

Pola Pertumbuhan dan Aktivitas Degradasi Kafein oleh Konsorsium Bakteri Pendegradasi Kafein

Growth Pattern and Degradation Activity of Caffeine-degrading Bacteria Consortium

Nadhea Ayu Sukma, Esti Utarti, Sattya Arimurti*)

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember

*E-mail: arimurti.fmipa@unej.ac.id

ABSTRACT

Caffeine-degrading bacteria can be used as agents to degrade caffeine, thereby reducing the concentration of caffeine in organic waste. The decomposition process is carried out by a single bacterium or a consortium of bacteria. Caffeine-degrading bacteria from Sempol, Bondowoso, namely *Acinetobacter gernerii* KAFS 47, *Paracoccus denitrificans* KAFS 16 and *Pseudomonas plecoglossicida* KAFS 34, could be used as a bacterial consortium to promote caffeine degradation. The aim of this study was to analyze associations between caffeine-degrading bacteria isolates, bacterial resistance to antibiotics, growth patterns, and caffeine degradation of a consortium of caffeine-degrading bacteria, and the correlation of bacterial growth with caffeine degradation. The research method used is an analysis of the association between isolates, the development of bacterial consortium growth patterns, and their analysis based on antibiotic resistance, patterning of caffeine degradation, and correlation test (Pearson) of bacterial growth with caffeine degradation. The result of the association test between bacteria showed that the three bacteria had the potential to be used as a consortium of caffeine-degrading bacteria. *A. Gernerii*, *P. denitrificans*, and *P. plecoglossicida* were resistant to the antibiotic cefixime (100 ppm), erythromycin (50 ppm), lincomycin (50 ppm), metronidazole (50 ppm), and sanprima (50 ppm). The growth of the bacterial consortium (54.779 CFU/mL) was higher than that of *P. plecoglossicida* (49.277 CFU/mL) and lower than that of *A. gernerii* (93.481 CFU/mL) and *P. denitrificans* (84.940 CFU/mL) in incubation time of 4 days. However, the consortium of bacteria and *P. plecoglossicida* were able to degrade caffeine 24 hours faster (3 days) than the other two single isolates (4 days) to degrade 2.5 g/L caffeine in media to 0%. Bacterial growth due to caffeine degradation has a perfect correlation value (>0.950) and is negative.

Keywords: Caffeine, degradation, consortium, association, resistance, growth.

PENDAHULUAN

Kafein (1,3,7-trimetilxantin) merupakan golongan metilxantin yang secara alami terkandung pada tumbuhan diantaranya beri, coklat, teh, dan kopi (Win *et al.*, 2019). Kafein pada limbah organik hasil industri teh dan kopi bersifat toksik terhadap bakteri (Iswanto *et al.*, 2019) dan dapat memberikan pengaruh negatif pada pertumbuhan selada (Gomes *et al.*, 2013) dan bunga matahari (Khursheed *et al.*, 2009). Kandungan kafein pada limbah organik, dapat diturunkan dengan memanfaatkan bakteri pendegradasi kafein.

Bakteri pendegradasi kafein mampu memanfaatkan kafein sebagai sumber karbon dan nitrogen untuk pertumbuhannya (Summers *et al.*, 2012). Beberapa genus bakteri yang dilaporkan memiliki kemampuan degradasi kafein yaitu *Acinetobacter*, *Acetobacter*, *Alcaligenes*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Serratia* (Summers *et al.*, 2015).

Hasil penelitian (Arimurti *et al.*, 2021) didapatkan tiga isolat bakteri pendegradasi kafein asal Sempol, Bondowoso yaitu *Acinetobacter gernerii* KAFS 47, *Paracoccus denitrificans* KAFS 16, dan *Pseudomonas plecoglossicida* KAFS 34. Ketiga bakteri tersebut berpotensi digunakan sebagai konsorsium agen degradasi kafein pada limbah organik.

Konsorsium bakteri merupakan kumpulan populasi bakteri yang hidup bersimbiosis (Kumar & Jagadeesh, 2016). Konsorsium bakteri menunjukkan asosiasi positif, yaitu terjadi interaksi bersifat sinergis yang ditandai dengan tidak adanya zona hambat antar bakteri (Rifai *et al.*, 2020). Beberapa penelitian menunjukkan konsorsium bakteri memiliki efektivitas lebih tinggi dibandingkan dengan isolat tunggal. Penelitian Poszytek *et al.* (2016) menunjukkan konsorsium bakteri selulolitik mampu menghidrolisis silase jagung secara efisien dan meningkatkan produksi biogas 38%

dibandingkan dengan isolat tunggalnya (16%). Konsorsium bakteri pendegradasi minyak yang terdiri atas *Bacillus* sp., *Corynebacterium* sp., *Flavobacterium* sp., *Micrococcus* sp., dan *Pseudomonas* sp., menunjukkan aktivitas degradasi pada substrat minyak sampai 78% dibandingkan dengan isolat tunggalnya (41-66%) (Hamzah *et al.*, 2013). Menurut Resti *et al.* (2018) konsorsium bakteri endofit mampu menekan perkembangan *Ralstonia solanacearum* (patogen) dengan adanya zona hambat (6-9,25cm).

