

Dihi
Panduan Program & Abstrak

**PERTEMUAN ILMIAH TAHUNAN
PERHIMPUNAN MIKROBIOLOGI INDONESIA**

2006

10

**Quality Hotel Solo
26 - 27 August 2006**

**Peningkatan Teknologi dan Peranan
Hasil Penelitian Berbasis Mikrobiologi
di Bidang Keamanan Pangan & Kesehatan**



Diselenggarakan oleh :

**Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia (PERMI)
Cabang SOLO**

DAFTAR MAKALAH BEBAS POSTER

A. Kesehatan & Farmasi

NO.	JUDUL DAN PEMAKALAH	KODE	WAKTU
1	Mutagenesis terarah kodon 60 dan 387 gen streptokinase untuk meningkatkan kestabilan degradasi plasmin Reny Ellyasheva, Listya Karyadi, Purwaeni, Debbie S Retnoningrum	PKF-1	Sabtu
2	Uji resistensi bakteri flora normal vagina terhadap beberapa jenis pembersih vagina Sitoresmi Prabaningtyas, Agung Witjoro	PKF-2	Sabtu
3	Peranan protein adhesi pili <i>Pseudomonas aeruginosa</i> terhadap perlekatan bakteri dengan endotel dari human umbilical vein cells (HUVECs) culture Dwi Yuni NH	PKF-3	Sabtu
4	Efektivitas daun salam sebagai antimikroba terhadap <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> secara in vitro Dewi Santosaningsih, Sri Winarsih, Aswin Djoko B, Fatimah, Elinda VE, Denik A	PKF-4	Sabtu
5	Disruption of <i>Campylobacter jejuni</i> KPS genes by using inverse-PCR and neighbour-joining techniques Boy M Bachtiar, Benyamin N Fry, Peter J Coloe	PKF-5	Sabtu
6	Pemeriksaan Bakteriologis <i>Corynebacterium diphtheriae</i> dari usap tenggorok penderita difteri di bagian anak RSUD Ulin Banjarmasin Lia Yulia Budiarti	PKF-6	Sabtu
7	Pengaruh ekstrak daun mimba (<i>Azadirachta indica</i> A. Juss) terhadap pertumbuhan kuman Methicillin Resistance <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) Agung Witjoro	PKF-7	Sabtu
8	Efektivitas antimikroba dekok bunga belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i>) secara in vitro Sri Winarsih S, Wibisono A, Durry FD, Ardananurdina, Poespitaningtyas E	PKF-8	Minggu
9	Efektivitas virgin coconut oil (VCO) dengan pembandingan amoxicillin dalam menghambat pertumbuhan isolate <i>Staphylococcus aureus</i> pada penderita impetigo Dwi Utami Anjarwati	PKF-9	Minggu
10	Efektivitas virgin coconut oil (VCO) dengan pembandingan ketokonazol dalam menghambat pertumbuhan isolate <i>Candida albicans</i> pada wanita penderita leucorrhoea IDSAP Peramiarti, Dwi Utami Anjarwati	PKF-10	Minggu
11	Studi pendahuluan seleksi jamur serangga sebagai mikroorganisme penghasil antimikroba Sasmito Wulyoadi, Ida Hasanah, Dyah Noor Hidayati, Bambang Marwoto	PKF-11	Minggu
12	Isolation and screening of antimicrobial of soil actinomycetes from Puspitek Area Serpong Tangerang Dyah Noor Hidayati, Atin Aprini, Siti Hasanah, Ati Soemlati, Yoshio Watanabe, Bambang Marwoto	PKF-12	Minggu
13	Karakterisasi resistensi terhadap antibiotic dan deteksi integron klas 1 <i>Escherichia coli</i> dari makanan dan minuman jajanan Frisca, Bibiana W Lay, Diana E Waturangi	PKF-13	Minggu
14	Penggunaan probe DNA espA untuk deteksi Enteropathogenic <i>Escherichia coli</i> (EPEC) Agnes Sri Harti	PKF-14	Minggu
15	Dengue infection of T lymphocytes from patients with acute lymphoblastic leukemia-like disorder Silvia Tri Widyaningsih, Muhareva Raekiansyah, Sofy Meilani, Bambang Karsono, Kiki Samsi, Steve Yang, Feny Sandra, Yanto Lunardi, Iskandar	PKF-15	Minggu
16	Pengaruh ekstrak daun teh terhadap penyakit diare yang disebabkan kuman enteric Jasmi Jusfah	PKF-16	Minggu
17	Aktivitas adesi dan hambat adesi <i>Streptococcus agalactiae</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> penyebab mastitis subklinis sapi perah pada sel epitel ambing Agnesia Endang Tri Hastuti Wahyuni	PKF-17	Minggu

