

IDENTIFIKASI MIKROBA ANAEROB DOMINAN PADA PENGOLAHAN LIMBAH CAIR PABRIK KARET DENGAN SISTEM MULTI SOIL LAYERING (MSL)

IDENTIFICATION OF ANAEROBIC DOMINANT MICROBES IN RUBBER INDUSTRIAL WASTE WATER TREATMENT WITH MULTI SOIL LAYERING (MSL) SYSTEM

Puti Sri Komala, Denny Helard, Detia Delimas

Laboratorium Air Jurusan Teknik Lingkungan Universitas Andalas

Email : putisrikomala@ft.unand.ac.id

ABSTRAK

*Dalam penelitian ini telah dilakukan identifikasi mikroorganisme dominan pada reaktor Multi Soil Layering (MSL) pada pengolahan limbah cair karet. Reaktor MSL terdiri dari campuran tanah andesol, arang halus dan serbuk gergaji sebagai impermeable layer dan perlit sebagai permeable layer. Pengambilan sampel mikroorganisme dilakukan di tiga lapisan tanah dengan jarak dari permukaan reaktor 5 cm, 15 cm, 25 cm. Dari hasil penghitungan jumlah koloni, didapatkan jumlah koloni pada masing-masing lapisan adalah 103.10^4 , 96.10^4 , 90.10^4 . Berdasarkan pengamatan secara mikroskopis, bakteri dominan yang didapatkan semuanya berbentuk batang (bacillus), gram positif (91,2%) dan gram negatif (8,8%) dan rata-rata panjang sel dominan 4–5 μm dan lebar 0,75–1 μm . Dari hasil uji reaksi biokimia didapatkan 13 jenis bakteri dominan dengan urutan *Bacillus licheniformis* (20,8%), *Desulfomaculum nigricans* (16,67%), *Desulfomaculum ruminis* (12,5%), *Bacterionema matruchotti* (8,33%) dan *Bacillus polimyxa*, *Clostridium sordelli*, *Fusobacterium aquatile*, *Citrobacter intermedius*, *Enterobacter cloacea*, *Bacteroides putredisi*, *Clastridium berjerick*, *Actinomyces viscosus* masing-masing 4,17%. Bakteri dominan yang didapat mampu mendegradasi limbah cair karet sampai di bawah baku mutu, kecuali nitrogen.*

Kata kunci: limbah industri cair pabrik karet, mikroba anaerob, Multi Soil Layering (MSL)

ABSTRACT

*In this study the identification of the dominant microorganisms in the Multi Soil Layering (MSL) reactor for rubber wastewater treatment was carried out. The MSL reactor consists of andesol soil mix, charcoal and sawdust as impermeable layer and perlite as a permeable layer. Microorganisms samples were taken from three soil layers at 5 cm, 15 cm, 25 cm respectively of the reactor surface. The colonies counting of each soil layers, was 103×10^4 , 96×10^4 , 90×10^4 consecutively. Microscopic observation showed that the dominant bacteria were all the rod-shaped (bacillus), gram-positive (91.2%) and gram negative (8.8%) and the average dominant cell length of 4-5 μm and a cell width of 0,75-1 μm . From the biochemical reactions tests 13 bacterial species dominant were obtained i.e. *Bacillus licheniformis* (20.8%), *Desulfomaculum nigricans* (16.67%), *Desulfomaculum ruminis* (12.5%), *Bacterionema matruchotti* (8.33%) and *Bacillus polimyxa*, *sordelli*, *Clostridium*, *Fusobacterium aquatile*, *Citrobacter intermedius*, *Enterobacter cloacea*, *Bacteroides putredisi*, *Clastridium berjerick*, *Actinomyces viscosus* were 4.17% respectively. The dominant bacteria were capable to degrade constituents in rubber industrial wastewater below the quality standard, except nitrogen.*

Key words: anaerobic microbes, Multi Soil Layering (MSL), rubber industrial wastewater

PENDAHULUAN

Pengolahan limbah dengan memanfaatkan tanah telah dilakukan sejak dahulu sebagai pengolahan alami yang efektif dan efisien. Meskipun pengolahan ini sangat murah, namun membutuhkan area tanah yang luas jika dibandingkan dengan sistem lainnya.

Salah satu metode pengolahan yang memanfaatkan media tanah adalah *Multi Soil Layering* (MSL), yaitu media tanah sebagai media utama disusun dalam sebuah konstruksi susunan batu bata yang terdiri atas lapisan campuran tanah dengan 10-35% partikel besi, bahan organik dan lapisan *zeolite* (Wakatsuki dkk., 1993). MSL dilengkapi 2 zone pengolahan yaitu zone aerob pada lapisan *zeolite* dan zone anaerob pada lapisan tanah (Salmariza, 2002). Mekanisme pengolahan pada reaktor MSL merupakan kombinasi proses fisika, kimia dan biologi. Dalam pengolahan biologis, bakteri merupakan komponen terbesar yang berperan dalam mendegradasi limbah dengan jumlah lebih dari 10^{13} bakteri/m² permukaan tanah (Masunaga dkk, 2012).

Dalam penelitian ini dilakukan identifikasi terhadap mikroorganisme anaerob yang berperan dalam pengolahan limbah cair karet karena pengolahan dominan yang terjadi adalah secara anaerob yang terdapat pada lapisan tanah. Sampling tanah dilakukan pada saat kondisi reaktor MSL sudah *steady state* dan identifikasi bakteri dilakukan menurut determinasi *Bergey's Manual for Identification*. Dengan mengetahui jenis mikroorganisme dominan diharapkan dapat dikembangkan suatu sistem MSL dengan kultur mikroorganisme dominan sehingga menghasilkan kinerja yang maksimal dan dapat mengolah limbah

cair karet dengan karakteristik sejenis sesuai dengan karakteristik mikroorganisme.

METODOLOGI PENELITIAN

Lokasi Penelitian

Pengolahan limbah cair karet menggunakan reaktor MSL dilakukan di Bagian Litbang Balai Riset dan Standardisasi Industri dan Perdagangan Padang. Sementara itu pemeriksaan bakteri dominan reaktor MSL dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Andalas Padang.

