

**PEMANFAATAN BAKTERI *Thiobacillus thioparus*
UNTUK MENDEGRADASI KANDUNGAN SULFUR
DALAM GAS ALAM**

SKRIPSI

Oleh

**ICHSAN KAMIL
040306040X**



**SKRIPSI INI DIAJUKAN UNTUK MELENGKAPI SEBAGIAN
PERSYARATAN MENJADI SARJANA TEKNIK**

**DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNIK UNIVERSITAS INDONESIA
GENAP 2008**



PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul,

PEMANFAATAN BAKTERI *Thiobacillus thioparus* UNTUK MENDEGRADASI KANDUNGAN SULFUR DALAM GAS ALAM

Yang dibuat untuk melengkapi sebagian persyaratan menjadi Sarjana Teknik pada Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia, sejauh yang saya ketahui bukan merupakan tiruan atau duplikasi dari skripsi yang sudah dipublikasikan dan atau pernah dipakai untuk mendapatkan gelar kesarjanaan di lingkungan Universitas Indonesia maupun di Perguruan Tinggi atau Instansi manapun, kecuali bagian yang sumber informasinya dicantumkan sebagaimana mestinya.

Depok, 14 juli 2008

Ichsan Kamil

040306040X



PENGESAHAN

Skripsi dengan judul,

PEMANFAATAN BAKTERI *Thiobacillus thioparus* UNTUK MENDEGRADASI KANDUNGAN SULFUR DALAM GAS ALAM

Dibuat untuk melengkapi sebagian persyaratan menjadi Sarjana Teknik pada Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia dan disetujui untuk diajukan dalam sidang ujian skripsi.

Depok, 14 Juli 2008

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

Ir. Dianursanti, MT

NIP. 132 165 710

Eva F. K., ST, MT

NIP. 132 161 170



UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

Dianursanti, ST, MT

Ir. Eva F. K., MT

selaku dosen pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberi pengarahan, diskusi dan bimbingan serta persetujuan sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik. Selain itu, penulis juga ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Mama dan Papa, orang tua ku tersayang dan adikku, atas semua dukungan yang telah diberikan selama ini.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Widodo W. Purwanto, DEA selaku Ketua Departemen Teknik Kimia FTUI.
3. Ir. Praswasti P. D. K. Wulan, MT atas bimbingannya selama ini
4. Dr. Ing. Ir. Misri Gozan, M.Tech dan Tania Surya Utami, ST, MT atas koreksi dan masukannya.
5. Seluruh Dosen Departemen Teknik Kimia FTUI atas ilmu yang telah diberikan selama ini.
6. Esty M., Rendra, Aryo, teman satu kelompok penelitian, atas semua motivasi, dukungan serta semangat yang telah diberikan selama ini. Perjuangan kita tidak akan sia-sia.
7. Vita, Mas Eko, Pak Min, Kang Jajat, Mas Opik, Mang Ijal, Mas Heri, Mas Mugeni, dan Mas Sri dan atas semua bantuannya selama ini.
8. Teman – teman angkatan 2003, terimakasih telah memberikan motivasi, dukungan dan segala bantuannya selama ini.
9. Seluruh teman – teman Teknik kimia UI, untuk angkatan 2004, 2005, 2006, dan 2007 atas bantuan dan keakraban selama ini.

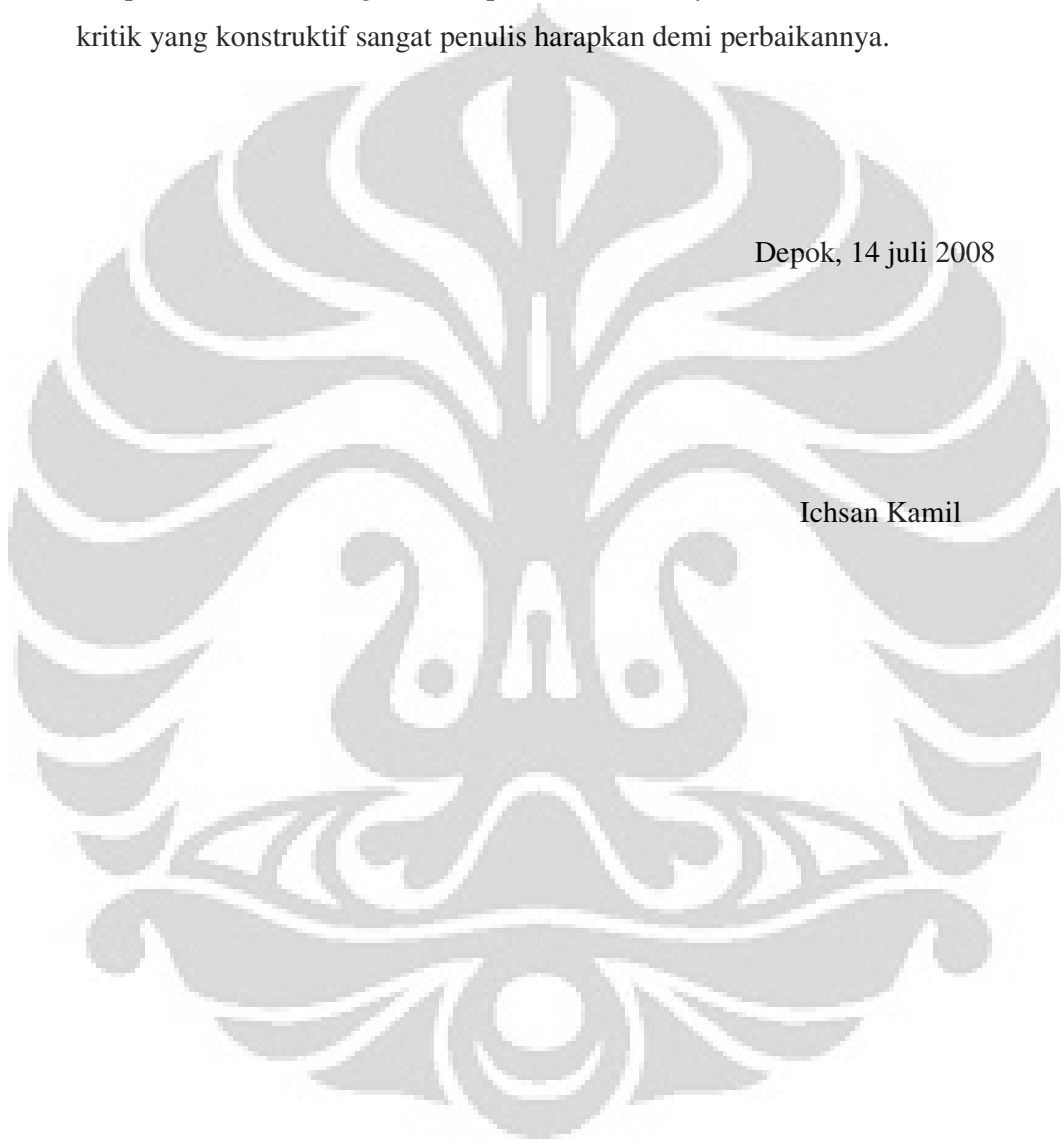


10. Dan kepada pihak-pihak lain yang terkait dalam penulisan laporan ini yang belum disebutkan namanya.

Akhir kata, penulis mengakui bahwa makalah skripsi ini belumlah sempurna, baik dari segi isi maupun tata bahasanya. Oleh karena itu, saran dan kritik yang konstruktif sangat penulis harapkan demi perbaikannya.

Depok, 14 juli 2008

Ichsan Kamil





Ichsan Kamil
NPM 0400306040X
Departemen Teknik Kimia

Dosen Pembimbing:
Dianursanti, ST, MT
Ir. Eva F. K., MT

**PEMANFAATAN BAKTERI *Thiobacillus thioparus* UNTUK
MENDEGRADASI KANDUNGAN SULFUR DALAM GAS ALAM**

ABSTRAK

Indonesia memiliki cadangan gas alam masih cukup tinggi. Namun kualitas gas alam yang diproduksi saat ini masih kurang baik karena pengaruh kandungan gas non-hidrokarbon yang menjadi gas polutan yang terkandung dalam gas alam, seperti H_2S , SO_2 , SO_3 , RSH dan lain – lain. Tingginya kandungan gas sulfur tersebut dapat menurunkan daya bakar gas alam, selain itu dapat merusak sarana yang terkait dengan pengolahan gas alam dan merusak sarana yang menggunakan gas alam sebagai bahan bakar serta emisinya dapat mencemari lingkungan.

Salah satu solusi yang terbaik untuk mengatasi masalah ini adalah dengan menggunakan bakteri pereduksi sulfur untuk mereduksi kandungan sulfur dalam gas alam. Jenis bakteri ini dapat mengoksidasi senyawa sulfur untuk menghasilkan energi. Bakteri sulfur dapat menyimpan dan atau menggunakan sulfur elemental atau komponen organik sulfur untuk metabolisme selnya.

Dalam penelitian ini bakteri pendegradasi sulfur yang digunakan adalah *Thiobacillus thioparus*. Dan senyawa sulfur yang digunakan adalah Natrium thiosulfat, $Na_2S_2O_3$ dengan konsentrasi 200, 400, dan 600 ppm.