(lanjutan Kesehatan & Farmasi)

NO.	JUDUL DAN PEMAKALAH	KODE	WAKTU
18	Status kesehatan reproduksi perempuan penghuni barak pasca Tsunami (aspek mikrobiologis) Zinnatul Hayati, Muhammad Andalas, Istanul Badiri, T. Fadrial Karmil, Tilaili Ibrahim	PKF-18	Sabtu

B. Pertanian

NO.	JUDUL DAN PEMAKALAH	KODE	WAKTU
1	Kajian metode aplikasi inokulum <i>Rhizobium japonicum</i> indigenous untuk kedelai introduksi edamame Agung Astuti, L Utari, BH Isnawan, Nike Triwahyuningsih, L Nurwiyati	PPT-2	Sabtu
2	Pemilihan substrat produksi biomassa inokulum biofertilizer Oedjono, Ryandini D	PPT-3	Sabtu
3	Aktivitas antibakteri polifenol yang diekstrak dari daun gambir (<i>Uncaria gambier</i> Roxb) Rindit Pambayun, Murdijati Gardjito, Slamet Sudarmadji, dan Kapti Rahayu	PPT-4	Sabtu
4	Kemampuan fiksasi nitrogen dan produksi fitohormon dari bakteri rizosfer dan pengaruhnya terhadap pertumbuhan tanaman <i>Sorghum bicolor</i> L Bedah Rupaedah, Yenni Bakhtiar, Emilia Candrawati	PPT-5	Sabtu
5	Interaksi <i>Glomus manihotis</i> dan <i>Glomus etunicatum</i> dengan <i>Bradyrhizobium japonicum</i> dalam meningkatkan produktivitas tanaman kedelai (<i>Glycine max</i> (L) Mers) Bedah Rupaedah, Yenni Bakhtiar, Ahmad Sawi	PPT-6	Sabtu
6	Serapan P, kolonisasi mikoriza, pertumbuhan dan hasil jagung yang dipengaruhi oleh mikroorganisme pelarut fosfat dan mikoriza Betty Natalie Fitriatin dkk	PPT-7	Sabtu
7	Isolasi, karakterisasi dan formulasi inokulum bakteri pembentuk bintil akar kerandang (<i>Pueraria phaseoloides</i>) untuk konservasi lahan Pasir Pantai Nike Tri Wahyuningsih, Agung Astuti, L. Utari, BH Isnawan	PPT-8	Sabtu
8	Potensi penggunaan HaNPV sebagai agensia pengendali populasi <i>Heliothis armigera</i> Wardono Niloperbowo	PPT-9	Sabtu
9	Pengaruh tingkat sub kultur terhadap patogenisitas HaNPV yang diproduksi pada inang pengganti Ratri Wulandari, Mia Miranti, Wardono Niloperbowo	PPT-10	Sabtu
10	Pengaruh umur larva terhadap produksi HaNPV pada <i>Spodoptera litura</i> Lia Yullianti, Mia Miranti, Wardono Niloperbowo	PPT-11	Sabtu
11	Compatibility test of biofertilizer of Arbuscular Mycorrhiza "Technoteri" and biofungicide of <i>Trichoderma harzianum</i> "Marfu" on the growth of oil palm seedlings Yenny Bakhtiar	PPT-12	Minggu

C. Industri & Lingkungan

NO.	JUDUL DAN PEMAKALAH	KODE	WAKTU
1	Antimicrobial activity and characterization of bacteriocin produced by <i>Lactobacillus acidophilus</i> Rofiq Sunaryanto, Bambang Marwoto, Nia Lisnawati, Ati Soemiati	PIL-1	Minggu
2	Pengaruh rasio karbon dan nitrogen terhadap laju penguraian sampah organik menjadi kompos Sugeng Purnomo, Yan Ramona, Pararya Suryadipura	PIL-2	Minggu
3	Pertumbuhan dan kemampuan dekolorisasi orange II oleh <i>Enterococcus faecalis</i> ID6017 pada medium yang mengandung beberapa konsentrasi orange II dan glukosa V Irene Meitiniarti, ES Soetarto, KH Timotius, E Sugiharto, SC Sukarno	PIL-3	Minggu