Limbah Cair Industri Karet

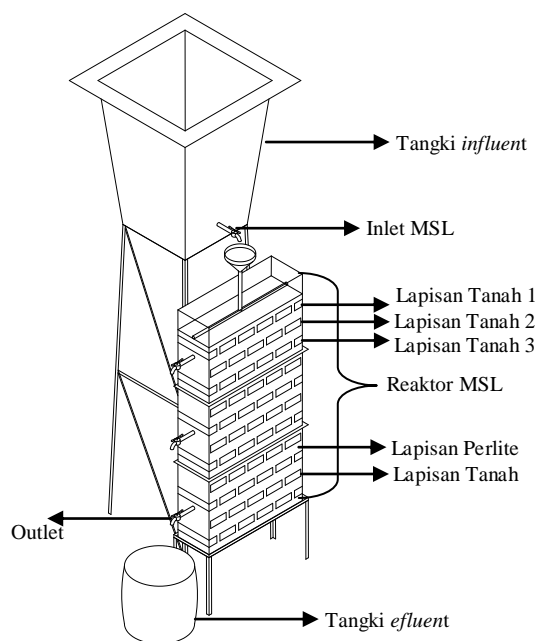
Limbah cair industri karet berasal dari PT Lembah Karet Padang yang diambil dari bagian bak pengumpul limbah. Karakteristik limbah yang diukur ditentukan berdasarkan Kep. MENLH No. 51/MENLH/10/1995

Reaktor MSL

Reaktor MSL terbuat dari bahan *plexiglass* berbentuk segi empat dengan dimensi 50 x 15 x 150 cm (Gambar 1). Media dalam reaktor terdiri dari campuran tanah andesol, arang halus dan serbuk gergaji sebagai *impermeable layer* dengan perbandingan 2 : 0,5 : 0,5 dan *perlite* dengan ukuran 3–5 mm sebagai *permeable layer*. Umpan berupa limbah karet dalam tangki berukuran 150 L dialirkan secara kontinu ke dalam reaktor MSL dan efluen yang dihasilkan ditampung dalam tangki tempat penampungan efluen yang bervolume 100 L.

Reaktor MSL yang digunakan telah dioperasikan selama tiga tahun sehingga kondisi reaktor sudah dalam kondisi *steady state* yaitu kondisi dimana efluen dari reaktor MSL memiliki nilai yang sudah

stabil. Kestabilan reaktor diukur berdasarkan nilai konsentrasi COD tiga hari berturut-turut dengan perbedaan sekitar 10%. Parameter yang diukur selama percobaan adalah BOD, COD, TSS, total amoniak, total nitrogen dan pH dengan laju aliran 1000 l/m²/hr.



Gambar 1. Reaktor MSL

Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Sampel mikroorganisme berasal dari lapisan tanah yang diambil pada tiga lapisan tanah yang berjarak 5 cm, 10 cm, 25 cm dari permukaan MSL untuk diisolasi dan dikarakterisasi. Isolasi bakteri dengan menggunakan medium *nutrient agar* (NA) yang berbentuk padat, sehingga terbentuk suatu koloni sel yang tetap pada tempatnya. Penghitungan total bakteri dengan alat penghitung koloni (*colony counter*). Total bakteri didapatkan dengan rumus (Fardiaz, 1993):

$$\text{Jumlah sel bakteri/ml sampel} = \text{jumlah koloni bakteri} \times 1/\text{faktor pengenceran} \quad (1)$$

Pemurnian bakteri dengan menggunakan medium NA modifikasi. Teknik isolasi menggunakan metode preparat *spread plate* atau *streak plate*. Isolasi bakteri dilakukan beberapa kali sampai didapatkan koloni yang sudah murni (Cappuccino, 1987). Pengamatan secara makroskopis terhadap perbedaan warna, bentuk permukaan dan pinggiran koloni yang dilakukan setiap tahapan isolasi bakteri. Pewarnaan gram dilakukan dengan metoda teknik pewarnaan bertingkat. Zat warna yang digunakan adalah kristal violet, lugol iodin, safranin dan pelarut lain alkohol dan air suling (Sutedjo, 1991). Pengamatan secara mikroskopis dilakukan untuk menentukan perbedaan bentuk, ukuran sel dan hasil reaksi pewarnaan gram dengan menggunakan mikroskop. Uji reaksi biokimia bakteri dilakukan sesuai dengan Cappuccino (1987):

- Uji H₂S dengan medium TSIA.
- Uji Katalase dengan medium TSIA.
- Uji pergerakan dengan medium SIM.
- Uji Indol menggunakan medium SIM.
- Uji sitrat menggunakan medium SCA.
- Uji Urease dengan medium urea.
- Uji *Methyl Red* (MR) menggunakan medium MR-VP.
- Uji *Voges Proskauer* (VP) dengan medium MR-VP.
- Uji Karbohidrat (Glukosa, Laktosa, Sukrosa dan Manitol) menggunakan medium khusus gula.

Untuk mendapatkan jenis mikroorganisme dominan yang berperan dalam pengolahan limbah cair karet secara biologi adalah dengan mencocokkan karakteristik fisik dan

biokimia yang didapat dengan cara determinasi *Bergey's Manual* (Holt dkk., 1994).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Limbah Cair Karet

Parameter limbah cair industri karet yang dianalisis berdasarkan pada Kep. MENLH No. 51/MENLH/10/1995 serta revisinya dan SK Gubernur No. 660.1-614-1997. Hasil pengukuran parameter limbah cair karet di bak pengumpul limbah dapat dilihat pada Tabel 1. Dari seluruh parameter yang dianalisis terlihat bahwa kualitas limbah cair karet masih di atas baku mutu yang berlaku dan perlu pengolahan sebelum dibuang ke perairan.