Penggunaan konsorsium bakteri pendegradasi kafein untuk degradasi kafein belum pernah dilaporkan. Perlu dilakukan analisis potensi konsorsium bakteri pendegradasi kafein *A. gernerii* KAFS 47, *P. denitrificans* KAFS 16, dan *P. plecoglossicida* KAFS 34 berdasarkan pola pertumbuhan dan pola degradasi pada media kafein. Hal ini mendukung pengembangan agen hayati degradasi kafein pada limbah organik.

METODE

Penelitian dilaksanakan pada Januari sampai April 2021. Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember. Bahan yang digunakan diantaranya: isolat bakteri pendegradasi kafein (*A. gernerii* KAFS 47, *P. denitrificans* KAFS 16, dan *P. plecoglossicida* KAFS 34); media M9; 0,25% kafein (*sigma-aldrich*); media *nutrient agar* (NA); media *nutrient broth* (NB); dan NaCl (0,85%); dan antibiotik (ampisilin, cefadroxil, tetrasiklin, lincomisin, sanprima, rifampicin, colcacentin, eritromisin, ofloxacin, metronidazole, dan cefixime).

Prosedur penelitian ini diawali dengan peremajaan bakteri pendegradasi kafein (*A. gernerii* KAFS 47, *P. denitrificans* KAFS 16, dan *P. plecoglossicida* KAFS 34). Peremajaan dilakukan pada media miring M9+2,5 g/L kafein dan diinkubasi selama 3-4 hari pada suhu 30°C. Hasil peremajaan kemudian dilakukan uji asosiasi antar isolat bakteri. Uji ini dilakukan berdasarkan pada kemampuan tumbuh isolat bakteri satu pada supernatan bebas sel isolat bakteri yang lain dengan metode difusi sumuran. Masing-masing kultur ditumbuhkan pada 10 mL media NB dan dinkubasi *shaker* (125 rpm) sampai didapatkan kepadatan selnya OD 0,4 pada panjang gelombang 600. Sebanyak 100 µL inokulum masing-masing bakteri diinokulasikan pada 15 mL media NA dengan metode cawan tuang (*pour plate*). Media yang memadat kemudian dilubangi menggunakan *corkborer* steril dengan ukuran diameter 5 mm sebanyak 4 lubang. Supernatan bebas sel didapatkan dari filtrasi menggunakan milipore 0,2 µm. Sebanyak 20 µL supernatan bebas sel dari bakteri lain diletakkan pada lubang yang telah dibuat pada

media NA. Uji asosiasi ini menggunakan media NB sebagai kontrol positif dan antibiotik ofloxacin (50 ppm) sebagai kontrol negatif. Uji asosiasi positif ditandai dengan tidak adanya zona hambat yang menunjukkan bahwa supernatan bebas sel isolat satu tidak menghambat pertumbuhan bakteri lain yang disebar (*pour plate*). Hasil uji asosiasi ini menjadi dasar untuk menentukan konsorsium bakteri yang akan dilakukan.

Uji ketahanan bakteri terhadap antibiotik dilakukan untuk menentukan penanda pertumbuhan isolat bakteri pada suatu konsorsium. Uji ini dilakukan dengan metode difusi sumuran. Masing-masing isolat bakteri dengan OD 0,4 diambil 100 µL dan diinokulasikan pada 15 mL media NA dengan metode cawan tuang (*pour plate*). Masing-masing media dibuat tujuh lubang menggunakan *corkborer* steril (diameter 5 mm). Masing-masing lubang diisi dengan antibiotik yang berbeda sebanyak 20 µL. Antibiotik yang digunakan yaitu ampisilin (20 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm); cefadroxil (20 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm); cefixime (50 ppm, 75 ppm, 100 ppm); colsancetine (20 ppm); eritromisin (20 ppm, 50 ppm); lincomisin (20 ppm, 50 ppm); ofloxacin (50 ppm); dan metronidazole (50 ppm); rifampicin (20 ppm); sanprima (20 ppm, 50 ppm); tetrasiklin (20 ppm); serta akuades sebagai kontrol negatif. Parameter uji ketahanan bakteri terhadap antibiotik berdasarkan sensitivitas bakteri yang ditunjukkan dengan ada tidaknya zona hambat.

Pembuatan starter konsorsium bakteri dilakukan berdasarkan hasil asosiasi antar isolat bakteri. Starter bakteri (OD 0,4) diinokulasikan pada 100 mL media cair M9+2,5 g/L kafein. Biakan diinkubasi menggunakan *shaker* (125 rpm) pada suhu ruang selama 7 hari. Pengamatan dilakukan menggunakan spektrofotometer untuk mengukur jumlah sel ($\lambda = 600$ nm) dan konsentrasi kafein dalam media ($\lambda = 272,5$ nm) pada interval waktu 24 jam. Hal yang sama juga dilakukan pada isolat tunggal sebagai pembanding pertumbuhan dan degradasi kafein. Analisis data statistik menggunakan uji korelasi Pearson. Uji ini dapat dilakukan apabila data terdistribusi normal melalui uji normalitas Kolmogorov-Smirnov dengan nilai signifikansi 0,05.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji asosiasi antar isolat bakteri pendegradasi kafein *P. denitrificans* KAFS 16, *P. plecoglossicida* KAFS 34, dan *A. gernerii* KAFS 47 yang menggunakan supernatan bebas sel menunjukkan bahwa ketiga bakteri tersebut tidak memiliki daya antagonis (Gambar 1). Hal ini dibandingkan dengan kontrol positif (media NB) tidak menunjukkan zona hambat, sedangkan pada kontrol negatif (ofloxacin 50 ppm) yang menunjukkan zona hambat pada masing-masing bakteri. Media NB merupakan media pembiakan bakteri, sehingga tidak menghambat pertumbuhan bakteri (Mulyadi *et*

al., 2017). Ofloxacin termasuk dalam antibiotik kuinolon yang memiliki mekanisme menghambat sintesis asam nukleat dan bersifat bakterisida, sehingga mampu membunuh bakteri (Triono & Purwoko, 2012).