PEMILIHAN SUBSTRAT PRODUKSI BIOMASSA INOKULUM BIOFERTILIZER

Oleh : Oedjjono dan D. Ryandini
Fakultas Biologi Unsoed Purwokerto



Abstrak

Telah dilakukan penelitian tentang produksi biomassa inokulum biofertilizer yang terdiri atas bakteri penambat nitrogen (*Azospirillum* sp., *Rhizobium* sp.), bakteri pelarut pospat dan penghasil senyawa antifungi patogen tanaman (*Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp.). Produksi biomassa kultur campuran dilakukan melalui fermentasi sistem kultur kontinyu dengan substrat limbah cair tempe dan tapioka dengan laju alir nutrien 1 ml/menit dan 1,5 ml/menit. Paramater utama yang diukur adalah berat kering biomassa sel, sedangkan sebagai paramater pendukung adalah persentase C organik dan jumlah sel. Diamati juga viabilitas kultur setelah biomassa mengalami pengeringan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa limbah cair industri tempe menghasilkan biomassa yang lebih tinggi (71,06 mg/ml pada F 1ml/menit dan 88,75 mg/ml pada F 1,5 ml/menit) daripada limbah cair industri tapioka (9,17 mg/ml pada F 1 ml/menit dan 7,25 mg/ml pada F 1,5 ml/menit). Viabilitas kultur mengalami penurunan setelah mengalami pengeringan hingga 10^{-2} – 10^{-5} nya.

Kata kunci : biomassa kultur campuran, limbah cair tempe, limbah cair tapioka



1. Pendahuluan

Biofertilizer adalah suatu inokulum mikroba yang mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan meningkatkan kelarutan nara dalam tanah, menambat nitrogen, menekan pertumbuhan patogen tanaman atau menyokong yang dapat bersifat "wide spectrum" (untuk banyak jenis tanaman) dan dikemas dalam suatu formula khusus yang bentuknya dapat berupa bubuk, butiran, atau cair. Mikroba yang umum

digunakan adalah bakteri penambat nitrogen, mikroba pelarut fosfat dan mikroba pemantap agregat tanah (Suwena, 2002). Oedjijono *et al* (2004) dan Oedjijono *et al.* (2004) telah mendapatkan formula kultur biofertilizer yang terdiri atas kultur campuran bakteri penambat nitrogen *Azospirillum* sp. dan *Azotobacter* sp., bakteri pelarut pospat dan penghasil antifungi patogen *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus* sp. Kultur campuran tersebut terbukti tetap viabel dan potensial terhadap pertumbuhan tanaman jagung setelah disimpan selama 8 minggu dalam media dedak dan onggok.

Penerapan peran kultur biofertilizer di lapang secara kolosal memerlukan pengemasan yang praktis dalam penggunaannya. Untuk tujuan tersebut diperlukan biomassa sel kultur biofertilizer dalam jumlah besar. Hasil penelitian Oedjijono *et al.* (2004) menunjukkan bahwa, produksi biomassa sel dalam media dedak dan onggok meningkat 10^5 kali setelah penyimpanan atau inkubasi selama 6 minggu. Peningkatan jumlah biomassa tersebut dinilai masih rendah karena peningkatan tersebut berlangsung selama 6 minggu. Untuk mendapatkan jumlah inokulum dalam jumlah besar dan dalam waktu lebih singkat diperlukan penelitian untuk produksi biomassa sel dengan metode fermentasi kontinyu dalam medium cair.

Fermentasi dengan sistem kontinyu paling baik untuk produksi biomassa sel, karena dalam sistem tersebut fase pertumbuhan aktif diperpanjang dengan adanya pengaturan pengaliran nutrisi dan pemanenan produk (Waites, 2001). Nutrien merupakan syarat utama dalam produksi biomassa, karena sumber karbon yang terkandung di dalamnya merupakan substrat yang akan dikonversi menjadi materi penyusun sel. Substrat untuk fermentasi produksi biomassa sel dapat berasal dari limbah yang masih banyak mengandung sumber karbon dan nutrisi yang lain. Dengan demikian, diperlukan penelitian pemilihan bahan sebagai substrat fermentasi yang akan dikonversi menjadi biomassa sel.

Penelitian bertujuan mengetahui jenis limbah (limbah cair industri tempe dan tapioka) yang berfungsi paling baik sebagai substrat fermentasi secara kontinyu untuk memproduksi biomassa inokulum biofertilizer.