Tabel 1. Kualitas Limbah Cair Industri Karet PT Lembah Karet Padang

Parameter	Kualitas limbah cair	
	Limbah Cair Karet (mg/l)	Baku Mutu (mg/l)
BOD	150	60
COD	300	200
TSS	150	100
Amoniak Total	13	5
N total	36	10
pH	5,6	6-9

Pengolahan Limbah Cair Karet dengan Reaktor MSL

Reaktor MSL yang digunakan untuk mengolah limbah cair karet sudah dalam kondisi *steady state*. Laju pembebanan saat pengolahan adalah 1000 l/m²/hr. Hasil penyisihan masing-masing parameter pada tiga bulan terakhir dapat dilihat pada Tabel 2. Pada umumnya parameter yang ada dalam limbah industri karet telah mengalami penurunan dan berada di bawah baku mutu yang berlaku, kecuali nitrogen.

Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Penghitungan Jumlah Koloni Bakteri

Penghitungan koloni bakteri dilakukan dengan menggunakan *colony counter* dengan hasil yang diperlihatkan pada Tabel 3. Berdasarkan Tabel 3 terlihat bahwa jumlah koloni bakteri pada lapisan paling atas (aerob) lebih banyak daripada lapisan bagian bawah (anoksik-anaerob). Hal ini dikarenakan semakin jauh jarak lapisan tanah dari permukaan MSL, maka kemungkinan berkontak dengan udara semakin kecil sehingga kondisi lingkungan hidup bakteri menjadi *strict anaerob*.

Tabel 2. Hasil Pengolahan Limbah Cair Karet dengan Reaktor MSL

Parameter	Konsentrasi					
	I	II	III	IV	V	VI
BOD (mg/l)	4,71	2,61	0,05	2,26	2,08	2,31
COD (mg/l)	5	10	23	1	10	8
TSS (mg/l)	4	5	6,5	4	9	2
Amoniak Total (mg/l)	7,1	3,48	0,69	0,06	0,8	0,77
Nitrogen Total (mg/l)	10,38	9,88	16,85	17,82	15,54	15,75
pH	6,75	6,13	6,38	6,29	6,85	6,09

I-IV: waktu pengukuran (1 x 15 hari)

Tabel 3. Jumlah Koloni Bakteri

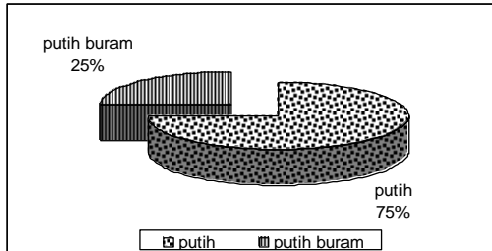
No	Lapisan tanah	Jumlah koloni bakteri
1	Lapisan 1	103x10 ⁴
2	Lapisan 2	96x10 ⁴
3	Lapisan 3	90x10 ⁴

Isolasi Bakteri

Proses isolasi pada medium NA modifikasi dilakukan sebanyak lima kali sampai didapatkan koloni yang dianggap murni yaitu 24 jenis isolat bakteri. Dari bakteri yang diisolasi tersebut diamati secara makroskopik dan mikroskopik dalam uraian berikut ini.

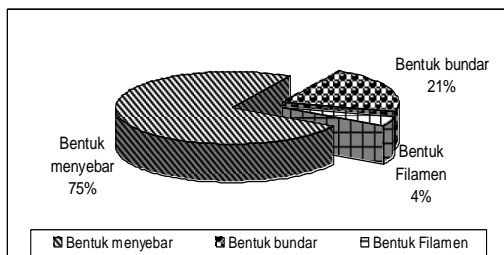
Pengamatan secara makroskopis

Pengamatan secara makroskopis dilakukan untuk melihat perbedaan bentuk koloni bakteri. Hasil pengamatan secara makroskopis dapat dilihat pada Gambar 2 sampai 5.

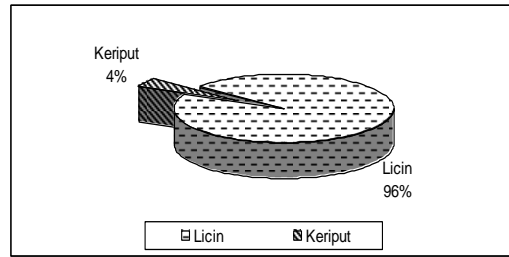


Gambar 2. Persentase Jumlah Koloni Bakteri Berdasarkan Perbedaan Warna

Sebagian besar koloni bakteri berwarna putih (75 %) dan sisanya berwarna putih buram (25 %) (Gambar 2). Bentuk koloni dominan adalah menyebar (75 %), selebihnya berbentuk bundar (20,8 %) dan sisanya berbentuk filamen (4,2 %) (Gambar 3). Umumnya sebagian besar bakteri mempunyai bentuk permukaan koloni yang licin (95,8 %), hanya sedikit yang berbentuk keriput (4,2%) (Gambar 4). Bentuk pinggiran koloni dominan adalah tidak rata atau bergirigi (79,2%) dan sisanya mempunyai pinggiran koloni rata (20,8 %) (Gambar 5).



Gambar 3. Persentase Jumlah Koloni Bakteri Berdasarkan Perbedaan Bentuk



Gambar 4. Persentase Jumlah Koloni Bakteri Berdasarkan Perbedaan Bentuk Permukaan Koloni

Pengamatan secara mikroskopis

Pengamatan secara mikroskopis dilakukan untuk mengetahui perbedaan bentuk dan ukuran sel bakteri. Secara keseluruhan bentuk, ukuran dan Gram bakteri dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Perbedaan Bakteri secara Mikroskopis pada 24 Isolat

No sampel	Ukuran sel (µm)	Bentuk sel	Gram
1	5 x 0,75	Batang	+
2	2 x 1	Batang	+
3	6 x 1	Batang	+
4	5 x 1	Batang	+
5	5 x 1	Batang	+
6	9 x 1,5	Batang	+
7	4 x 1,5	Batang	+
8	4 x 0,75	Batang	+
9	5 x 0,5	Batang	+
10	4 x 1,5	Batang	+
11	4 x 0,75	Batang	+
12	5 x 0,75	Batang	+
13	3 x 0,5	Batang	-
14	10 x 1	Batang	+
15	2,5 x 0,75	Batang	-
16	4 x 1	Batang	+
17	3 x 1	Batang	+
18	2 x 1	Batang	+
19	5 x 1	Batang	+
20	2 x 1	Batang	+
21	1,5 x 1	Batang	+
22	5 x 0,75	Batang	+
23	6 x 1	Batang	+
24	2,5 x 0,5	Batang	+