Berdasarkan hasil penelitian, tingkat ketahanan bakteri *Thiobacillus thioparus* terhadap variasi konsentrasi senyawa sulfur secara umum mengalami lag fase pada 12 jam pertama, lalu mengalami fase eksponensial dimana pertumbuhan bakteri sangat cepat selama 30 atau 36 jam dan mengalami penurunan populasi pada jam ke-54. Dan laju degradasi sulfur oleh bakteri *Thiobacillus thioparus* semakin besar konsentrasi substrat, maka laju degradasi akan semakin besar hingga mencapai nilai maksimum, dan kemudian menurun dengan bertambahnya konsentrasi substrat.

Kata kunci : Biofilter, Senyawa Sulfur, *Thiobacillus thioparus*.



Ichsan Kamil NPM 0400306040X Chemical Engineering Departement	Project Supervisor: Dianursanti, ST, MT Ir. Eva F. K., MT
Utilization of bacteriy <i>Thiobacillus thioparus</i> to reduce sulfur content in natural gas	
ABSTRAC <p>Indonesia have natural gas reserve still high enough. But the quality of produced natural gas in this time still unfavourable because obstetrical influence of non-hidrokarbon gas becoming polutan gas which implied in natural gas, like H₂S, SO₂, SO₃, R_SH and etc. Obstetrical height of the sulphur gas can degrade energy burn natural gas, besides can destroy medium which related to processing of natural gas and destroy medium using natural gas upon which burn and also its emission can contaminate environment.</p> <p>One of the best solutions to overcome this problem by using sulphur reducing bacteria to reducing sulphur content in natural gas. this bacteria type can oxidize sulphur compound to yield energi. Sulphur bacteria earn save and or use elemental sulphur or organic component of sulphur for the metabolism of cell.</p> <p>In this research the sulfur reducer bacteria which used is <i>Thiobacillus thioparus</i>. And sulfur compound which used is Natrium thiosulfat, N₂S₂O₃ with concentration 200, 400, 600 ppm.</p> <p>Pursuant to result of research, mount <i>Thiobacillus thioparus</i> bacteria resilience to sulphur compound concentration variation in general experience of phase lag at 12 first hour, then experience of eksponensial phase where growth bacterium very quickly during 30 or 36 hour and experience of degradation population at hour of 54. And fast of sulphur degradasi by ever greater <i>Thiobacillus thioparus</i> bacterium of substrat concentration, hence accelerateing degradasi will be ever greater till reach maximum, and then decrease by increasing substrat concentration.</p>	
Keyword : Biofilter, Sulfur Compound , <i>Thiobacillus thioparus</i>.	



DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	i
PENGESAHAN.....	ii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iii
ABSTRAK.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
BAB I PENDAHULUAN.....	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Rumusan Masalah.....	3
I.3 Tujuan Penelitian.....	3
I.4 Batasan Masalah.....	3
I.5 Sistematika Penulisan.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
II.1 Hidrogen sulfida (H ₂ S).....	5
II.1.1 Karakteristik gas H ₂ S.....	6
II.1.2 Bahaya Gas H ₂ S.....	7
II.2 Pertumbuhan Mikroorganisme.....	9
II.2.1 Metabolisme Mikroorganisme.....	12
II.2.2 Jalur Metabolisme Mikroorganisme untuk Degradasi.....	18
II.3 Bakteri Pengoksidasi Sulfur.....	23
II.4 <i>Thiobacillus</i> sp.....	26
II.5 Biofilter.....	28
BAB III METODE PENELITIAN.....	31
III.1 Diagram Alir.....	31
III.2 Alat dan Bahan.....	32
III.2.1 Alat.....	32
III.2.2 Bahan.....	33



III.3 Variabel Penelitian	33
III.4 Prosedur Percobaan	34
III.4.1 Persiapan Kultur Bakteri.....	34
III.4.2 Tahap penanaman bakteri <i>Thiobacillus Thioparus</i> dalam media miring / <i>Nutrient Agar</i> (NA).....	34
III.4.3 Tahap penanaman bakteri <i>Thiobacillus Thioparus</i> dalam media Kultivasi	35
III.4.4 Tahap penanaman bakteri <i>Thiobacillus Thioparus</i> dalam media adaptasi.....	36
III.4.5 Tahap penanaman bakteri <i>Thiobacillus Thioparus</i> dalam media <i>Plate Count Agar</i> (PCA)	37
III.5 Skema Alat.....	39
III.6 Pelaksanaan pengujian.....	39
III.6.1 Penentuan Kandungan Thiosulfat dengan Titrasi Iodimeter.....	40
III.6.2 Perhitungan Populasi bakteri <i>Thiobacillus thioparus</i> dengan metode TPC	40
III.7 Data Pengamatan dan pengolahan data	41
III.7.1 Data.....	41
III.7.2 Pengolahan data Pengamatan.....	41
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	43
IV.1 Proses desulfurisasi senyawa sulfur oleh bakteri <i>Thiobacillus thioparus</i>	46
IV.2 Tingkat ketahanan bakteri <i>Thiobacillus thioparus</i> terhadap variasi konsentrasi senyawa sulfur.....	48
IV.3 Laju degradasi sulfur oleh bakteri <i>Thiobacillus thioparus</i>	51
BAB V KESIMPULAN	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN	57



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Sifat Fisik H ₂ S.....	6
Tabel 2.2 Klasifikasi nutrisi mikroorganisme (Baker dan Herson, 1994).....	12
Tabel 2.3 Beberapa bakteri pengoksidasi sulfur.....	25
Tabel 4.1 Konsentrasi awal thiosulfat.....	45
Tabel 4.2 Konsentrasi inlet dan outlet untuk variasi konsentrasi 200, 400, dan 600 ppm	47
Tabel 4.3 Persen konsentrasi untuk variasi konsentrasi 200, 400, dan 600 ppm ..	47
Tabel 4.4 Data pertumbuhan bakteri.....	49
Tabel 4.5 laju Degradasi keseluruhan bakteri <i>Thiobacillus thioparus</i>	51



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Kurva pertumbuhan Bakteri. (Knowles, 2004)	9
Gambar 2.2 Kurva energi aktivasi dengan reaksi enzim (Sanseverino et. al., 1994)	16
Gambar 2.3 Deskripsi mikroorganisme menggunakan energi dan substrat untuk tumbuh (Suthersan, 2001)	17
Gambar 2.4 Konseptual diagram dari aktivitas mikroorganisme untuk memperoleh energy dan Multiplikasi (Suthersan, 2001)	18
Gambar 2.5 Glikolisis (Baker dan Herson, 1994)	19
Gambar 2.6 Siklus Krebs (Baker dan Herson, 1994).....	20
Gambar 2.7 Sistem Transport Elektron (Baker dan Herson, 1994).....	21
Gambar 2.8 Keseluruhan jalur metabolik (Baker dan Herson, 1994)	22
Gambar 2.9 Bentuk kultur dari <i>Thiobacillus thioparus</i> dalam media Nutrient Agar	26
Gambar 2.10 Jalur reduksi – oksidasi sulfur oleh bakteri (http://soil.cses.vt.edu). 28	
Gambar 3.1 Diagram Alir	31
Gambar 3.2 Skema alat pendegradasi sulfur	39
Gambar 4.1 Grafik Persen konsentrasi untuk variasi konsentrasi 200, 400, dan 600 ppm	48
Gambar 4. 2 Grafik pertumbuhan bakteri (cfu/mL)	50



BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Dalam sektor minyak dan gas bumi, faktor efisiensi dan peningkatan produksi menjadi program utama dalam sektor ini. Masih cukup tingginya cadangan gas bumi membuat perhatian produksi migas di Indonesia perlahan – lahan beralih ke sektor gas bumi, Namun demikian, banyak produk gas bumi dengan kualitas yang kurang baik. Hal ini banyak disebabkan oleh tingginya kandungan gas non-hidrokarbon dalam gas bumi. Senyawa non-hidrokarbon yang sering membuat mutu gas bumi menurun, diantaranya berupa kandungan karbon dioksida dan senyawa sulfur.

Hidrogen sulfida (H_2S) merupakan salah satu senyawa gas alam yang jika dibentuk dan dioksidasi dapat menjadi sulfur elemental. Hidrogen sulfida mempunyai bau seperti telur busuk dan kadang lebih toksik dari pada karbon monoksida. Hidrogen sulfida dapat dideteksi pada konsentrasi yang rendah (0,002 mg/L) dan memiliki sifat yang beracun serta mempunyai sifat korosif dan dapat terbakar (Merck, 1983).

Beraneka ragam senyawa sulfur terdapat dalam gas bumi. Bentuk senyawa sulfur tersebut dapat berupa gas H_2S , SO_2 , SO_3 , mercaptan dan gas sebagainya. Senyawa – senyawa sulfur akan bercampur dalam gas bumi. Gas dengan kandungan sulfur yang cukup memadai, dapat mengakibatkan penurunan mutu/daya bakar dan dapat merusak sarana yang menggunakan gas tersebut. Apabila senyawa sulfur tersebut masuk ke atmosfer, maka dapat terjadi pencemaran udara. Penanggulangan tersebut perlu diusahakan secara relatif sederhana, dapat dilaksanakan dengan baik, dan proses dan hasil akhirnya yang ramah lingkungan.