2. Metode penelitian

Materi penelitian :

Isolat koleksi laboratorium Mikrobiologi Fak. Biologi Unsoed *Azospirillum* sp. (isolat JG3), *Pseudomonas* sp. (isolat KTA1), *Bacillus* sp. (isolat Bac.26), *Rhizobium* sp. (isolat Rh4), media Nutrient Agar dan Nutrient Broth, limbah cair industri tempe dan limbah cair industri tapioka, glukosa, rafinosa, amilum, dextrin, manosa, maltosa, perangkat peralatan gelas untuk kerja mikrobiologis, perangkat fermenter sistem kontinyu yang dimodifikasi, oven, dan autoklaf.

Cara kerja

2.1. Pengamatan fase pertumbuhan isolat pada media sumber karbon

Isolat diuji kemampuannya memfermentasi berbagai sumber karbon untuk pertumbuhannya. Kemudian diamati laju pertumbuhannya pada sumber karbon dengan penghitungan jumlah sel setiap 2 jam sehingga diketahui fase eksponensialnya. Penentuan ini bermanfaat dalam mengetahui umur pertumbuhan aktif isolat untuk dijadikan inokulum dan waktu untuk memulai fermentasi kontinyu.

2. 2. Optimasi produksi biomassa pada medium substitusi

Kultur ditumbuhkan pada medium substitusi yang terdiri dari satu bagian medium NB dan satu bagian lagi limbah industri tempe (NB + LTm) atau tapioka (NB + LTp). Inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama masa inkubasi 8 jam. Pengamatan ditujukan pada jumlah sel atau biomassa yang dihasilkan pada fase pertumbuhan aktif.

2. 3. Fermentasi produksi biomassa kultur mikroba inokulum

Fermentasi produksi biomassa dilakukan dengan sistem kontinyu menggunakan tiga bejana fermentasi kontinyu yang dimodifikasi. Bejana I untuk tempat medium segar yang dialirkan ke bejana II dengan laju alir 1 ml/menit atau 1,5 ml/menit. Laju alir dikendalikan dengan slang infus berpengendali. Bejana II adalah bejana tempat berlangsungnya fermentasi dengan pengadukan menggunakan magnetic stirrer. Bejana III adalah tempat menampung hasil fermentasi.

Substrat fermentasi adalah limbah cair industri tempe (LTm) dan/ limbah cair tapioka (LTp) dengan volume 300 ml, sebelumnya disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

Starter dibuat dari masing-masing isolat yang ditumbuhkan pada medium NB yang diinkubasi pada suhu ruang selama 8 jam. Masing-masing kultur cair

dicampurkan dengan perbandingan 1:1:1 dan jumlah sel 10^{7-8} sel/ml. Campuran kultur cair diinokulasikan sebanyak 3% (v/v) ke dalam medium fermentasi dalam bejana II.

Setelah diinokulasikan, kultur dibiarkan selama 8 jam untuk mencapai fase eksponensial. Setelah kultur mencapai fase eksponensial, kemudian medium segar dialirkan ke dalam bejana fermentasi dengan kecepatan alir 1 ml/menit dan 1,5 ml/menit. Fase eksponensial diperpanjang pada kondisi ini dengan laju dilusi tetap hingga medium segar habis. Pengamatan ditujukan pada penghitungan biomassa sel yang dihasilkan setelah proses kontinyu selesai. Berat biomassa sel pada setiap jenis substrat diperbandingkan. Sebagai parameter pendukung dihitung pula % C organik medium dan jumlah sel awal dan akhir.

2. 4. Pemanenan dan pengeringan biomassa kultur mikroba inokulum

Biomassa sel dipanen dengan cara sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, kemudian pelet dikeringkan di dalam oven dengan suhu 70°C selama 4 jam.

2.5. Pengujian viabilitas inokulum

Setelah dikeringkan, inokulum diuji viabilitasnya dengan menumbuhkannya pada medium NA secara sebaran. Biakan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Jumlah koloni yang tumbuh dihitung untuk mengetahui jumlah sel yang tetap viable setelah pengeringan.

2.6. Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif komparatif antar data hasil perlakuan penelitian.