Umumnya rentang ukuran lebar sel berkisar antara 0,5–1,5 µm, sementara panjang sel lebih bervariasi yaitu 1,5–10 µm. Ukuran panjang dominan bakteri adalah 3–5 µm dan

Karakteristik Bakteri Dominan

1. *Bacillus licheniformis*

Bakteri ini merupakan bakteri dengan jumlah terbanyak yang ditemukan pada MSL (20,83%) yang tumbuh baik pada kondisi fakultatif anaerob. Pada medium NA modifikasi koloni *Bacillus licheniformis* tumbuh menyebar dengan pinggiran koloni tidak rata, berwarna putih buram–putih, sel berbentuk batang, diameter batang 0,5 –1 µm, panjang sel 5–10 µm dan gram positif. Sel umumnya berbentuk rantai. Pengamatan secara mikroskopis dapat dilihat pada Gambar 7. Menurut Holt dkk. (1994), jenis *Bacillus licheniformis* bergerak dengan flagella dan hidup pada temperatur 5–55 °C. Jenis ini biasa ditemukan di tanah dan makanan. Hasil uji biokimia *Bacillus licheniformis* mampu memfermentasi beberapa jenis gula, reaksi urea positif, katalase positif, H₂S positif, sitrat positif, indol positif, *voges prokauer positif*, *methyl red* positif.



Gambar 7. *Bacillus licheniformis* dengan perbesaran 1000x

Tabel 6. Identifikasi 13 Isolat Murni dan Persentase

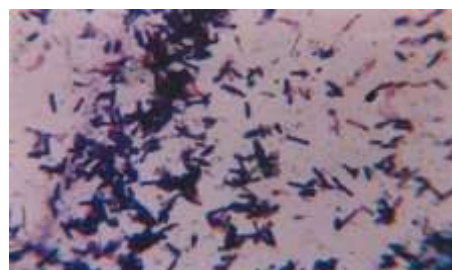
No	Nama bakteri	(%)
1	<i>Bacillus licheniformis</i>	20,83%
2	<i>Desulfomaculum nigricans</i>	16,67%
3	<i>Desulfomaculum ruminis</i>	12,5%
4	<i>Bacterionema matruchotti</i>	8,33%
5	<i>Clostridium tetani</i>	8,33%
6	<i>Bacillus polimyxa</i>	4,17%
7	<i>Clostridium sordelli</i>	4,17%
8	<i>Fusobacterium aqutile</i>	4,17%
9	<i>Citrobacter intermedium</i>	4,17%

No	Nama bakteri	(%)
10	<i>Enterobacter cloacea</i>	4,17%
11	<i>Bacteroides putredisi</i>	4,17%
12	<i>Clastridium berjerick</i>	4,17%
13	<i>Actinomyces viscosus</i>	4,17%

2. *Desulfomaculum nigricans*

Desulfomaculum nigricans merupakan populasi bakteri kedua terbanyak (16,67%) pada MSL. Hasil pengamatan secara makroskopis isolat pada medium NA modifikasi, koloni pada isolat ke dua yaitu *Desulfomaculum nigricans* tumbuh menyebar, pinggiran koloni bergerigi, koloni berwarna putih–putih buram, permukaan koloni datar dan licin, sel berbentuk batang, diameter sel 0,5–1 µm, panjang sel 5–6 µm dan gram positif. Sel umumnya berbentuk batang tunggal (*monobacillus*) (Gambar 8).

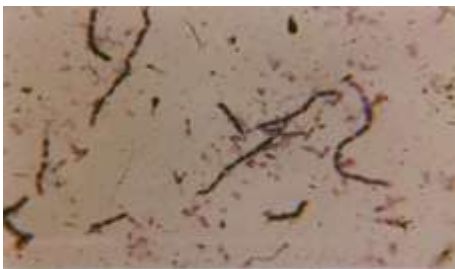
Karakteristik lain dari *Desulfomaculum nigricans* adalah bergerak dengan peritrichous flagella, dapat menghasilkan spora dan bersifat *strict anaerobic*. Umumnya tumbuh pada rentang temperatur 35–55 °C, tapi ada juga yang dapat tumbuh pada suhu <35 °C. Jenis ini biasa ditemukan di tanah, air tawar dan saluran pencernaan serangga (Holt dkk., 1994). *Desulfomaculum nigricans* dapat memfermentasi gula, urea negatif, katalase positif, H₂S positif, sitrat positif, indol, *methyl red*, *voges prokauer* positif.



Gambar 8. *Desulfomaculum nigricans* dengan 1000x perbesaran

3. *Desulfomaculum ruminis*

Populasi ketiga terbanyak adalah *Desulfomaculum ruminis* dengan jumlah 12,5% dari populasi bakteri MSL. Pada medium NA modifikasi bakteri ini tumbuh dengan bentuk koloni bundar atau bulat dan pinggiran koloni rata, berwarna putih buram, sel berbentuk batang, diameter batang 0,5–1,5 μm , panjang sel 3–4 μm , gram positif. Sel umumnya berbentuk rantai batang (*streptobacillus*) seperti terlihat pada Gambar 9.



Gambar 9. *Desulfomaculum ruminis* dengan 1000x perbesaran

Desulfomaculum ruminis merupakan bakteri obligate anaerob yang mempunyai alat gerak *peritrichous flagella* dan dapat menghasilkan spora. Jenis ini umumnya dapat tumbuh 30–48 $^{\circ}\text{C}$ dan biasanya ditemukan di tanah, air tawar, makanan busuk, saluran pencernaan serangga dan dalam *rumen* (Holt dkk., 1994). Bakteri *Desulfomaculum ruminis* dapat memfermentasi beberapa jenis gula, reaksi urea positif, katalase positif, H_2S positif, sitrat positif, indol positif, *voges prokauer* positif, *methyl red* negatif.