Berkaitan dengan reduksi kandungan sulfur dalam gas bumi banyak cara untuk menanggulangnya. Salah satu cara dengan memanfaatkan bioteknologi, yaitu teknologi yang didukung oleh aktivitas mikroorganisme insitu dan bila perlu dapat ditambah mikroorganisme dari luar (eksogen). Biofilter telah banyak



digunakan di beberapa negara di dunia, karena efektif untuk mengolah emisi gas buang dari berbagai industri dengan volume gas yang besar namun mempunyai konsentrasi polutan yang rendah. menurut Hirai *et al.* (2001), kinerja biofilter menurut Ottengraf (1987) dapat dinilai berdasarkan beberapa hal berikut :

1. Laju atau kapasitas degradasi maksimum (g/kg-media kering/hari).
2. Kecepatan tercapainya kondisi aklimasi mikroba.
3. Kemampuan mempertahankan rasio degradasi gas (efisiensi degradasi) dalam waktu yang relatif lama.
4. Kemampuan bahan substrat dalam mempertahankan kondisi pH, suhu dan kadar air.

Beberapa jenis bakteri dapat mengoksidasi senyawa sulfur untuk menghasilkan energi. Kelompok bakteri ini disebut bakteri sulfur (*sulfur bacteria*). Bakteri sulfur dapat menyimpan dan atau mempergunakan sulfur elemental atau komponen organik sulfur untuk metabolisme selnya.

Bakteri pereduksi sulfur dapat ditemukan hampir disemua lingkungan di bumi, seperti di tanah, air tawar, air laut, air payau, sumber air panas, daerah geothermal, sumur minyak dan gas bumi, cadangan sulfur, endapan lumpur, selokan, besi karat, rumina kambing dan usus serangga (Postage, 1984 dalam Wahyuni, 2004). Bakteri pereduksi sulfur dapat beradaptasi dalam kisaran suhu – 5 °C sampai 75 °C, dapat tumbuh dalam air pada tekanan 1×10^5 kPa, dan mampu bertahan pada pH sedikit dibawah 5 sampai 9,5 serta mampu beradaptasi pada kondisi osmotik dengan kisaran yang luas. Telah banyak penelitian mengenai sifat fisiologis dan enzimatis dari spesies pengoksidasi senyawa sulfur. Berdasarkan hasil beberapa penelitian, bakteri sulfur menunjukkan bahwa jenis *Thiobacillus thioparus* merupakan spesies kemotropik terbaik.

Melalui metode biofilter diharapkan dapat diperoleh gas bumi dengan kandungan sulfur cukup rendah. Metode ini termasuk sederhana dan ramah lingkungan dengan hasil yang baik. Hasil yang diharapkan dapat mendukung industri migas dalam meningkatkan mutu produk gas bumi dan dengan penurunan kandungan sulfur dalam gas bumi dapat mengurangi pencemaran udara dan lingkungan.



I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, masalah yang akan dikaji dalam penelitian adalah:

Bagaimana tingkat ketahanan bakteri *Thiobacillus thioparus* terhadap peningkatan konsentrasi sulfur dan proses desulfurisasi senyawa sulfur oleh bakteri *Thiobacillus thioparus*.

I.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini memiliki tujuan sebagai berikut :

1. Mengkaji kecenderungan proses desulfurisasi senyawa sulfur oleh bakteri *Thiobacillus thioparus*.
2. Menentukan tingkat ketahanan bakteri *Thiobacillus thioparus* dalam proses desulfurisasi.
3. Menentukan laju degradasi sulfur (*desulfurisasi*) oleh bakteri *Thiobacillus thioparus*.

I.4 Batasan Masalah

Permasalahan yang akan dikaji dalam penelitian ini terbatas pada hal – hal berikut :

1. Proses desulfurisasi dilakukan dalam skala laboratorium pada laboratorium Lemigas, Jakarta dan laboratorium Bioproses Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia dengan berbagai keterbatasannya.
2. Jenis bakteri yang digunakan adalah Kultur bakteri tunggal *Thiobacillus thioparus* diperoleh dari koleksi bakteri yang dimiliki oleh kelompok bioteknologi – Lemigas (*Biotechnology Lemigas Culture Collection*).
3. Media adaptasi yang digunakan untuk tempat tumbuh bakteri terdiri dari: 1,2 gram KH_2PO_4 , 1,2 gram K_2HPO_4 , 0,4 gram NH_4Cl , 0,22 gram $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dan 1 liter air *Reverse Osmosis* (RO).
4. Senyawa sulfur yang digunakan merupakan natrium thiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) dengan konsentrasi 200, 400 dan 600 ppm.



I.5 Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan makalah ini disusun sebagai berikut:

ABSTRAK

BAB I : PENDAHULUAN

Berisi latar belakang masalah, rumusan masalah, tujuan penulisan, batasan masalah dan sistematika penulisan.

BAB II : TINJAUAN PUSTAKA

Berisikan teori pengantar, antara lain: Hidrogen Sulfida (H_2S), Pertumbuhan Mikroorganisme, Bakteri pengoksidasi sulfur, *Thiobacillus* sp., dan Biofilter.

BAB III : METODE PENELITIAN

Meliputi alur penelitian, alat dan bahan, prosedur percobaan, Pelaksanaan pengujian, variable penelitian, data pengamatan dan pengolahan data.

BAB IV : HASIL DAN PEMBAHASAN

Berisikan data – data dan analisis hasil penelitian dari proses desulfurisasi oleh bakteri *Thiobacillus thioparus*, tingkat ketahanan bakteri *Thiobacillus thioparus* terhadap variasi konsentrasi senyawa sulfur dan laju degradasi sulfur oleh bakteri *Thiobacillus thioparus* menentukan laju pertumbuhan bakteri *Thiobacillus thioparus* dalam proses desulfurisasi

BAB V : KESIMPULAN

DAFTAR PUSTAKA



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

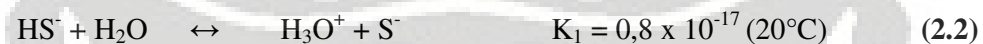
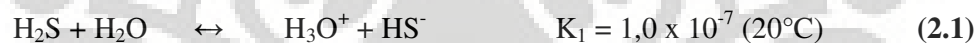
Pada bab ini berisikan teori pengantar, antara lain: Hidrogen Sulfida (H_2S), Pertumbuhan Mikroorganisme, Bakteri pengoksidasi Sulfur, Bakteri heterotrof, *Thiobacillus* sp., Biofilter.

II.1 Hidrogen sulfida (H_2S)

Hidrogen sulfida (H_2S) merupakan salah satu senyawa gas alam yang jika dibentuk dan dioksidasi dapat menjadi sulfur elemental. Hidrogen sulfida dibentuk dalam jumlah yang sangat besar pada proses HDS (*hydrodesulfurization*) pada proses desulfurisasi minyak mentah. Selain itu, Hidrogen sulfida juga terdapat pada ledakan gunung berapi (Lens dan Pol, 2000).

Hidrogen sulfida mempunyai bau seperti telur busuk dan terkadang lebih toksik dari pada karbon monoksida. Hidrogen sulfida dapat dideteksi pada konsentrasi yang sangat rendah (0,002 mg/L) dan memiliki sifat yang beracun serta mempunyai sifat yang korosif dan mudah terbakar (Merck, 1983).

Kelarutan Hidrogen sulfida pada air dengan suhu $20^\circ C$ hanya 0,40 gram/100 gram H_2O (0,12M), pada tekanan 1.013 bar. Kelarutan Hidrogen sulfida meningkat seiring dengan meningkatnya suhu. Berikut adalah reaksi yang menunjukkan kelarutan Hidrogen sulfida dalam air (Lens dan Pol, 2000).





II.1.1 Karakteristik gas H₂S

Tabel 2.1 Sifat Fisik H₂S

Hidrogen Sulfida (H ₂ S)			
Kegunaan :	Sebagai reagen pada kimia analitik dan industri metalurgi	Properti Fisik	
Batas Paparan	Kematian Segera : 300 ppm Standard OSHA: batas atas 20 ppm NIOSH : 10 menit kadar 10 ppm	Titik didih	-60 °C
		Titik Lebur	-83 °C
		Densitas Uap	1,2
Kelarutan oleh air	pada 20 Celcius, 1 gram H ₂ S terlarut dalam 242 ml air	Tekanan Kritis	89,05 atm
		Temperatur Kritis	100,4 °C
Penampilan dan Bau	Tidak berwarna, berbau telur busuk	Berat Molekul	34 gr/mol
		Viskositas Gas	0,0116 cp
Temperatur Nyala	260 °C	Tekanan uap (20 °C)	16 atm

H₂S stabil pada kontainer yang tertutup, dan bertekanan pada temperatur kamar pada kondisi penyimpanan normal. H₂S tidak mengalami reaksi polimerisasi yang berbahaya. Ketidaksesuaian kimiawi : H₂S sangat reaktif, dan berbahaya jika bereaksi dengan pengoksidan kuat, asam nitrit, sodium, sodium peroksida, acetaldehid, tembaga. Kondisi yang harus dihindari : Hindari sumber api dalam bentuk api, bara, bunga api listrik atau panas yang berlebih sebab gas H₂S sangat mudah terbakar.