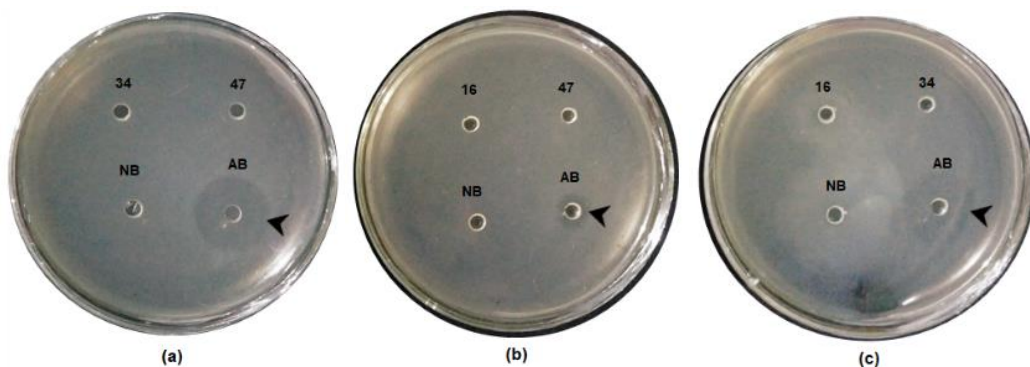
Daerah supernatan bebas sel yang tidak ada zona hambat menunjukkan bahwa ketiga isolat bakteri berasosiasi positif, sehingga berpotensi digunakan sebagai konsorsium bakteri pendegradasi kafein. Menurut Rifai *et al.* (2020) hubungan sinergis yang ada pada konsorsium bakteri menunjukkan perilaku kooperatif antar bakteri karena antar bakteri dapat saling mendukung pertumbuhan.

Antibiotik merupakan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme penghambatan yang berbeda-beda. Penghambatan pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan adanya zona hambat di sekitar antibiotik pada media yang telah mengandung suspensi bakteri. Ketahanan masing-masing bakteri terhadap penghambatan pertumbuhan oleh antibiotik bersifat spesifik dan dapat digunakan sebagai penanda pada pembuatan konsorsium bakteri. Hasil uji ketahanan antibiotik menunjukkan *P. denitrificans* KAFS 16 tidak tahan terhadap antibiotik ampisilin (50 ppm, 75 ppm, 100 ppm); cefadroxil (50 ppm, 75 ppm, 100 ppm); ofloxacin (50 ppm); rifampicin (20 ppm), dan tetrasiklin (20 ppm). *P. plecoglossicida* KAFS

34 tidak tahan terhadap ofloxacin (50 ppm dan tetrasiklin (20 ppm), serta *A. gernerii* KAFS 47 tidak tahan oleh antibiotik cefadroxil (50 ppm, 75 ppm, 100 ppm), colsancetine (20 ppm), ofloxacin (50 ppm) dan tetrasiklin (20 ppm) karena dapat dihambat pertumbuhannya. Ketiga bakteri tersebut tidak tahan terhadap tetrasiklin dan ofloxacin (Tabel 1).

A. gernerii KAFS 47 dan *P. denitrificans* KAFS 16 tidak tahan terhadap antibiotik cefadroxil (50 ppm, 75 ppm, 100 ppm). Cefadroxil termasuk dalam golongan sefalosporin yang memiliki mekanisme kerja menghambat sintesis dinding sel, bersifat bakteriosid (Wasitaningrum, 2009; Wilarsih, 2019). Antibiotik ini dapat digunakan sebagai penanda pertumbuhan *P. plecoglossicida* KAFS 34 karena hanya bakteri ini yang tahan ketika diberi cefadroxil yang ditunjukkan dengan tidak adanya zona hambat disekitar sumuran.

Ampisilin dapat digunakan sebagai penanda pertumbuhan *A. gernerii* KAFS 47 dan *P. plecoglossicida* KAFS 34. Hal ini karena hanya *P. denitrificans* KAFS 16 tidak tahan terhadap antibiotik ampisilin (50 ppm, 75 ppm, 100 ppm). Ampisilin termasuk dalam golongan penisilin dengan mekanisme kerjanya menghambat sintesis dinding sel bakteri memiliki spektrum yang luas, bersifat bakteriosid (Yunensa, 2016; Wilarsih, 2019).