4. *Bacterionema matruchotii*

Populasi dominan berikutnya adalah *Bacterionema matruchotii* dengan jumlah 8,33% dari bakteri MSL. *Bacterionema matruchotii* mempunyai bentuk koloni menyebar dengan pinggiran bergerigi, permukaan koloni datar dan licin, diameter sel 0,75–1 μm , panjang sel 2–5 μm dan

reaksi gram positif. Sel umumnya berbentuk tunggal (*monobacillus*), seperti terlihat pada Gambar 10.

Sel *Bacterionema matruchotii* berbentuk batang, tidak bergerak, tidak dapat menghasilkan endospora dan bersifat anaerob fakultatif. Bakteri ini umumnya ditemukan pada binatang, dapat tumbuh pada rentang suhu 22–42 $^{\circ}\text{C}$ dan pH 6,5–7,5. Hasil uji reaksi biokimia dari *Bacterionema matruchotii* adalah dapat memfermentasi beberapa jenis gula, urea negatif, katalase positif, H_2S positif, sitrat positif, indol negatif, *voges prokauer* positif, *methyl red* negatif.



Gambar 10. *Bacterionema matruchotii* dengan 1000x perbesaran

5. *Clostridium tetani*

Jumlah populasi yang sama dengan *Bacterionema matruchotii* adalah *Clostridium tetani* dengan jumlah 8,33% dari bakteri MSL. *Clostridium tetani* pada medium NA modifikasi tumbuh menyebar dan berfilamen, pinggiran tidak rata, permukaan datar dan licin, berwarna putih, gram positif, sel umumnya berbentuk rantai (*streptobacillus*), diameter sel 0,5–1 μm , panjang sel 2–10 μm . Hasil pengamatan secara mikroskopis dapat dilihat pada Gambar 11. Menurut Holt dkk. (1994), jenis *Clostridium tetani* berbentuk batang, bergerak dengan *peritrichous flagella*, bersifat anaerob dengan rentang suhu pertumbuhan 10–43 $^{\circ}\text{C}$ dan biasa ditemukan

di tanah, feses dan saluran pencernaan manusia. Berdasarkan hasil uji biokimia dapat dilihat bahwa *Bacteroides putredinis* dapat memfermentasi gula, urea negatif, katalase positif, H₂S negatif, sitrat positif, indol positif, *voges prokauer* positif dan *methyl red* positif.



Gambar 11. *Clostridium tetani* dengan perbesaran 1000x

Bakteri-bakteri berikut ini adalah populasi bakteri minoritas yang jumlahnya masing-masing sekitar 4% dari keseluruhan bakteri MSL.

6. *Bacillus polymyxa*

Bakteri yang diidentifikasi sebagai *Bacillus polymyxa* tumbuh menyebar, berwarna putih buram-putih dengan pinggiran koloni tidak rata, permukaan koloni datar dan licin, gram positif, sel berbentuk batang, diameter sel 0,75–1 µm dan panjang sel 5–1,1 µm. Sel umumnya berbentuk tunggal (*monobacillus*) seperti yang diperlihatkan pada Gambar 12.



Gambar 12. *Bacillus polymyxa* dengan 1000x perbesaran

Sel bakteri ini berbentuk batang, bergerak dengan *flagella* dan respirasi secara fakultatif anaerob. Organisme ini biasa ditemukan pada kotoran dan air tawar yang terkontaminasi, bisa tumbuh pada rentang suhu 5–45 °C dan rentang pH 6–7. *Bacillus polymyxa* dapat memfermentasi beberapa jenis gula, tidak menghasilkan enzim urease, menghasilkan enzim katalase, menghasilkan gas H₂S, sitrat positif, indol positif, *voges prokauer* positif, *methyl red* negatif.

7. *Clostridium sordelli*

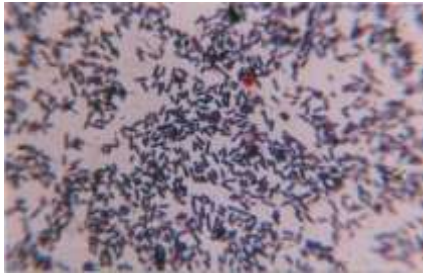
Bakteri minoritas yang diidentifikasi sebagai *Clostridium sordelli* tumbuh dengan bentuk koloni bundar atau bulat dan pinggiran koloni rata, berwarna putih, sel berbentuk batang, diameter batang 0,5–1 µm, panjang sel 2–4 µm, gram positif (Gambar 13). Sel umumnya berbentuk rantai batang (*streptobacillus*).

Spesies *Clostridium sordelli* bergerak dengan *peritrichously flagella*, dapat menghasilkan endospora dan respirasi secara *strict anaerobic*. Umumnya dapat tumbuh pada rentang temperatur 25–40 °C. Jenis ini biasa ditemukan tanah dengan kandungan organik tinggi, air tawar, hewan laut, saluran pencernaan manusia. Bakteri *Clostridium sordelli* dapat memfermentasi beberapa jenis gula, menghasilkan enzim urease, menghasilkan enzim katalase, menghasilkan gas H₂S, sitrat positif, indol positif, *voges prokauer* negatif, *methyl red* negatif.

8. *Fusobacterium aquatile*

Koloni *Fusobacterium aquatile* tumbuh dengan bentuk koloni bulat, pinggiran rata, permukaan datar dan licin, berwarna putih,

gram positif, diameter sel 0,25–0,75 μm , panjang sel 2–10 μm (Gambar 14).



