

- Mutafov, S., Avramora, T., Stevanofa, L., Angelova, B. 2007. Decolorization of Acid Orang 7 by Bacteria of Different Tinctorial Type. *World Journal Microbial Biotechnol.*
- Meitiniarti, V. Irene., Soetarto, Endang S., Sugiharto, Eko., Timotius, Kris Herawan. 2008. Optimum Concentration of Glucose and Orange II for Growth and Decolorization of Orange II by *Enterococcus faecalis* ID6017 under Static Culture. *Microbiology Indonesia*. **Vol. 2** pp 73-78
- Reynolds, D. Tom. 1982. *Unit Operations and Processes In Environmental Engineering*. Belmont, California: wadsworth Inc.