Karakteristik gas H₂S dapat diperhatikan sebagai berikut :

- Sangat beracun dan mematikan
- Tidak berwarna
- Lebih rendah dari udara sehingga cenderung berkumpul dan diam pada daerah yang rendah
- Mudah tertiuap dan dihamburkan oleh udara dan angin
- Sangat mudah terbakar dan membentuk gas yang dapat meledak apabila tercampur dengan udara atau oksigen



- Bila terbakar menyala dengan warna biru dan hasil pembakarannya berupa gas sulfur dioksida (SO_2) yang juga merupakan gas beracun
- Pada konsentrasi rendah berbau seperti telur busuk dan sering melumpuhkan indera penciuman manusia
- Sangat korosif sehingga mengakibatkan karat pada logam
- Gas H_2S lebih mematikan daripada gas CO dan sama beracunnya dengan gas hidrogen sianida (HCN)

II.1.2 Bahaya Gas H_2S

Apabila seseorang menghirup gas H_2S , maka gas tersebut akan masuk ke dalam paru-paru untuk kemudian diserap oleh aliran darahnya. Untuk bisa bertahan hidup, maka tubuh mengoksidasi gas H_2S tersebut secepat mungkin hingga terbentuk senyawa yang tidak berbahaya. Paparan dalam jumlah besar ke dalam sistem pernafasan akan mengakibatkan jumlah gas H_2S dalam darah akan bertambah dan akan mulai meracuninya. Kemudian pusat-pusat urat saraf pada otak yang mengontrol pernafasan akan dilumpuhkan dan paru-paru akan berhenti bekerja.

H_2S bukan merupakan bahan pemicu kanker atau karsinogen. Konsentrasi yang tinggi (500 - 1000 ppm) dari H_2S dapat menyebabkan keracunan secara sistematis didahului gejala kelumpuhan pernafasan, tidak sadar, diikuti oleh kematian.

Paparan pada konsentrasi 50 - 500 ppm mengakibatkan iritasi pernafasan (batuk, batuk, kesulitan bernafas). Iritasi pada mata dan sistem pernafasan atas dimulai pada konsentrasi 20 ppm, tingkat keparahannya akan bertambah seiring durasi dan intensitas paparan H_2S . Indera penciuman akan lumpuh dengan segera pada konsentrasi H_2S 200 ppm.

Hilangnya kesadaran dan koma yang menuju pada kematian segera terjadi bila gas H_2S pada konsentrasi >1000 ppm terhirup dalam jumlah yang kecil. Gas H_2S dapat memasuki tubuh melalui kulit dan pernafasan.



1. Pertolongan Pertama bila terpapar H₂S:

- Mata : segera cuci mata di bawah air mengalir paling kurang 15 menit.
- Kulit : segera rawat bila terpapar H₂S cair pada kulit.
- Pernafasan : pindahkan segera korban ke udara segar, bantu pernafasannya.
- Persiapan Keselamatan : sediakan pos pencucian mata, dan air pancur yang berjalan dengan baik.

2. Efek gas H₂S pada tubuh manusia bergantung pada :

- Lamanya seseorang dikenai paparan gas.
- Frekuensi seseorang teracuni oleh gas.
- Besar konsentrasi gas.
- Ketahanan seseorang untuk bertahan dalam lingkungan gas H₂S tersebut.

3. Terpapar gas H₂S dalam tingkat rendah dapat menyebabkan gejala berikut, tersendiri atau gabungan :

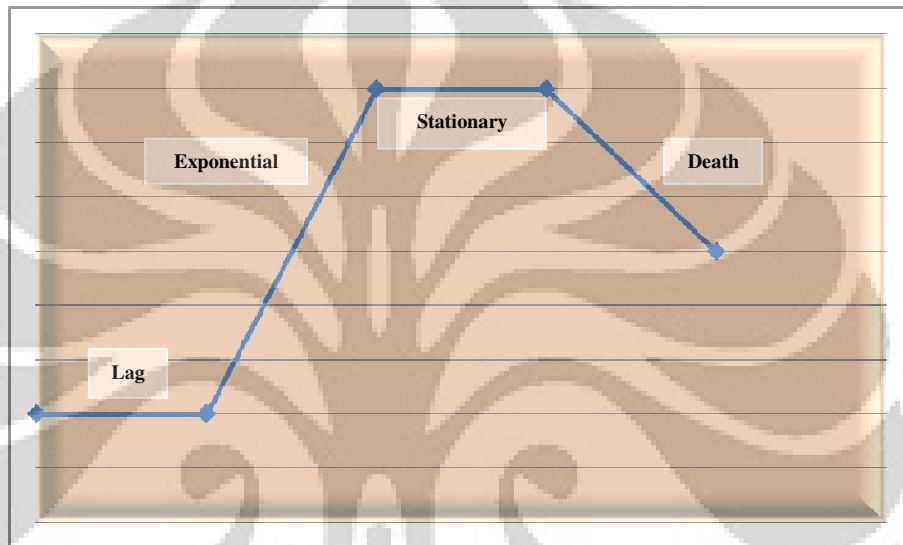
- Sakit kepala, pusing, batuk – batuk.
- Kelesuan, kantuk, muak.
- Kehilangan nafsu makan.
- Kulit yang perih.
- Kekeringan dan perasaan sakit dihidung, tenggorokan, dan dada.

Bahaya utama ialah kematian karena penghirupan gas H₂S pada konsentrasi yang besar, dan waktu yang lama, korban akan mulai mengalami kesulitan pernafasan dan akhirnya kelumpuhan pernafasan bila konsentrasi gas H₂S dalam darah akibat terhirup makin besar. Kematian dapat dicegah atau dihambat bila korban segera dipindahkan ke udara segar dan diberikan nafas buatan. Konsumsi alkohol dalam waktu 24 jam sebelum terjadinya penghirupan gas H₂S akan mempermudah gas H₂S memasuki aliran darah dan menyebabkan kelumpuhan pernafasan pada konsentrasi rendah.



II.2 Pertumbuhan Mikroorganisme

Tipe pertumbuhan bakteri secara eksponensial tidak berlangsung pada periode waktu yang kontinu, namun dipengaruhi oleh lingkungan dan nutrisi yang terkandung. Nutrisi ini sangat mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Kurangnya nutrisi dapat menyebabkan berhentinya pertumbuhan bakteri ataupun matinya bakteri. Pertumbuhan bakteri dapat diperlihatkan oleh Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Kurva pertumbuhan Bakteri. (Knowles, 2004)

Kurva Pertumbuhan ini dapat dibagi menjadi empat fase pertumbuhan, yaitu:

- Fase pertumbuhan lambat (*Lag phase*)
Fase ini sering juga disebut fase adaptasi (aklimatisasi) dimana bakteri beradaptasi dengan lingkungannya. Pada fase ini bakteri melakukan sintesis molekul – molekul yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan pembelahan sel, serta enzim metabolisme yang diperlukan. Selain itu bakteri mengalami pertumbuhan ukuran sel.
- Fase Pertumbuhan Eksponensial (*Exponential- Growth Phase*) atau Logaritmik (*Log-Growth Phase*)

Dalam periode fase ini, sel bakteri mengalami proses pembelahan diri dengan menyerap nutrisi dari lingkungan. Populasi bakteri bertambah



dengan laju pertumbuhan maksimum dan berlipat ganda sebagai fungsi dari waktu generasinya. Dengan bertambahnya jumlah bakteri, maka nutrisi yang tersedia akan semakin menipis dan produk hasil metabolisme menghambat laju pertumbuhan.

- Fase Pertumbuhan Stasioner (*Stationary-Growth Phase*)

Pada fase ini jumlah populasi bakteri masih tetap. Karena pertumbuhan sel – sel baru hampir sama dengan kematian sel – sel lama bakteri. Hal ini disebabkan karena jumlah nutrisi tidak lagi dapat mencukupi untuk pertumbuhan bakteri.

- Fase Kematian (*Death Phase*)

Pada fase ini laju kematian bakteri lebih besar dari pada laju pertumbuhan bakteri. Sehingga jumlah populasi bakteri jauh menurun. Hal ini disebabkan karena Jumlah nutrisi yang tersedia tidak lagi dapat mendukung pertumbuhan bakteri ataupun karena akumulasi produk samping metabolisme yang bersifat toxic. Sehingga bakteri terpaksa melakukan metabolisme terhadap protoplasmanya sendiri tanpa penggantian protoplasma yang baru karena tidak ada lagi nutrisi. Selama fase ini dapat terjadi fenomena lisis yaitu proses difusi nutrisi yang keluar dari sel – sel bakteri yang masih hidup sehingga jumlah kematian bakteri meningkat.

Pertumbuhan mikroorganisme dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan biotik dan abiotik. Pada faktor lingkungan biotik, mikroba dipengaruhi oleh interaksi antar mikroba yang menjadi kompetisi apabila memiliki persamaan nutrisi yang dibutuhkan. Sedangkan untuk lingkungan abiotik oleh beberapa faktor, yaitu kandungan air, suhu, pH, kehadiran material beracun seperti logam, jenis dan jumlah kandungan material organik (seperti hidrokarbon), aseptor electron, dan nutrisi inorganic seperti nitrogen dan fosfor.