Gambar 13. *Clostridium sordelli* dengan 1000x perbesaran



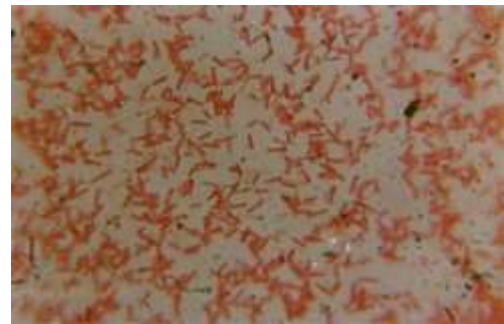
Gambar 14. *Fusobacterium aquatile* dengan 1000x perbesaran

Fusobacterium aquatile bergerak dengan *peritrichous flagella* dan respirasi secara *strict anaerobic*. Umumnya dapat tumbuh 37 $^{\circ}\text{C}$ dan pH 5,3–5,6. Jenis ini biasa ditemukan tanah, air, saluran pernafasan manusia, rongga mulut, feses, saluran pencernaan manusia dan air sungai. Spesies *Fusobacterium aquatile* dapat memfermentasi beberapa jenis gula, tidak menghasilkan enzim urease, menghasilkan enzim katalase, tidak menghasilkan gas H_2S , sitrat positif, indol positif, *voges prokauer* positif, *methyl red* negatif.

9. *Citrobacter intermedius*

Spesies *Citrobacter intermedius* tumbuh menyebar, pinggiran tidak rata, permukaan datar dan licin, berwarna putih, gram negatif, sel umumnya berbentuk batang tunggal (*monobacillus*), diameter sel 0,5 μm , panjang sel 3 μm (Gambar 15).

Citrobacter intermedius berbentuk batang, bergerak dengan *peritrichously flagella*, dapat membentuk spora, respirasi secara *strict anaerobic* dengan rentang suhu pertumbuhan 25–75 $^{\circ}\text{C}$. Umumnya jenis ini ditemukan di tanah, urin, feses, usus besar manusia dan makanan yang sudah busuk. *Citrobacter intermedius* dapat memfermentasi gula, menghasilkan enzim urease, menghasilkan enzim katalase, menghasilkan gas H_2S , sitrat positif, indol positif dan *methyl red–voges prokauer* positif.



Gambar 15. *Citrobacter intermedius* dengan 1000x perbesaran

10. *Enterobacter cloacea*

Bakteri *Enterobacter cloacea* tumbuh menyebar, pinggiran tidak rata, permukaan datar dan licin, berwarna putih, gram negatif, sel umumnya berbentuk batang tunggal (*monobacillus*), diameter sel 0,5 μm , panjang sel 5 μm (Gambar 16).

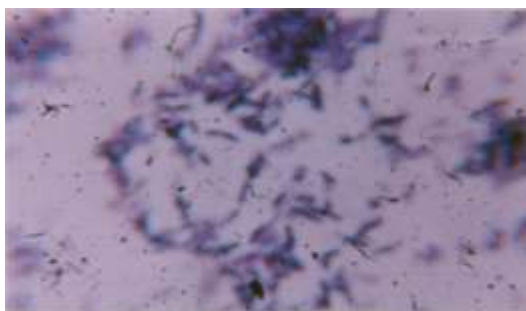


Gambar 16. *Enterobacter cloacea* dengan 1000x perbesaran

Bakteri *Enterobacter cloacea* berbentuk batang, bergerak dengan *peritrichously flagella*, dapat membentuk endospora, respirasi secara fakultatif anaerob dengan rentang suhu pertumbuhan 10–45⁰C. Umumnya jenis ini ditemukan di tanah, feses manusia dan binatang, air dan limbah rumah tangga. *Enterobacter cloacea* dapat memfermentasi gula, menghasilkan enzim urease, menghasilkan enzim katalase, menghasilkan gas H₂S, sitrat positif, indol positif dan *voges prokauer* positif, *methyl red* negatif.

11. *Bacteroides putredinis*

Koloni *Bacteroides putredinis* tumbuh dengan bentuk bundar atau bulat, pinggiran koloni rata, permukaan datar dan licin, berwarna putih, gram positif sel umumnya berbentuk batang tunggal (*monobacillus*), diameter sel 0,5-1 µm, panjang sel 3-5 µm (Gambar 17).



Gambar 17. *Bacteroides putredinis* dengan 1000x perbesaran

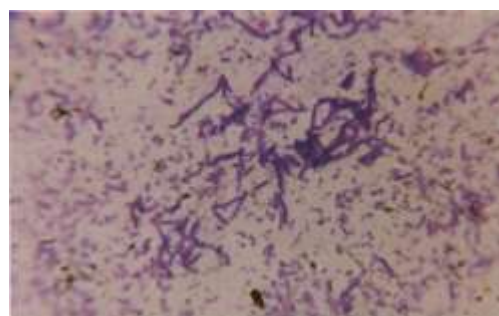
Bacteroides putredinis berbentuk batang, bergerak dengan *peritrichous flagella*, respirasi secara fakultatif anaerob dengan rentang suhu pertumbuhan 25–45 °C. Umumnya jenis ini ditemukan di tanah dan air buangan. *Bacteroides putredinis* dapat memfermentasi gula, menghasilkan enzim urease, menghasilkan enzim katalase, menghasilkan gas H₂S, sitrat positif, indol

positif dan *voges prokauer* negatif, *methyl red* positif.

12. *Clastredium berjerick*

Bakteri yang diidentifikasi sebagai *Clastredium berjerick* tumbuh menyebar, pinggiran tidak rata, permukaan datar dan licin, berwarna putih, gram positif, sel umumnya berbentuk rantai batang (*streptobacillus*), diameter sel 0,5–0,75 µm, panjang sel 1–10 µm. Hasil pengamatan secara mikroskopis dapat dilihat pada Gambar 18.

Clastredium berjerick berbentuk batang, bergerak dengan *peritrichous flagella*, dapat membentuk endospora, respirasi secara *strict anaerobic* dengan rentang suhu pertumbuhan 25–37⁰C. Umumnya jenis ini ditemukan di tanah dan fermentasi zaitun. *Clastredium berjerick* dapat memfermentasi gula, tidak menghasilkan enzim urease, tidak menghasilkan enzim katalase, tidak menghasilkan gas H₂S, sitrat positif, indol positif dan *voges prokauer* positif, *methyl red* positif.