Gambar 1. Uji asosiasi antar isolat bakteri pendegradasi kafein pada pengukuran daya hambat supernatan bebas sel (a) *P. denitrificans* KAFS 16; (b) *P. plecoglossicida* KAFS 34; dan (c) *A. gernerii* KAFS 47. 16: supernatan bebas sel *P. denitrificans* KAFS 16; 34: supernatan bebas sel *P. plecoglossicida* KAFS 34; 47: supernatan bebas sel *A. gernerii* KAFS 47; NB: kontrol positif (media NB); zona hambat (tanda panah pada gambar) oleh kontrol negatif yaitu antibiotik ofloxacin 50 ppm (AB)

Tabel 1. Ketahanan bakteri pendegradasi kafein terhadap antibiotik

| No. | Jenis Antibiotik | [] AB (ppm) | Daya Hambat Antibiotik | | |
|-----|------------------|-----------------|--|--|---|
| | | | <i>Acinetobacter generi</i> KAFS 47 | <i>Paracoccus denitrificans</i> KAFS 16 | <i>Pseudomonas plecoglossida</i> KAFS 34 |
| 1 | Ampisilin | 20 | R | R | R |
| | | 50 | R | 1,03 ± 0,03 mm | R |
| | | 75 | R | 1,54 ± 0,25 mm | R |
| | | 100 | R | 2,06 ± 0,04 mm | R |
| 2 | Cefadroxil | 20 | R | R | R |
| | | 50 | 1,08 ± 0,07 mm | 1,07 ± 0,05 mm | R |
| | | 75 | 1,62 ± 0,03 mm | 1,60 ± 0,03 mm | R |
| | | 100 | 2,16 ± 0,02 mm | 2,14 ± 0,06 mm | R |
| 3 | Cefixime | 50 | R | R | R |
| | | 75 | R | R | R |
| | | 100 | R | R | R |
| 4 | Colsancetine | 20 | 0,95 ± 0,20 mm | R | R |
| 5 | Eritromisin | 20 | R | R | R |
| | | 50 | R | R | R |
| 6 | Lincomisin | 20 | R | R | R |
| | | 50 | R | R | R |
| 7 | Ofloxacin | 50 | 1,89 ± 0,05 mm | 2,06 ± 0,03 mm | 1,12 ± 0,04 mm |
| 8 | Metronidazole | 50 | R | R | R |
| 9 | Rifampicin | 20 | R | 0,88 ± 0,02 mm | R |
| 10 | Sanprima | 20 | R | R | R |
| | | 50 | R | R | R |
| 11 | Tetrasiklin | 20 | 2,34 ± 0,05 mm | 2,13 ± 0,02 mm | 0,82 ± 0,01 mm |

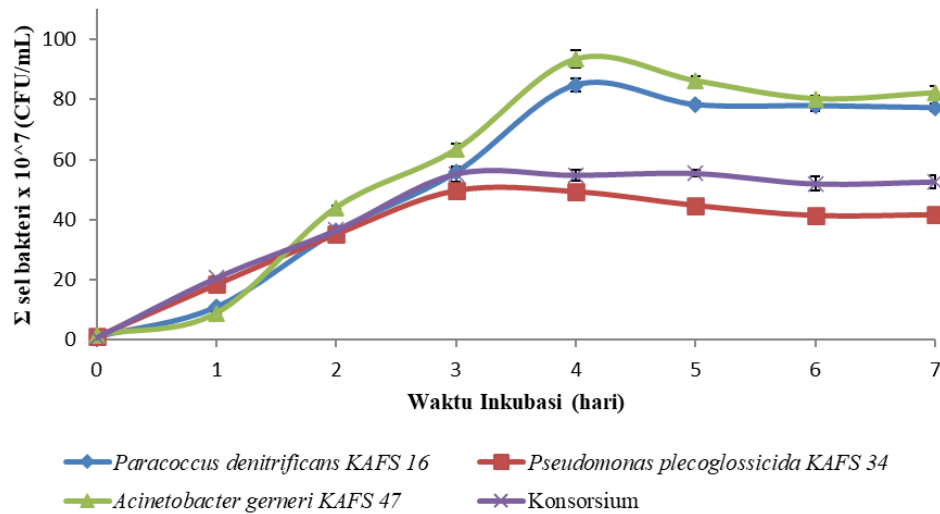
*(R): resisten terhadap antibiotik

Colsancetine termasuk dalam antibiotik kloramfenikol dengan dengan mekanisme kerjanya menghambat sintesis protein, memiliki spektrum yang luas dan bersifat bakteriostatik (Wasitaningrum, 2009). *A. generi* KAFS 47 tidak tahan terhadap antinotik colsacentine (20 ppm) sementara *P. denitrificans* KAFS 16 dan *P. plecoglossida* KAFS 34 tahan. Oleh karena itu, antibiotik ini dapat digunakan sebagai penanda pertumbuhan *P. denitrificans* KAFS 16 dan *P. plecoglossida* KAFS 34.

Pola pertumbuhan konsorsium bakteri relatif lebih rendah dibandingkan dengan pola pertumbuhan masing-masing bakteri sebagai isolat tunggal. Hasil penelitian menunjukkan pola pertumbuhan konsorsium bakteri ($54,779 \times 10^7 \pm 1,739$ CFU/mL) lebih rendah dari *P. denitrificans* KAFS 16 ($84,940 \times 10^7 \pm 2,118$ CFU/mL) dan *A. generi* KAFS 47 ($93,481 \times 10^7 \pm 2,981$ CFU/mL), serta lebih tinggi dari *P. plecoglossida* KAFS 34 ($49,277 \times 10^7 \pm 0,733$ CFU/mL) pada media M9 + kafein 2,5 g/L dalam waktu inkubasi 4 hari (Tabel 2).