Proses biologis biasanya meningkat seiring dengan kenaikan suhu sampai pada batas maksimal suhu dimana enzim menjadi terdenaturasi sehingga sel inhibisi dan mati. Mikroorganisme sebagai kelompok memiliki rentang toleransi suhu, dengan mikroorganisme yang mampu tumbuh pada rentang suhu 0 – 100



°C. Berdasarkan suhu lingkungan mikroorganisme dapat diklasifikasi menjadi tiga kategori (Baker dan Herson, 1994), yaitu:

- Psikrofil (*Psychotrophiles*), untuk golongan organism yang pertumbuhannya memerlukan suhu optimum antara 5 – 15 °C.
- Mesofil (*Mesophiles*), untuk golongan organism yang pertumbuhannya memerlukan suhu optimum antara 25 – 40 °C.
- Termofi (*Thermophiles*), untuk golongan organism yang pertumbuhannya memerlukan suhu optimum antara 40 – 60 °C.

Dengan rentang suhu yang dapat ditoleransi, aktivitas mikroba biasanya bertambah dua atau tiga kali untuk setiap penambahan suhu 10 °C hingga suhu optimal dari mikroorganisme.

Selama pertumbuhan dan reproduksi, mikroorganisme membutuhkan molekul – molekul yang tepat untuk mensintesis sel baru. Kurang lebih 95 % komponen dalam mikroorganisme terdiri dari karbon, oksigen, nitrogen, hidrogen, dan fosfor. Elemen penting yang dibutuhkan untuk mensintesis sel adalah karbon. Secara umum, mikroorganisme dapat menggunakan karbon dioksida sebagai sumber karbon atau karbon organik seperti glukosa, benzene. Mikroorganisme yang menggunakan karbondioksida sebagai sumber karbon disebut autotrof (*autotrophs*) dan yang menggunakan karbon organik sebagai sumber karbon disebut heterotrof (*heterotrophs*). Selain itu mikroorganisme juga membutuhkan sumber energi untuk mensintesis komponen sel baru (Baker dan Herson, 1994).

Organisme yang mendapatkan energi dari reaksi fotosintesis dengan cahaya matahari sebagai sumber energi disebut fototrof (*fotothrophs*). Sedangkan yang mendapatkan energi dari oksidasi baik kimia organik maupun inorganik disebut kemotrof (*chemotrophs*). Dengan mengkombinasikan dua kebutuhan (sumber karbon dan sumber energi), maka dapat diklasifikasikan mikroorganisme menjadi kelompok nutrisi, yang ditunjukkan oleh tabel 2.2.



Tabel 2.2 Klasifikasi nutrisi mikroorganisme. (Baker dan Herson, 1994)

Kelompok	Sumber Karbon	Sumber Energi
foto autotrof	Karbon dioksida	Cahaya
fototrof heterotrof	Karbon organik	Cahaya
kemoautotrof	Karbon dioksida	Kimia Organik (seperti NH ₄)
kemoheterotrof	Karbon organik	Kimia organik

Pada kemoheterotrof mikroorganisme bertanggung jawab untuk mendegradasi kontaminan organik dilingkungan, tetapi tidak semua organisme mampu memetabolisme semua sumber karbon, contohnya adalah bakteri asam laktat yang terbatas pada komponen organik tertentu. Sedangkan golongan *pseudomonas* mampu memetabolisme lebih dari 90 komponen organik sebagai sumber karbon dan energi (Baker dan Herson, 1994).

II.2.1 Metabolisme Mikroorganisme

Seperti halnya jasad hidup lainnya, mikroorganisme memerlukan energi dan bahan-bahan untuk membangun tubuhnya (untuk sintesa protoplasma dan bagian-bagian sel lainnya) yang biasa disebut dengan nutrisi. Untuk dapat menggunakan energi dari bahan-bahan tersebut, sel melakukan kegiatan-kegiatan yang menyebabkan terjadinya perubahan-perubahan kimia di dalam sel. Semua reaksi terarah yang berlangsung di dalam sel mikroorganisme disebut dengan *metabolisme*. Metabolisme tubuh sel mikroorganisme mencakup 2 macam proses (Sanseverino et. al., 1994), yaitu:

1. Katabolisme (disimilasi).

Katabolisme merupakan proses perombakan bahan makanan menjadi unsur-unsur yang lebih sederhana disertai pembebasan energi. Pada proses ini, Mikroorganisme memecah komponen organik untuk karbon dan energi dengan suatu reaksi kompleks oksidasi-reduksi. elektron dihilangkan dan ditambahkan ke intermediat dalam alur proses. Energi yang dilepaskan pada reaksi ini diubah menjadi ikatan fosfat energi tinggi yaitu ATP untuk digunakan untuk bahan bakar



reaksi biosintetik. Proses inti biokimia dari proses katabolisme dibagi menjadi dua kelompok besar, yaitu fermentasi dan respirasi (Baker dan Herson, 1994).

- Fermentasi

Pada kasus ini, donor elektron adalah komponen organik dan terminal akseptor elektronnya juga komponen organik. Pada proses fermentasi tidak menghasilkan oksidasi sempurna yang menghasilkan karbon dioksida. Proses fermentasi merupakan produksi dari campuran produk akhir, beberapa diantaranya lebih teroksidasi dan beberapa lebih tereduksi dari substrat awal. Fermentasi cukup penting dalam industri mikrobiologi, yang digunakan untuk memproduksi asam, tetapi aplikasi dalam bioremediasi tidak terlalu signifikan dalam lingkungan yang terkontaminasi.

- Respirasi

Metabolisme respiratory lebih penting dalam bioremediasi. Respirasi melibatkan oksidasi komponen organik yang disertai oleh terminal reduksi dari komponen inorganik. Ketika oksigen digunakan sebagai terminal akseptor elektron, organisme dapat dikatakan memiliki sifat sebagai respirasi aerobik. Sedangkan akseptor elektron lainnya seperti nitrat, sulfat, atau karbon dioksida digunakan sebagai terminal akseptor elektron, organisme dapat dikatakan memiliki sifat sebagai respirasi anaerobik.

Organisme aerobik yang mampu memiliki dua proses respirasi tersebut akan memilih oksigen sebagai terminal akseptor elektron. Energi yang dihasilkan oleh sel ketika menggunakan oksigen sebagai terminal akseptor elektron lebih besar dibandingkan yang lainnya. Oksigen adalah yang yang paling mudah teroksidasi kemudian diikuti dengan nitrat, sulfat, dan karbon dioksida. Bioremediasi lebih memilih menggunakan respirasi aerobik, karena respirasi aerobik lebih efisien dibandingkan respirasi anaerobik.

2. Anabolisme (asimilasi)

Anabolisme merupakan proses sintesa atau kegiatan sel untuk membentuk unsur-unsur protoplasma dan bagian-bagian sel lainnya.

Terkait dengan kebutuhan akan oksigen, mikroorganisme ada yang dikategorikan sebagai aerob obligat yang membutuhkan oksigen, dan



menggunakan oksigen sebagai terminal akseptor elektron ketika melakukan respirasi, dan anaerob obligat yang tidak dapat tumbuh dengan adanya oksigen. Organisme pada kelompok ini melakukan fermentasi atau respirasi anaerob. Anaerob fakultatif dapat tumbuh dengan atau tanpa kehadiran oksigen. Organisme ini mampu melakukan respirasi aerob, respirasi anaerob, dan fermentasi (Baker dan Herson, 1994).

Pada reaksi metabolisme, diperlukan bantuan katalisator organik (biokatalisator) yang disebut *enzim*. Enzim adalah katalisator organik yang dihasilkan oleh sel mikroorganisme dimana fungsinya untuk mempercepat reaksi kimia yang terjadi tetapi enzimnya itu sendiri tidak mengalami perubahan dan jumlahnya sebelum dan sesudah reaksi terjadi adalah tetap. Jumlah enzim di dalam sel mikroorganisme adalah sangat sedikit tetapi daya kerjanya sangat besar dalam melakukan perubahan-perubahan kimia (*transformasi*) yang diperlukan sel (Sanseverino et. al, 1994). Berdasarkan tempat bekerjanya, maka enzim dapat dibedakan

menjadi 2 kelompok (Sanseverino et. al., 1994), yaitu:

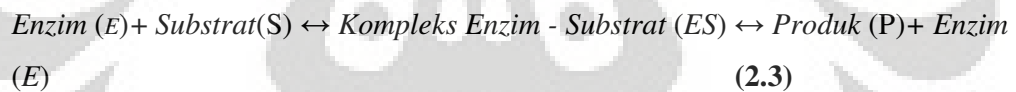
- *Eksoenzim* disebut juga enzim *ekstraselular* dimana enzim yang dihasilkan di dalam sel mikroorganisme tetapi bekerjanya di luar sel, digunakan untuk mencernakan substrat secara hidrolisa dan dibebaskan energi. Energi yang dibebaskan tersebut tidak digunakan dalam proses kehidupan.
- *Endoenzim* disebut juga enzim *intraselular* dimana enzim bekerja di dalam sel, digunakan untuk proses-proses sintesa di dalam sel dan dalam proses penghasilan energi. Energi yang dihasilkan tersebut digunakan untuk proses kehidupan.