3. HASIL PENELITIAN

Hasil pengujian kemampuan isolat *Azospirillum* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., dan *Rhizobium* sp. menggunakan beberapa jenis sumber karbon menunjukkan bahwa, semua isolat tidak mampu menggunakan rafinosa tetapi rata-rata mampu menggunakan sumber karbon lainnya. (tabel 1).

Hasil pengujian awal menunjukkan bahwa semua isolat mampu menggunakan jenis karbon yang terkandung di dalam limbah cair industri tempe dan tapioka. Limbah cair industri tempe (LTm) dan limbah cair tapioka masih mengandung senyawa karbon glukosa, amilum, sukrosa, maltosa, rafinosa, dextrin, dll. *Azospirillum*, *Pseudomonas* dan *Bacillus* diketahui menghasilkan enzim-enzim antara lain maltase, sukrase, laktase. *Pseudomonas* dan *Bacillus* merupakan produsen α -amilase (Schlegel and Schmidt, 1985). *Pseudomonas* juga bersifat selulolitik sehingga merupakan sumber selulase (Schimada *et al.*, 1994 dalam Fikrinda, 2000) sedangkan *Azospirillum* mampu menghasilkan juga β -glukanase (Bekri, 1998 dalam Faure *et al.*, 1999) dan mampu menggunakan glukosa untuk metabolismenya.

Berdasarkan pengamatan terhadap laju pertumbuhan masing-masing isolat pada medium dengan berbagai sumber karbon di atas, diketahui bahwa isolat mencapai fase eksponensial pada jam kedelapan masa inkubasi. Dengan demikian dapat diketahui bahwa kultur pada umur delapan jam ini merupakan kultur baik yang digunakan sebagai inokulum, karena

Media	BMK mg/ml	%C awal medium	% C akhir medium	Jml sel (sel/ml)
LTp.1	9,17	0,021	0,51	$1,8 \cdot 10^9$
LTp.1,5	7,25	0,021	1,104	$1,4 \cdot 10^9$
LTm.1	71,06	1,123	1,062	$2,2 \cdot 10^9$
LTm.1,5	88,75	1,123	1,091	$2,4 \cdot 10^9$

menurut Crueger dan Crueger (1988) kultur yang sedang berada pada fase pertumbuhan aktif yang baik digunakan sebagai inokulum.

Pengamatan pertumbuhan isolat atau kultur campuran pada medium substitusi, yaitu campuran antara NB dan limbah (NB + LTm dan NB + LTp) serta pada medium NB dapat dilihat pada tabel 2. Pada ketiga medium terjadi peningkatan pertumbuhan yang terlihat dari biomassa sel dan jumlah sel. Adanya pertumbuhan kultur campuran menunjukkan adanya pemanfaatan nutrisi pada medium sehingga persentase C organik medium mengalami perubahan. Berdasarkan hasil pengujian ini, maka penelitian produksi biomassa sel menggunakan limbah cair industri tempe dan tapioka dapat dilanjutkan dengan menggunakan limbah sebagai media fermentasi tanpa campuran (LTm dan LTp).

Produksi biomassa sel kultur campuran pada media limbah cair industri tapioka (LTp) dan tempe (LTm) dengan laju alir (F) yang berbeda (1 ml/menit dan 1,5 ml/menit) dapat dilihat pada tabel 3. Konversi substrat menjadi biomassa sel ditunjukkan oleh persentase C organik media yang berubah, dan biomassa terdiri atas sejumlah sel yang tumbuh dari sumber nutrisi yang ada pada media. Biomassa yang dihasilkan kemudian ditimbang sebagai berat basah dan selanjutnya dikeringkan sehingga dihasilkan berat kering biomassa (BMK).

Tabel 3. Produksi biomassa sel kultur campuran pada media LTm dan LTp dengan sistem kontinyu.

Keterangan :

- LTp.1 : Media limbah cair industri tapioka dengan laju alir 1 ml/menit
- LTP.1,5 : Media limbah cair industri tapioka