Pertumbuhan konsorsium bakteri menunjukkan fase eksponensial pada awal inokulasi sampai hari ke-3 ($55,181 \times 10^7 \pm 2,539$

CFU/mL) dengan waktu generasi 40 jam, selanjutnya diikuti fase stasioner (Gambar 2). *P. denitrificans* KAFS 16 mencapai fase akhir eksponensial pada waktu inkubasi hari ke-4 ($84,940 \times 10^7 \pm 2,118$ CFU/mL) dengan waktu generasi 40 jam. Penelitian Irsyadah (2020) menunjukkan jumlah sel *P. denitrificans* KAFS 16 pada fase akhir eksponensial pada waktu inkubasi 48 jam ($7,41 \times 10^7$ CFU/mL) dengan waktu generasi 5 jam. Fase eksponensial *P. plecoglossida* KAFS 34 pada waktu inkubasi hari ke-2 ($35,141 \times 10^7 \pm 0,387$ CFU/mL) dengan waktu generasi paling cepat yaitu 26 jam. Penelitian Malasari (2020) menyebutkan *P. plecoglossida* KAFS 34 mengalami fase eksponensial pada jam ke-12 sampai jam ke-54 ($7,9 \times 10^7$ CFU/mL). *A. generi* KAFS 47 mengalami fase eksponensial dimulai pada hari ke-1 dan mencapai puncak fase eksponensial pada inkubasi hari ke-3 ($55,181 \times 10^7 \pm 2,539$ CFU/mL) dengan waktu generasi paling lama yaitu 43 jam. Penelitian Sindiana (2020) menyatakan fase eksponensial akhir *A. generi* KAFS 47 pada waktu inkubasi jam ke 66 dengan jumlah sel $81,9 \times 10^7$ CFU/mL dengan waktu generasi 7 jam.



Gambar 2. Pola pertumbuhan konsorsium bakteri dan isolat tunggal pendegradasi kafein pada media M9 + kafein 2,5 g/L

Tabel 2. Viabilitas isolat tunggal pada konsorsium bakteri pada media yang mengandung penanda antibiotik

| Waktu Inkubasi (hari) | Ampisilin 75 ppm | Cefadroxil 75 ppm | Colsancetine 20 ppm |
|-----------------------|---|--------------------------------------|--|
| | (<i>P. plecoglossicida</i> KAFS 34 dan <i>A. gernerii</i> KAFS 47) | (<i>P. plecoglossicida</i> KAFS 34) | (<i>P. denitrificans</i> KAFS 16 dan <i>P. Plecoglossicida</i> KAFS 34) |
| 0 | + | + | + |
| 1 | + | + | + |
| 2 | + | + | + |
| 3 | + | + | + |
| 4 | + | + | + |
| 5 | + | + | + |
| 6 | + | + | + |
| 7 | + | + | + |

* (+) isolat bakteri tumbuh

Berdasarkan Gambar 2 *P. plecoglossicida* KAFS 34 diduga lebih berperan dalam pola pertumbuhan konsorsium bakteri. Hal ini didukung dengan pola pertumbuhan dan pola degradasi kafein pada *P. plecoglossicida* KAFS 34 yang tidak jauh berbeda dengan konsorsium. Namun, berdasarkan hasil uji asosiasi antar isolat bakteri menunjukkan tidak adanya daya antagonis, yang mana uji ini dilakukan berdasarkan daya penghambatan supernatan bebas sel. Supernatan bebas sel ini mengandung metabolit yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain (Afriani, 2017). Namun, berdasarkan pola pertumbuhannya ketika bakteri ditumbuhkan sebagai konsorsium menunjukkan dua bakteri (*P. denitrificans* KAFS 16 dan *A. gernerii* KAFS 47) lebih tinggi pertumbuhannya. Hal ini dimungkinkan terjadi

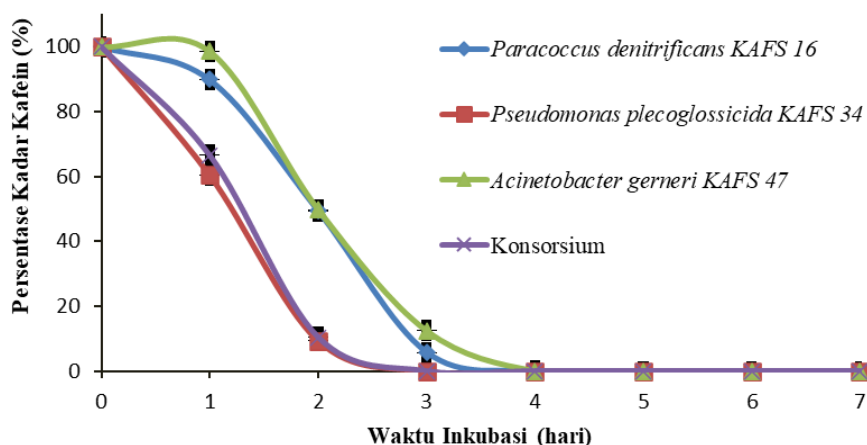
kompetisi nutrisi ketika bakteri ditumbuhkan sebagai konsorsium karena sumber karbon yang sama, sehingga ada bakteri yang pertumbuhannya terhambat. Menurut Rifai *et al.* (2020) kompetisi antar bakteri dapat terjadi apabila ditumbuhkan pada medium yang sama. Kompetisi tersebut akan saling bersaing terkait nutrisi, tempat, udara, dan air.