Apabila suatu enzim dianalisis, maka enzim tersebut dapat dipisahkan menjadi dua bagian yaitu bagian *koenzim* dan bagian *apoenzim*. Koenzim merupakan zat bersifat non protein, non koloid dan thermostabil yang dapat melewati membran semipermeabel atau membran selektif (dapat terdialisis) sedangkan apoenzim berupa koloid-koloid protein dan thermolabil yang tidak dapat melewati membran tersebut (tak terdialisis). Jika masing-masing enzim tersebut berdiri sendiri maka enzim tersebut tidak aktif dan baru bersifat aktif bila keduanya bergabung menjadi satu (Sanseverino et. al., 1994).



Menurut Kadarwati dkk dalam Risma (2005), Proses enzimatik diperlukan untuk membantu mikroorganisme di dalam melakukan transformasi substrat bagi keperluan kelangsungan kehidupannya. Yang dimaksud dengan transformasi adalah perubahan senyawa-senyawa di lingkungan situs hidrokarbon menjadi senyawa-senyawa lain dengan bantuan aktivitas metabolisme mikroorganisme (Sanseverino et. al., 1994). Telah diketahui bahwa di lingkungan situs hidrokarbon ditemukan mikroorganisme yang dapat hidup, tumbuh dan berkembang biak dengan memanfaatkan substrat dalam situs hidrokarbon tersebut sebagai sumber energi bagi pertumbuhannya dan untuk pembentukan sel. Dengan demikian, apabila populasi mikroorganisme bertambah banyak maka transformasi substrat tersebut menjadi senyawa lain yang lebih sederhana akan dipercepat.

Mikroorganisme mempunyai enzim-enzim dan enzim tersebut (E) kemudian bergabung dengan substrat (S) membentuk senyawa kompleks enzim-substrat (ES), kemudian terurai menjadi produk (P). Enzim tidak terkonsumsi di dalam reaksi tersebut tetapi dilepaskan kembali untuk keperluan reaksi berikutnya dengan molekul substrat yang lain. Proses tersebut berlangsung secara berulang-ulang sampai semua molekul substrat yang tersedia terpakai. Reaksi enzim tersebut dapat diilustrasikan sebagai berikut:



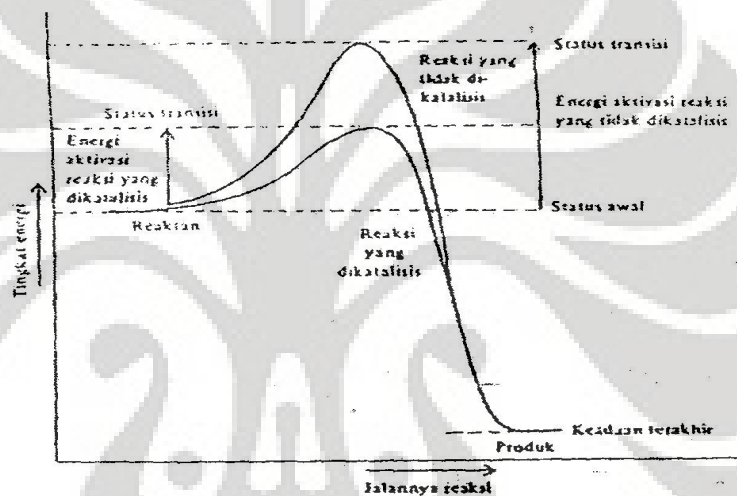
Mekanisme kerja enzim adalah menaikkan kecepatan reaksi dengan cara menurunkan energi aktivasi yang diperlukan pada suatu reaksi kimiawi. Yang menjadi pokok dalam teori mengenai mekanisme kerja enzim adalah konsep aktivasi substrat yang terjadi setelah pembentukan kompleks enzim-substrat (ES). Aktivasi memungkinkan substrat diubah oleh kerja enzim. Terjadinya aktivasi molekul substrat yang tinggi terhadap daerah-daerah tertentu pada permukaan enzim yang disebut dengan tapak aktif (*active site*) (Sanseverino et. al., 1994).

Ketegangan atau distorsi yang dihasilkan pada beberapa ikatan molekul substrat membuatnya labil dan karenanya mengalami perubahan sebagaimana ditentukan oleh enzim yang bersangkutan. Molekul-molekul yang telah mengalami perubahan itu tidak lagi mempunyai afinitas terhadap tapak-tapak aktif



enzim tersebut dan kemudian dilepaskan kembali. Enzim kembali menjadi bebas untuk bergabung dengan substrat berikutnya.

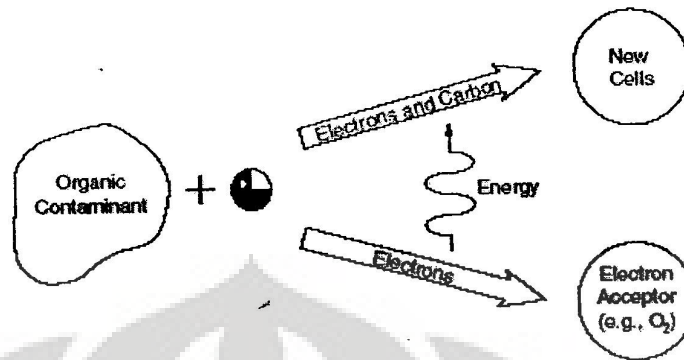
Fungsi utama suatu enzim adalah mengurangi hambatan energi aktivasi pada suatu reaksi kimiawi. Energi aktivasi adalah jumlah energi yang dibutuhkan untuk membawa suatu substrat ke status reaktifnya. Enzim bergabung dengan substrat membentuk suatu transisi yang membutuhkan energi aktivasi lebih kecil untuk berlangsungnya reaksi kimiawi tersebut, seperti yang dijelaskan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Kurva energi aktivasi dengan reaksi enzim (Sanseverino et. al., 1994)

Karena enzim merupakan protein dan dihasilkan oleh sel mikroorganisme, maka semua faktor yang dapat mempengaruhi protein dan sel juga akan mempengaruhi kegiatan enzim. Faktor-faktor penting tersebut adalah kadar enzim dan substrat, suhu, pH, penghambat kerja (*inhibitor*) dan penggiat kerja (*aktivator*).

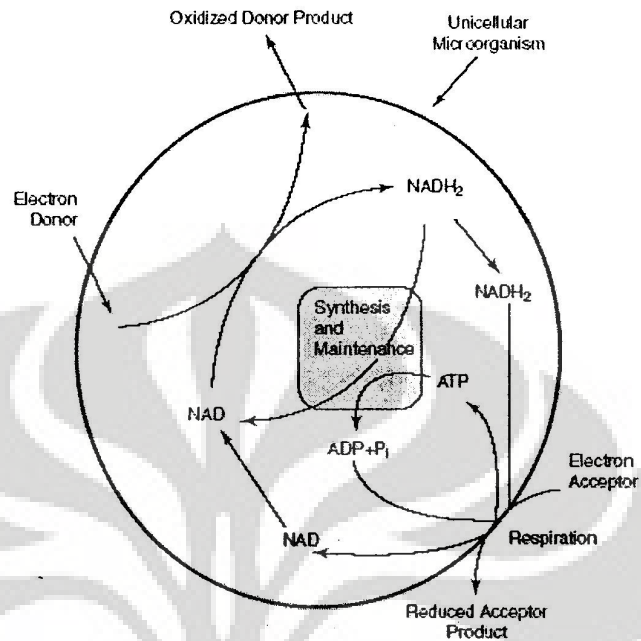
Mikroorganisme menggunakan enzim untuk melakukan reaksi biokimia, Reaksi yang paling penting adalah reaksi oksidasi dan reduksi atau reaksi redoks. Reaksi tersebut melibatkan transfer elektron dari satu molekul ke molekul lainnya, yang menyebabkan kemampuan mikroorganisme untuk mengumpulkan energi dan tumbuh, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.3



Gambar 2.3 Deskripsi mikroorganisme menggunakan energi dan substrat untuk tumbuh (Suthersan, 2001)

Mikroorganisme dihasilkan oleh reaksi kimia yang menghasilkan set baru yang terdiri atas protein, *Deoxyribosenucleic* (DNA), dan dinding sel. Reaksi kimia dibuat oleh enzim (molekul protein) yang menyebabkan bereaksi secara cepat. Reaksi dihasilkan untuk membentuk *Adenocyn triphosphat* (ATP), yang dapat disebut sebagai bahan bakar. Seperti organisme lainnya, mikroorganisme menghasilkan ATP dengan katalisasi reaksi redoks, yaitu transfer elektron dari elektron yang kaya akan zat kimia ke elektron yang miskin akan zat kimia. Untuk elektron yang kaya disebut sebagai donor elektron. Analogi pada manusia adalah pada metabolismenya melibatkan transfer elektron dari zat kimia yang berasal dari makanan (substrat donor) ke oksigen (substrat akseptor) yang dihirup dari udara.

Ketika sel memindahkan elektron dari substrat donor, sel-sel tersebut tidak memindahkan secara langsung ke substrat akseptor, melainkan dipindahkan ke elektron internal seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.4. walaupun elektron dapat digunakan untuk berbagai kebutuhan, tetapi kebutuhan utamanya adalah membentuk ATP, melalui proses respirasi. Pada respirasi, elektron dilewatkan sampai mencapai elektron substrat akseptor, karena molekul ini adalah penerima elektron terakhir, maka disebut sebagai terminal akseptor elektron (Suthersan, 2001).