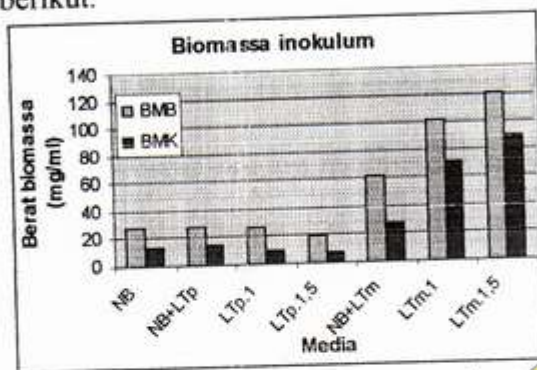
dengan laju alir 1,5 ml/menit

LTm.1 : Media limbah cair industri tempe dengan laju alir 1 ml/menit

LTm.1,5 : Media limbah cair industri tempe dengan laju alir 1,5 ml/menit

BMK : berat biomassa kering

Secara keseluruhan, pertumbuhan kultur campuran pada berbagai media (media NB, NB+LTp, NB+LTm, LTP, dan LTm) menghasilkan biomassa kultur campuran yang berbeda dan dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 4.1. Biomassa kultur campuran pada media NB, NB+LTp, NB+LTm, LTP, dan LTm.

Keterangan :

BMB : berat biomassa basah

BMK : berat biomassa kering

Sintesis biomassa kultur campuran diawali dengan pemanfaatan sumber nutrisi, terutama sumber karbon dan nitrogen, pada medium oleh sel. Sel memanfaatkan karbon sebagai sumber karbon untuk membangun bagian sel dan sebagai sumber energi untuk reaksi metabolismenya. Sel juga memanfaatkan sumber nutrisi lainnya, seperti nitrogen, untuk sintesis komponen sel lainnya. Karbon adalah komponen terbesar dari biomassa sel, sehingga sintesis biomassa sangat tergantung pada konsentrasi karbon pada medium. Pemanfaatan karbon tergantung pada kemampuan sel menghasilkan enzim yang sesuai dengan jenis substrat pada medium, baik yang bersifat induktif maupun konstitutif. Namun

demikian, sel lebih mudah mengadakan pertumbuhan pada substrat yang sederhana (Madigan *et al.*, 2000).

Sintesis biomassa kultur campuran pada medium LTP (9,17 mg/ml dan 7,25 mg/ml) lebih rendah daripada produksi biomassa pada medium LTm (71,06 mg/ml dan 88,75 mg/ml). Perbedaan ini dapat disebabkan LTP merupakan limbah industri tapioka yang berasal dari singkong yang mengandung komponen karbon rantai panjang amilum atau turunannya dan sumber N yang rendah (0,008 %). Sedangkan limbah LTm merupakan substrat yang mengandung komponen karbon dan nitrogen yang berasal dari kedele. Komponen karbon pada LTP lebih bersifat tidak tersedia bagi pertumbuhan kultur daripada komponen karbon pada LTm. Kadar nitrogen yang relatif lebih tinggi pada LTm menjamin pertumbuhan kultur yang lebih tinggi.

Persentase kandungan C organik awal pada LTP adalah 0,21 % dan pada akhir fermentasi menjadi 0,51 % dengan laju alir (F) 1 ml/menit dan 1,104 % pada F 1,5 ml/menit. Pemanfaatan komponen karbon untuk pertumbuhan kultur menghasilkan pemecahan unit karbon rantai panjang menjadi unit karbon rantai lebih pendek oleh enzim yang dihasilkan oleh kultur. Terbentuknya unit-unit karbon rantai lebih pendek meningkatkan penghitungan persentase lebih tingginya penghitungan persentase unit karbon.

Medium LTm mengandung jenis sumber karbon yang lebih tersedia untuk digunakan dan sumber N yang masih tinggi (0,98 %), sehingga menghasilkan pertumbuhan kultur campuran yang tinggi. Pertumbuhan yang tinggi terlihat dari biomassa yang dihasilkan yaitu 71,06 mg/ml (pada F 1ml/menit) yang terdiri dari jumlah sel $2,2 \cdot 10^9$ sel/ml dan

88,75 mg/ml (pada F 1,5 ml/menit) yang mengandung jumlah sel $2,4 \cdot 10^9$ sel/ml. Pertumbuhan kultur merupakan hasil konversi substrat menjadi biomassa sel, yaitu kandungan karbon pada awal fermentasi adalah 1,123 % dan menjadi 1,062 % (pada F 1 ml/menit) dan 1,091 % (pada F 1,5 ml/menit). Penurunan kandungan karbon organik ini menunjukkan adanya pemanfaatan sumber karbon yang lebih sederhana untuk pertumbuhan dan sintesis biomassa sel.