Hasil uji viabilitas isolat tunggal pada konsorsium bakteri pendegradasi kafein berdasarkan penanda ketahanan terhadap antibiotik dapat dilihat pada Tabel 3. Analisis viabilitas masing-masing isolat bakteri pada konsorsium bakteri dapat dilakukan dengan penanda ketahanan terhadap antibiotik. Penanda ketahanan bakteri setiap bakteri terhadap antibiotik bersifat spesifik karena antibiotik memiliki mekanisme penghambatan yang

berbeda-beda. Uji ini dilakukan berdasarkan penanda antibiotik dari masing-masing bakteri. Berdasarkan hasil viabilitasnya pada medium yang mengandung antibiotik tersebut menunjukkan semua isolat bakteri yang dikonsorsiumkan masing-masing bakteri masih tetap bisa tumbuh. Hal ini diduga pertumbuhan bakteri tunggal ada yang terhambat, namun masih bisa tumbuh dengan jumlah sel konsorsium bakteri lebih rendah dibandingkan dengan isolat tunggalnya.

Hasil degradasi kafein oleh bakteri pendegradasi kafein yang dilakukan sebagai isolat tunggal maupun sebagai konsorsium terlihat pada Gambar 3. Hasil penelitian menunjukkan pertumbuhan konsorsium bakteri diikuti dengan penurunan konsentrasi kafein

pada media. Hal ini menunjukkan bahwa konsorsium bakteri mampu memanfaatkan kafein dalam media untuk pertumbuhannya, yang didukung dengan jumlah sel konsorsium bakteri mencapai $20,683 \times 10^7$ CFU/mL $\pm 0,347$ dalam waktu inkubasi 1 hari. Persentase degradasi kafein oleh konsorsium bakteri semakin meningkat hingga 100% dalam waktu inkubasi 3 hari yang didukung dengan peningkatan jumlah sel konsorsium bakteri ($55,181 \times 10^7$ CFU/mL $\pm 2,539$). Hal ini sejalan dengan penelitian Win *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa pemanfaatan sumber karbon dan nitrogen oleh bakteri pendegradasi kafein yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri dapat menurunkan konsentrasi kafein pada media.



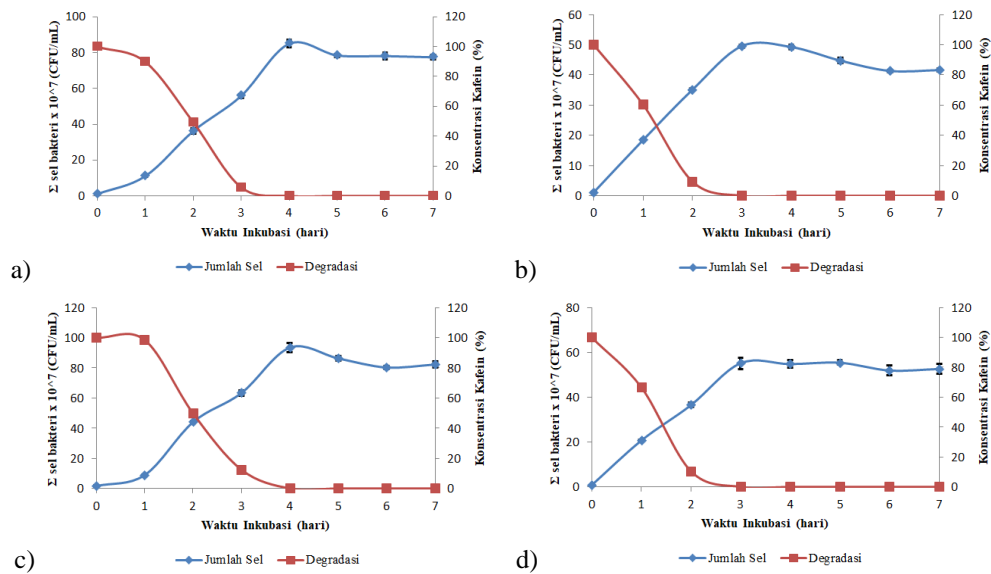
Gambar 3. Pola degradasi kafein oleh konsorsium bakteri dan isolat tunggal bakteri pendegradasi kafein

Pola degradasi kafein oleh konsorsium bakteri dan *P. plecoglossicida* KAFS 34 berdasarkan Gambar 3 menunjukkan pola yang tidak jauh berbeda. *P. plecoglossicida* KAFS 34 mampu mendegradasi kafein mencapai 100% pada waktu inkubasi 3 hari dengan jumlah sel $49,598 \times 10^7 \pm 0,487$ CFU/mL. Menurut penelitian Malasari (2020) *P. plecoglossicida* KAFS 34 mampu mendegradasi kafein mencapai 98,15% dalam waktu inkubasi 3 hari. *P. denitrificans* KAFS 16 ($84,940 \times 10^7 \pm 2,118$ CFU/mL) dan *A. gernerii* KAFS 47 ($93,481 \times 10^7 \pm 2,981$ CFU/mL) memiliki pola degradasi kafein yang hampir sama dengan waktu inkubasi 4 hari mampu mendegradasi kafein 100%. Menurut Irsyadah (2020) degradasi kafein oleh *P. denitrificans* KAFS 16 mencapai 100% pada waktu inkubasi 2 hari. Penelitian Sindiana (2020) melaporkan bahwa *A. gernerii* KAFS 47 mampu mendegradasi kafein 100% dalam waktu inkubasi 2,5 hari.