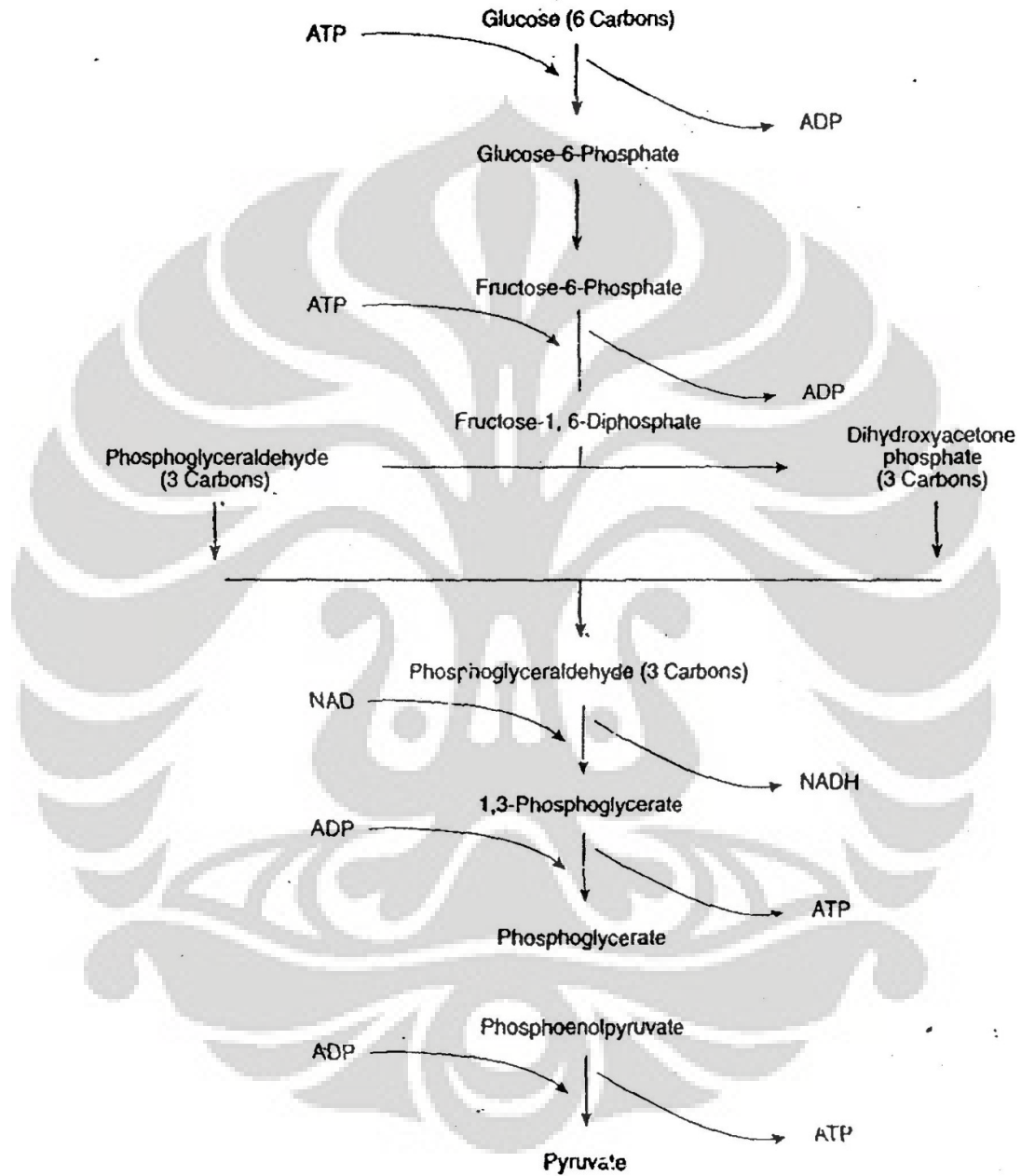
Gambar 2.4 konseptual diagram dari aktivitas mikroorganismenya untuk memperoleh energi dan multiplikasi (Suthersan, 2001)

Energi dalam bentuk ATP dibentuk dari hasil oksidasi-reduksi reaksi katabolisme digunakan oleh sel untuk reaksi biosintetik. Pada reaksi ini terdapat molekul-molekul utama yang disintesis, yaitu protein, lemak, karbohidrat, dan asam nukleat. Sebagai elemen tambahan dalam karbon, juga diperlukan nitrogen dan fosfor sebagai makronutrien untuk membentuk beberapa molekul.

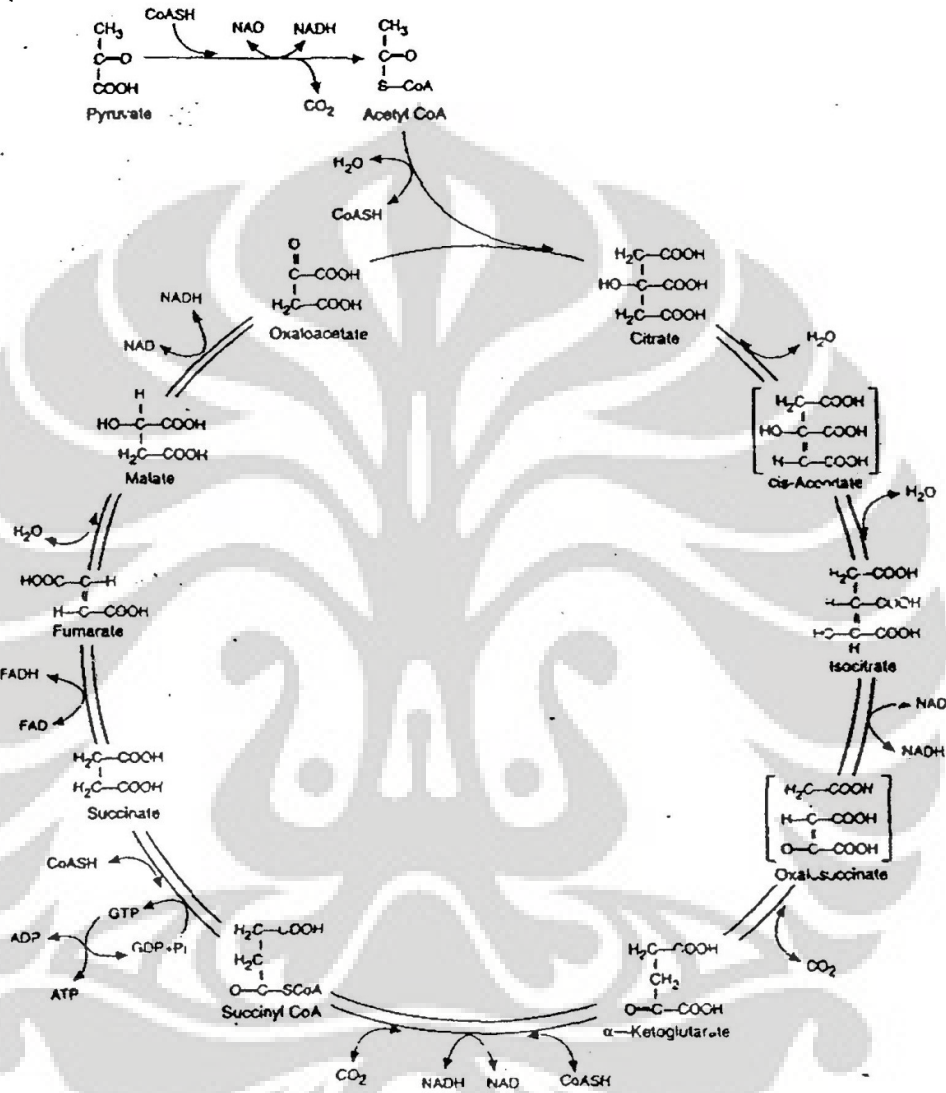
Nitrogen diperlukan untuk sintesis protein dan asam nukleat. Protein memberikan fungsi struktur dan enzim (katalitik) pada sel mikroorganismenya. Fungsi asam nukleat (DNA dan RNA) sebagai informasi genetik sel.