Produksi biomassa dengan fermentasi kontinyu juga dipengaruhi oleh laju alir nutrien (F), jenis substrat dan konsentrasi substrat (S), dan laju dilusi (D). Semakin cepat laju alir medium F ke dalam bejana maka semakin tinggi nilai laju dilusi D. Nilai D meningkat mampu meningkatkan kelarutan nutrien yang terdapat dalam substrat, sehingga terdapat peningkatan nilai persentase C organik. Namun peningkatan nilai D dapat tidak diimbangi dengan meningkatnya biomassa sel. Hal ini kemungkinan dikarenakan C organik yang ada belum dimanfaatkan secara maksimal untuk pertumbuhan (Waites *et al.*, 2001). Pada LTp, walaupun terdapat penurunan persentase C dari awal ke akhir fermentasi, namun dapat dilihat bahwa persentase C akhir pada F 1,5 ml/menit lebih tinggi daripada yang dihasilkan oleh F 1 ml/menit. Sedangkan pada LTm, F 1,5 ml/menit menghasilkan biomassa lebih tinggi daripada yang dihasilkan oleh F 1 ml/menit karena F yang lebih besar meningkatkan D dan kelarutan C organik.

Viabilitas kultur campuran setelah mengalami proses pengeringan mengalami penurunan yang dapat diamati dari jumlah sel yang hidup atau tumbuh setelah dibiakkan pada medium agar. Hasil pengamatan viabilitas kultur sebagai berikut

Tabel 4. Jumlah sel sebelum dan sesudah pengeringan

Media	Jumlah sel sbt pengeringan (sel/ml)	Jumlah sel stl pengeringan (cfu/ml)
NB	$2,0 \cdot 10^9$	$1,42 \cdot 10^7$
NB+LTp	$1,6 \cdot 10^9$	$1,53 \cdot 10^5$
LTP.1	$1,8 \cdot 10^9$	$4,85 \cdot 10^4$
LTP.1,5	$1,4 \cdot 10^9$	$2,19 \cdot 10^5$
NB+LTm	$4,0 \cdot 10^9$	$6,2 \cdot 10^4$
LTm.1	$2,2 \cdot 10^9$	$5,53 \cdot 10^4$
LTm.1,5	$2,4 \cdot 10^9$	$1,3 \cdot 10^5$

Semua biomassa kultur campuran yang dihasilkan pada semua jenis media mengalami penurunan viabilitas hingga $10^{-2} - 10^{-5}$ nya. Penurunan viabilitas ini dapat disebabkan pemilihan metode pengeringan yang belum tepat karena menggunakan pemanasan di dalam oven hingga suhu 70°C . Pemanasan yang terlalu tinggi dapat merusak protein sel sehingga sel mengalami kematian. Dinyatakan di dalam Moenne-Loccoz *et al.* (1999) bahwa pengeringan inokulan adalah tahapan kunci preparasi inokulan karena dapat mempengaruhi survival inokulan dan menambah fase lag sebelum inokulan menunjukkan perannya. Turunnya viabilitas mungkin juga disebabkan oleh tidak digunakannya bahan pembawa dalam biomassa yang dapat berfungsi sebagai isolator dalam transfer panas. Penelitian lanjutan diperlukan untuk stabilitas viabilitas biomassa dengan mencoba metode pengeringan lain dan penggunaan bahan pembawa.

Metode preparasi inokulan banyak dikembangkan oleh para peneliti. Ben Rebah *et al* (2002) mengembangkan metode preparasi inokulan dengan metode menumbuhkan inokulum pada media limbah padat dan cair kemudian dikeringkan. Inokulum dikemas dalam carrier sludge dan peat. Moenne-Loccoz

et al. (1999) menggunakan inokulan *Pseudomonas fluorescens* F113 untuk membentuk pelet benih bit. Faktor preparasi inokulum dan pengeringan dalam formulasi inokulan merupakan faktor kunci yang berpengaruh dalam formulasi inokulan *Pseudomonas*. Preparasi inokulum dengan medium nutrisi Sucrose Asparagine Broth dan pengeringan cara lambat selama 20 jam menghasilkan formula inokulan *Pseudomonas* yang baik. Walker *et al.* (2004) membandingkan metode aplikasi inokulan antara lain perendaman benih, pengkapsulan dalam alginat, membentuk pelet menggunakan carrier peat yang diinokulasi atau seed priming. Metode seed priming menunjukkan hasil lebih baik. Kebanyakan inokulan diproduksi pada suhu ruang kemudian penjemuran pada suhu rendah atau kemudian dikeringkan dahulu lalu disimpan pada suhu rendah.