Pertumbuhan konsorsium bakteri ($54,779 \times 10^7 \pm 1,739$ CFU/mL) dan *P. plecoglossicida* KAFS 34 ($49,277 \times 10^7 \pm 0,733$ CFU/mL) pada waktu inkubasi 4 hari lebih rendah dibandingkan dengan *P. denitrificans* KAFS 16 ($84,940 \times 10^7 \pm 2,118$ CFU/mL) dan *A. gernerii* KAFS 47 ($93,481 \times 10^7 \pm 2,981$ CFU/mL). Namun, aktivitas degradasi kafein oleh konsorsium bakteri dan *P. plecoglossicida* KAFS 34 lebih tinggi, yaitu lebih cepat 24 jam dibandingkan dengan *P. denitrificans* KAFS 16 dan *A. gernerii* KAFS 47. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan pola pertumbuhan dan degradasi kafein oleh konsorsium bakteri dan *P. plecoglossicida* KAFS 34 hampir sama. Oleh karena itu, perlu adanya pertimbangan penggunaan konsorsium bakteri sebagai pendegradasi kafein karena memiliki potensi degradasi kafein yang tidak jauh berbeda dengan isolat tunggal (*P. plecoglossicida* KAFS 34).

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data terdistribusi normal yaitu 0,566 (*P. denitrificans* KAFS 16); 0,960 (*P. plecoglossicida* KAFS 34); 0,998 (*A. gernerii* KAFS 47); dan 0,481 (konsorsium bakteri). Uji korelasi Pearson dilakukan untuk mengetahui hubungan pertumbuhan bakteri dengan degradasi kafein pada medium oleh bakteri. Uji ini dilakukan jika data terdistribusi normal dengan nilai signifikansi 0,05. Nilai signifikansi pada *P. denitrificans* KAFS 16, *P. plecoglossicida* KAFS 34, *A. gernerii* KAFS 47, dan konsorsium bakteri tersebut 0,000. Nilai

signifikansi < 0,05 yang berarti terdapat korelasi yang signifikan antara jumlah sel bakteri dengan persentase degradasi kafein dengan nilai korelasi > 0,950. Menurut Yanti & Akhri (2021) nilai kriteria korelasi 0,81-1,00 menunjukkan korelasi sempurna. Hubungan korelasi bernilai negatif yang menunjukkan semakin meningkatnya pertumbuhan bakteri, konsentrasi kafein dalam medium semakin menurun (Gambar 4). Hal ini menunjukkan pertumbuhan bakteri memanfaatkan media yang mengandung kafein, sehingga konsentrasi kafein menurun dari 100% sampai 0% (Subagiyo *et al.*, 2016).



Gambar 4. Hubungan jumlah sel bakteri dengan persentase degradasi kafein oleh a) *P. denitrificans* KAFS 16; b) *P. plecoglossicida* KAFS 34; c) *A. gernerii* KAFS 47; dan d) konsorsium bakteri

KESIMPULAN

Bakteri *P. denitrificans* KAFS 16, *P. plecoglossicida* KAFS 34, dan *A. gernerii* KAFS 47 memiliki asosiasi positif, sehingga dapat digunakan sebagai konsorsium bakteri pendegradasi kafein. Pertumbuhan konsorsium bakteri memiliki jumlah sel yang lebih rendah dibandingkan dengan *P. denitrificans* KAFS 16 dan *A. gernerii* KAFS 47, tetapi lebih tinggi daripada *P. plecoglossicida* KAFS 34 pada fase eksponensial pada media kafein. Ketiga isolat menunjukkan pertumbuhan pada konsorsium berdasarkan uji viabilitas ketahanan terhadap antibiotik. Konsorsium bakteri memiliki kemampuan degradasi kafein sebesar 100% dan mirip dengan *P. plecoglossicida* KAFS 34 yaitu serta lebih tinggi dari *P. denitrificans* KAFS 16 dan *A. gernerii* KAFS 47. Korelasi pertumbuhan bakteri dengan degradasi kafein pada

konsorsium bakteri menunjukkan nilai korelasi sempurna (> 0,950) dan bersifat negatif.

DAFTAR PUSTAKA

Afriani N, Yusmarini & Pato U. 2017. Aktivitas Antimikroba *Lactobacillus plantarum* 1 yang Diisolasi dari Industri Pengolahan Pati Sagu terhadap Bakteri Patogen *Escherichia coli* Fnc-19 dan *Staphylococcus aureus* Fnc-15. *JOM FAPERTA*. **4**(2): 1-12.

Arimurti S, Oktavianawati I & Suharjo S. 2021. Isolation and Screening Caffeine-Degrading Bacteria. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. **743**(1).