Gambar 18. *Clastredium berjerick* dengan 1000x perbesaran

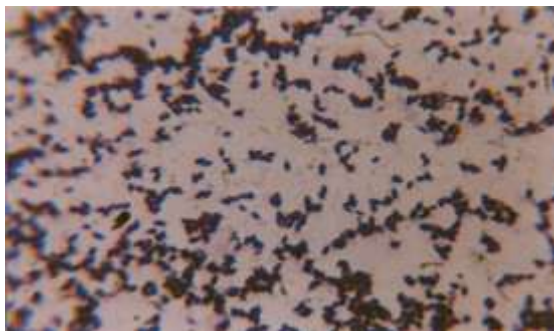
13. *Actinomyces vicousus*

Bakteri *Actinomyces vicousus* tumbuh menyebar, pinggiran tidak rata, permukaan keriput, berwarna putih, gram positif sel umumnya berbentuk batang tunggal

(*monobacillus*), diameter sel 0,5-1 µm, panjang sel 1-3 µm (Gambar 19).

Actinomyces vicosus berbentuk batang, tidak bergerak, tidak dapat membentuk endospora, respirasi secara fakultatif anaerob dengan rentang suhu pertumbuhan 35-37 °C. Spesies ini dapat memfermentasi gula, tidak menghasilkan enzim urease, menghasilkan enzim katalase, H₂S positif, sitrat positif, indol negatif, *voges prokauer* positif dan *methyl red* positif.

Dari seluruh bakteri yang diidentifikasi merupakan spesies-spesies bakteri fakultatif anaerob atau *strict* anaerob yang mampu memfermentasi senyawa-senyawa organik glukosa, manitol maupun sukrosa pada kondisi anaerob. Beberapa bakteri fakultatif anaerob dapat tumbuh lebih baik dalam kondisi aerob di lapisan tanah paling atas. Oleh karena itu jumlah bakteri-bakteri ini cukup tinggi pada kondisi aerob. Pada kondisi anaerob beberapa jenis bakteri menggunakan nitrat dan sulfat sebagai elektron akseptor dan mereduksi senyawa-senyawa tersebut menjadi bentuk yang lebih sederhana. Berikut ini akan dipaparkan peranan bakteri terhadap penyisihan parameter-parameter yang ada dalam limbah cair industri karet.



Gambar 19. *Actinomyces vicosus* dengan 1000x perbesaran

Peranan bakteri terhadap limbah cair karet

Penyisihan senyawa-senyawa yang ada dalam limbah cair pabrik karet melalui pengolahan MSL telah dilakukan oleh konsorsium bakteri yang ada dalam media reaktor tersebut sesuai dengan perannya masing-masing dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Peranan Bakteri terhadap Pengolahan Parameter yang Ada dalam Limbah Cair Karet

Parameter limbah cair karet	Konsentrasi limbah cair karet	Mikro-organime yang berperan	Proses yang terjadi
BOD (mg/l)	150	Semua jenis bakteri yang ditemukan	Hidrolisis-metanogenesis
COD (mg/l)	300	Semua jenis bakteri yang ditemukan	Hidrolisis-metanogenesis
Amoniak (mg/l)	13	-	Berlangsung secara aerob
Nitrogen (mg/l)	36**	<i>B. licheniformis</i> , <i>C. intermedius</i> , <i>B. matruchoitii</i> , <i>B. polymxa</i> dan <i>A. viscosus</i> **	Denitrifikasi
pH	4,7-9	Semua jenis bakteri yang ditemukan	Netralisasi
Temperatur*	25-35°C	Semua jenis bakteri yang ditemukan	
Asam format*		<i>Desulfomaculum ruminis</i>	Hidrolisis
Asam asetat*		<i>Clostridium tetani</i> .	Hidrolisis

Ket: *Tidak termasuk dalam baku mutu

**Menurut Bergeys (Uji tidak dilakukan)

Berikut ini dijelaskan tentang peranan bakteri terhadap masing-masing parameter yang ada dalam limbah cair industri karet.

Penyisihan BOD

Penurunan nilai BOD dapat diindikasikan dengan besarnya senyawa organik yang terurai secara biologi. Senyawa organik yang mudah diolah oleh bakteri dalam hal ini adalah senyawa organik *biodegradable*. Hampir seluruh bakteri yang ada mampu menurunkan senyawa organik *biodegradable* ini terutama pada zona aerob. Pada kondisi ini bakteri memerlukan senyawa organik untuk pertumbuhannya.

Hasil degradasi senyawa organik kompleks yang ada dalam limbah cair karet ditransformasikan menjadi senyawa organik yang lebih sederhana diuraikan leboh lanjut pada kondisi anaerob melalui proses fermentasi. Hal ini dapat dilihat berdasarkan uji reaksi karbohidrat pada semua jenis bakteri yang diuji. Hampir semua bakteri mampu menguraikan senyawa gula (glukosa, sukrosa, laktosa dan manitol) yang merupakan jenis-jenis senyawa organik sederhana.

Penyisihan COD

COD menyatakan banyaknya O_2 yang dibutuhkan untuk mengoksidasi zat organik yang terkandung di dalam substrat pada zone aerob dan reaksi fermentasi pada zone anaerob sehingga terurai menjadi CO_2 dan H_2O . Dari hasil pengukuran COD menunjukkan nilai penurunan yang tinggi. Hal ini dikarenakan reaksi pada kedua zone berlangsung sempurna dan menghasilkan produk gas CO_2 dan metan.

Penyisihan amoniak total

Parameter amoniak tidak mempunyai pengaruh terhadap bakteri pada kondisi anaerob karena penurunan parameter amoniak terjadi pada zone aerob. Penurunan amoniak terjadi melalui proses oksidasi pada zone aerob menghasilkan senyawa nitrat yang selanjutnya direduksi pada zone anaerob melalui proses denitrifikasi. Hal yang sama diungkapkan oleh Wakatsuki dkk. (1993) lapisan aerob dapat meningkatkan nitrifikasi melalui oksidasi amoniak menjadi nitrit dan nitrat, sedangkan pada lapisan anaerob dapat terjadi proses denitrifikasi melalui reduksi nitrat menjadi nitrous oksida dan gas nitrogen.