4. Kesimpulan dan saran

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa produksi biomassa kultur campuran *Azospirillum* sp., *Rhizobium* sp., *Bacillus* sp., dan *Pseudomonas* sp. lebih tinggi pada medium limbah cair tempe daripada medium limbah cair tapioka. Namun viabilitas sel menurun setelah mengalami pengeringan. Maka disarankan untuk diadakan penelitian menggunakan metode pengeringan lainnya dan menggunakan media pembawa.

DAFTAR REFERENSI

Ben Rebah, F., R.D. Tyagi, D. Prevost. 2002. Wastewater Sludge as a Substrate for Growth and Carrier for Rhizobia : The Effect of Storage Conditions on Survival of Sinorhizobium meliloti. *Bioresource Technology* 83 : 145 - 151.

Faure, D., J. Desair, V. Keijers, M.A. Bekri, P. Proost, B. Henrissat and J. Van der Leyden.

1999. Growth of *Azospirillum irakense* KBCI on the Aryl β -glucoside Salicin Requires either salA or salB. *Journal of Bacteriology* (181) 10 : 3003 - 3009.

Fikrinda, A., Isawandi, P. Tresnawati dan D.A. Santoso. 2000. Identifikasi Ekstramozim Selulase Isolat Bakteri dari Ekosistem Air Hitam. *Hayati* (8) 1 : 5 - 10.

Goenadi, D.H. 1996. Pemanfaatan Mikroba Pelarut Pospat dalam Pembuatan Pupuk Bio-P. *Warta Puslit. Biotek. Perkebunan*. 11 (1) : 43 - 48.

Madigan, M.T., J.M. Martinko, J. Parker. Brock : *Biology of Microorganisms*. 9th Ed. 2000. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ 07458.

Mocane-Loccoz, Y., M. Naughton, P. Higgins, J. Powell, B. O'Connor, F. O'Gara. 1999. Effect of Inoculum Preparation and Formulation on Survival and Biocontrol Efficacy of *Pseudomonas fluorescens* F113. *Journal of App. Microbiology* 86 : 108 - 116.

Oedjijono, D. Ryandini, IDSAP Peramiarti. 2004. Formulasi Biofertilizer dari Kultur Campuran Bakteri Pemfiksasi Nitrogen, Pelarut Pospat dan Antagonis Fungi Patogen dengan Media Onggok dan Dedak. Makalah Seminar Pertemuan Ilmiah Tahunan PERMI di Semarang tgl 27 - 28 Agustus 2004.

Oedjijono, D. Ryandini, A. Tjahyadi. 2004. Formulasi Biofertilizer dari Kultur Bakteri Campuran sebagai Inokulum pada Medium Ekstrak Onggok dan Dedak. Makalah Seminar Pertemuan Ilmiah Tahunan PERMI di Semarang tgl 27 - 28 Agustus 2004.

Waites, M.J., N.L. Morgan, J.S. Rockey, G. Highton. 2001. *Industrial Microbiology : An Introduction*. Blackwell Science Ltd., Oxford.

Walker, R., S. Rossali, M.J.C. Asher. 2004. Comparison of Application Methods to Prolong the Survival of Potential Biocontrol

LAMPIRAN :

Tabel 1. Hasil pengujian kemampuan kultur biofertilizer dalam menggunakan beberapa sumber karbon.

Isolat	Glu	Mal	Suk	Raf	Ami	Sel	Dex
<i>Azospirillum</i> sp.	+	+	+	-	+	+	+
<i>Rhizobium</i> sp.	+	tt	tt	-	-	+	tt
<i>Pseudomonas</i> sp.	+	+	+	-	-	+	+
<i>Bacillus</i> sp.	+	+	+	-	-	+	+

Keterangan :
+ hasil uji

positif
- hasil uji negatif
tt tidak terdeteksi

Tabel 2. Pertumbuhan kultur campuran pada medium substitusi (NB + LTm dan NB + LTp) serta pada medium NB

Medium	Biomassa mg/ml	Σ sel awal sel/ml	Σ sel akhir sel/ml	% C awal medium	% C akhir medium
NB+LTp	14,75	$2,5 \cdot 10^5$	$1,6 \cdot 10^8$	0,056	0,069
NB+LTm	27,33	$4,0 \cdot 10^7$	$4,9 \cdot 10^9$	0,659	0,631
NB	12,75	$2,5 \cdot 10^6$	$2,0 \cdot 10^8$	-	-