Gomes T, Pereira JA, Ramalhosa E, Casal S, & Baptista P. 2013. Effect of Fresh and Composted Spent Coffee Grounds on Lettuce Growth, Photosynthetic Pigments and Mineral Composition *VII Congresso*

- Ibérico de Agroingeniería y Ciencias Hortícolas*. **VII**: 1372-1376.
- Hamzah A, Phan CW, Abu Bakar NF & Wong KK. 2013. Biodegradation of Crude Oil by Constructed Bacterial Consortia and the Constituent Single Bacteria Isolated from Malaysia. *Bioremediation Journal*. **17**(1): 1-10.
- Irsyadah A. 2020. *Analisis Pola Pertumbuhan, Degradasi Kafein, dan Profil Protein Bakteri Paracoccus denitrificans KAFS 16 pada Media Kafein*. [Skripsi, Universitas Jember].
- Iswanto T, Shovitri M, Altway A, Widjaja T, Kusumawati DI & Lisdiyanti P. 2019. Isolation and Identification of Caffeine-degrading Bacteria from Soil, Coffee Pulp Waste and Excreted Coffee Bean in Luwak Feces. *Biodiversitas*. **20**(6): 1580-1587.
- Khurshed T, Ansari MYK & Shahab D. 2009. Studies on the Effect of Caffeine on Growth and Yield Parameters in *Helianthus annuus* L. Variety Modern. *Biology and Medicine*. **1**(2): 56-60.
- Kumar KH & Jagadeesh KS. 2016. Microbial Consortia-mediated Plant Defense Against Phytopathogens and Growth Benefits. *South Indian Journal of Biological Sciences*. **2**(4): 395-403.
- Malasari V. 2020. *Analisis Pertumbuhan dan Profil Protein Bakteri Pendegradasi Kafein Pseudomonas plecoglossicida KAFS 34*. [Skripsi, Universitas Jember]
- Mulyadi M & Ria SP. 2017. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang-Alang (*Imperata cylindrica*) dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. **20**(3):130-135.
- Poszytek K, Ciekowska M, Sklodowska A. & Drewniak L. 2016. Microbial Consortium with High Cellulolytic Activity (MCHCA) for Enhanced Biogas Production. *Frontiers in Microbiology*. **7**.
- Resti Z, Sulyanti E & Reflin. 2018. Endophytic Bacterial Consortium as Biological Control to *Ralstonia solanacearum* and Growth Promoter for Chili Plant. *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON*. **4**(2): 208-214.
- Rifai MR, Widowati H & Sutanto A. 2020. *Uji Sinergis Konsorsia Bakteri Indigen LCN Berkonsorsia Bakteri Tanah di Kebun Percobaan Universitas Muhammadiyah Metro untuk Penyusunan Panduan Praktikum Mikrobiologi*. <http://scholar.ummetro.ac.id/index.php/biolova/>
- Sindiana I. 2020. *Pola Pertumbuhan dan Profil Protein Bakteri Pendegradasi Kafein Acinetobacter gernerii KAFS 47*. [Skripsi Universitas Jember]
- Subagiyo S, Margino S & Triyanto T. 2016. Pengaruh Penambahan Berbagai Jenis Sumber Karbon, Nitrogen dan Fosfor pada Medium deMan, Rogosa and Sharpe (MRS) terhadap Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Terpilih yang Diisolasi dari Intestinum Udang Penaeid. *Jurnal Kelautan Tropis*. **18**(3): 127.
- Summers RM, Louie TM, Yu CL, Gakhar L, Louie KC & Subramanian M. 2012. Novel, Highly Specific N-demethylases Enable Bacteria to Live on Caffeine and Related Purine Alkaloids. *Journal of Bacteriology*. **194**(8): 2041-2049.
- Summers RM, Mohanty SK, Gopishetty S & Subramanian M. 2015. Genetic Characterization of Caffeine Degradation by Bacteria and Its Potential Applications. In *Microbial Biotechnology*. **8**(3): 369-378.
- Triono AA & Purwoko AE. 2012. Efektifitas Antibiotik Golongan Sefalosporin dan Kuinolon terhadap Infeksi Saluran Kemih. *Mutiara Medika*. **12**(1): 6-11.
- Wasitaningrum IDA. 2009. *Uji Resistensi Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli dari Isolat Susu Sapi Segar Terhadap Beberapa Antibiotik*. [Skripsi Universitas Muhammadiyah Surakarta].
- Wilarsih R. 2019. Profil Penggunaan Obat Antibiotik pada Pasien Paviliun Shofa di Rumah Sakit Muhammadiyah Lamongan. *Encephale*. **53**(1): 59-65.
- Win YY, Singh M, Sadiq MB & Anal AK. 2019. Isolation and Identification of Caffeine-degrading Bacteria from Coffee Plantation Area. *Food Biotechnology*. **33**(2): 109-124.
- Yanti CA & Akhri I. 2021. Perbedaan Uji Korelasi Pearson, Spearman dan Kendall Tau dalam Menganalisis Kejadian Diare. *Jurnal Endurance*. **6**(1): 51-58.
- Yunensa KS. 2016. *Pengaruh Kombinasi Antibiotik Ampisilin dan Mnyak Atsiri Kulit Batang Kayu Manis (Cinnamomum burmanni) terhadap Staphylococcus aureus Multiresisten*. [Skripsi, Universitas Muhammadiyah Surakarta].