Penyisihan nitrogen total

Penurunan parameter nitrogen terjadi melalui proses denitrifikasi yang menghasilkan nitrogen ($N_{2(g)}$). Berdasarkan Holt dkk. (1994), bakteri yang berperan dalam mereduksi senyawa nitrat adalah *Bacillus licheniformis*, *Citrobacter intermedius*, *Bacterionema matruchotii*, *Bacillus polymxa* dan *Actinomyces viscosus*. Pada pengolahan limbah cair karet dengan reaktor MSL terjadi penyisihan amoniak maupun nitrogen total, hal ini menunjukkan terjadinya proses nitrifikasi dan denitrifikasi oleh bakteri *denitrifier*, namun penyisihan senyawa N tidak sampai berada pada rentang di bawah baku mutu. Diperkirakan proses aerob untuk nitrifikasi di lapisan permukaan tanah bagian atas tidak terjadi sempurna, sehingga konsentrasi N total masih relatif tinggi.

pH

Limbah cair karet mempunyai pH 4,7 - 9, sementara sebagian besar bakteri hidup pada rentang 5,3 - 7,5. Namun dengan kemampuannya beradaptasi mikroorganisme tersebut dapat hidup pada rentang asam maupun basa yang terdapat pada limbah cair karet serta menetralsir limbah menjadi netral.

Temperatur

Limbah cair karet mempunyai temperatur $25^{\circ}C$ - $35^{\circ}C$, sedangkan temperatur optimum bakteri adalah $5^{\circ}C$ - $55^{\circ}C$. Rentang temperatur yang dimiliki limbah cair karet berada pada rentang temperatur optimum bakteri, sehingga bakteri dapat tumbuh dengan baik pada rentang tersebut.

Asam format dan asam asetat

Asam format dan asam asetat merupakan zat kimia yang digunakan dalam proses produksi karet. Asam format dan asam

asetat yang digunakan tersebut dalam limbah cair karet yang diolah dapat diuraikan oleh beberapa jenis bakteri yang ditemukan. Bakteri yang mampu mengurai senyawa asam format adalah bakteri *Desulfomaculum ruminis* dan asam asetat oleh *Clostridium tetani*.

Melalui kinerja reaktor MSL tersebut dapat disimpulkan bahwa bakteri-bakteri yang telah diidentifikasi dapat hidup dan mampu mendegradasi limbah cair pabrik karet melalui karakteristik kemampuannya yang dapat mengolah parameter yang ada dalam limbah cair karet. Untuk meningkatkan kinerja khususnya pada pengolahan senyawa nitrogen dapat dilakukan dengan menambahkan fasilitas aerasi pada lapisan aerob.

SIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

Limbah cair industri karet bersifat asam (pH 5,6), berwarna kehitam-hitaman dengan kandungan TSS 150 mg/l, BOD 150 mg/l, COD 300 mg/l, amoniak total 13 mg/l dan nitrogen total 36 mg/l. Semua parameter limbah cair tersebut telah melebihi baku mutu yang berlaku. Hasil pengolahan limbah cair karet berdasarkan parameter TSS 2,2 mg/l, BOD 12,3 mg/l, COD 9,5 mg/l, amoniak total 2,2 mg/l dan nitrogen total 14,2 mg/l dan pH 6,3.

Seluruh bakteri dominan merupakan bakteri anaerob, namun bakteri tersebut lebih menyukai tumbuh pada kondisi aerob, terlihat dari jumlahnya tertinggi di lapisan permukaan atas tanah dan menurun ke lapisan di bawahnya.

Dari ke 24 sampel isolat diperoleh 13 jenis bakteri dominan yaitu: *Bacillus licheniformis* 20,83 %, *Desulfomaculum nigricans* 16,67%, *Desulfomaculum ruminis* 12,5%, *Bacterionema matruchotti* 8,33%, *Clostridium tetani* 8,33% dan *Bacillus polimyxa*, *Clostridium sordelli*, *Fusobacterium aqutile*, *Citrobacter intermedius*, *Enterobacter cloacea*, *Bacteroides putredisi*, *Clastridium berjerick*, *Actinomyces viscosus* masing-masing sebanyak 4,17%.

Bakteri teridentifikasi mampu mendegradasi senyawa-senyawa yang ada dalam limbah cair karet baik dalam kondisi aerob maupun anaerob, sehingga hampir seluruh parameter kecuali nitrogen berada di bawah baku mutu yang berlaku.

DAFTAR PUSTAKA

- Cappuccino, J. G dan N. Sherman. 1987. *Microbiology: A Laboratory Manual*, The Benyamin/Cummings Publishing Co, Inc, 51-59
- Cowan, S.T dan D. Steels, 1973. *Manual for Identification of Medical Bacteria*, Second Edision. Cambridge University Press: London hal 55-150
- Fardiaz, S. 1993, *Analisis Biologi Pangan*. PT. Raja GraFindo Persada: Jakarta, 5-50
- Grady, C.P.L. dan H.C. Lim, 1980. *Biological Wastewater Treatment: Theory and Applications*. Marcel Dekker, INC. NewYork
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, dan S.T. Williams, 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Nine Edition. The William and Walkins Company Inc: California 296-665

- Masunaga, T., K. Sato, , dan T. Wakatsuki. *Soil's Environmental Purifying Function - Polluted Water Treatment by Multi-Soil-Layering System*. (<http://www.ec.web.ntut.edu.tw/ezfiles/31/1031/img/155/169121271.pdf>, diunduh bulan November 2012).
- Salmariza, 2002. *Minimalisasi Pencemaran Industri Crumb Rubber dengan Metoda MSL (Multi Soil Layering)*. Padang, Sumatera Barat
- Sutedjo, M.M. dan S. Agkertasepoetra. 1991. *Mikrobiologi Tanah*. PT Rineka Cipta : Jakarta, 270-377
- Wakatsuki, T., H. Esumi dan S. Omura, 1993. *High performance and N & P-removable on-site domestic wastewater treatment system by Multi Soil Layering Method*, Wat. Sci. Tech., 27, (1), 31-40