II.2.2 Jalur Metabolisme Mikroorganismenya untuk Degradasi

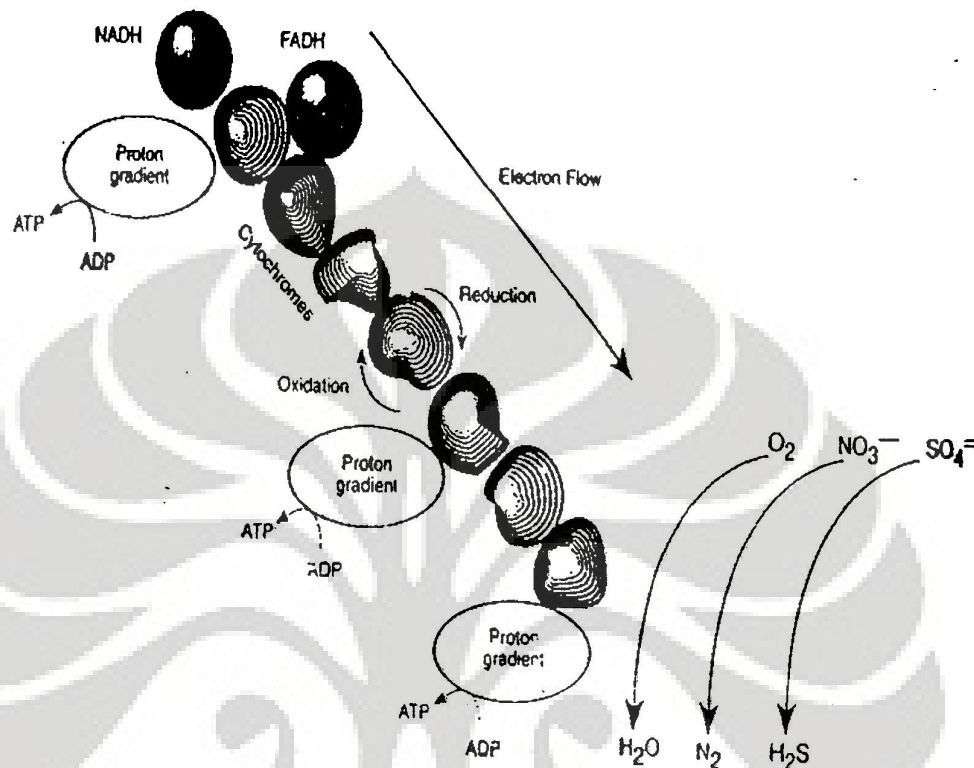
Telah disebutkan di atas bahwa mikroorganismenya memecah komponen organik melalui suatu reaksi kimia yang dinamakan katabolisme. Untuk respiratori mikroorganismenya, jalur pusat yang dilibatkan adalah glikolisis (Gambar 2.5), siklus kreb (Gambar 2.6), dan sistem transport elektron (Gambar 2.7).



Gambar 2.5 Glikolisis (Baker dan Herson, 1994)



Gambar 2.6 Siklus Krebs (Baker dan Herson, 1994)



Gambar 2.7 Sistem Transport Elektron (Baker dan Herson, 1994)

Hubungan keseluruhan dari tiga jalur tersebut ditunjukkan pada pada Gambar 2.8. Reaksi umum secara keseluruhan (Baker dan Herson, 1994) adalah

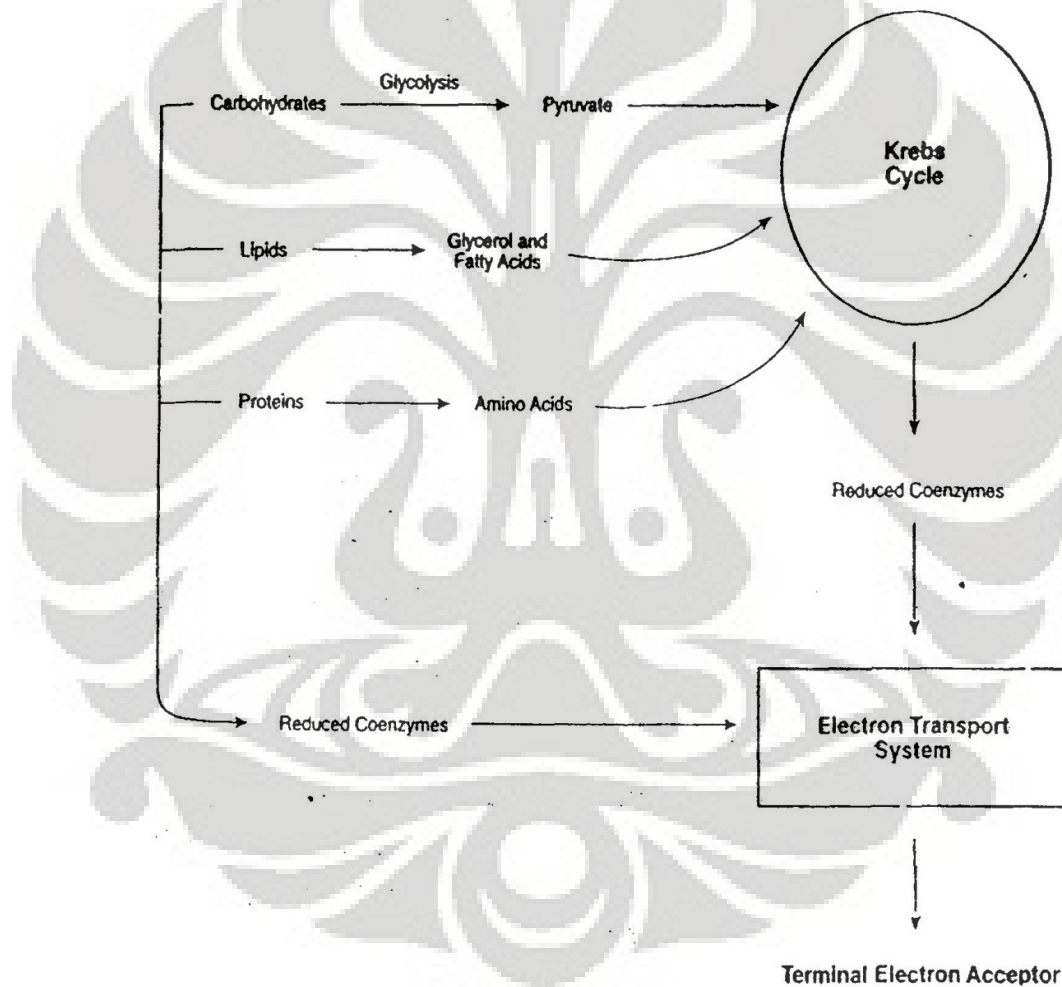


Persamaan ini mewakili konversi reaksi yang kompleks, yang disebut substrat, menjadi karbon dioksida dan air. Proses ini disebut mineralisasi. Energi yang didapat dalam bentuk ATP digunakan untuk berbagai kegiatan sel, termasuk mensintesis komponen sel baru.

Degradasi komponen organik kompleks tidak selalu menghasilkan proses mineralisasi. Degradasi yang tidak lengkap, yang disebut transformasi dari suatu komponen terjadi sebagai akibat dari aktivitas mikroba. Salah satu kasus dimana aktivitas mikroba dapat mengubah komponen asal menjadi suatu komponen yang



memiliki pengaruh lingkungan yang lebih buruk dari komponen asal. Contohnya adalah transformasi anaerobik dari *trichloroethylene* (TCE) yang mampu menghasilkan akumulasi *vinyl chloride* yang bersifat karsinogen dalam lingkungan. Selain itu mikroorganisme kemungkinan dapat menghasilkan substansi *surface-active*, yang disebut sebagai *bioemulsifier* atau *surfactants*, yang tidak mendegradasi kontaminan tetapi kemungkinan mampu meningkatkan mobilitas atau *bioavailability*.



Gambar 2.8 Keseluruhan jalur metabolik (Baker dan Herson, 1994)

Dari bukti terakhir telah dapat ditunjukkan bahwa reaksi *cometabolic* sangat penting dalam mendegradasi. *Cometabolism* atau *co-oxidation* adalah suatu



reaksi enzimatik yang terjadi berupa oksidasi, hidrolisis, reduksi dehalogenasi, dan reduksi gugus nitro, dimana galur mikroba tidak dapat memanfaatkan sumber kontaminan sebagai substrat, tetapi kontaminan dapat terdegradasi (Citroreksoko, 1996).

II.3 Bakteri Pengoksidasi Sulfur

Beberapa jenis bakteri dapat mengoksidasi senyawa sulfur untuk menghasilkan energi bagi metabolime dan pertumbuhannya. Kelompok bakteri ini disebut bakteri sulfur (*sulfur bacteria*). Bakteri sulfur dapat menyimpan dan atau mempergunakan sulfur elemental atau komponen organik sulfur untuk metabolisme selnya.

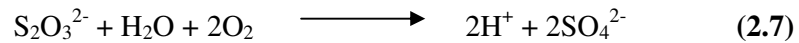
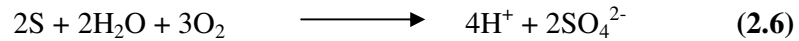
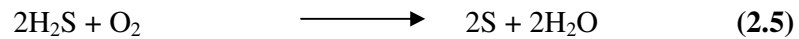
Bakteri meningkatkan jumlahnya dengan cara membelah diri (binary fission). Pada proses ini, satu sel bakteri dapat membelah diri menjadi dua sel. Kedua sel ini kemudian membelah diri lagi menjadi empat dan seterusnya. Waktu yang dibutuhkan untuk membelah diri disebut waktu generasi (*Generation time*). Oleh karena pertumbuhan bakteri yang sangat cepat, secara matematis pertumbuhan populasi bakteri pada kondisi yang tidak membatasi dapat dimodelkan dengan fungsi eksponensial.

Bakteri pengoksidasi sulfur dapat ditemukan hampir disemua lingkungan di bumi, seperti di tanah, air tawar, air laut, air payau, sumber air panas, daerah geothermal, sumur minyak dan gas bumi, cadangan sulfur, endapan lumpur, selokan, besi karat, rumina kambing dan usus serangga (Postage, 1984 dalam Denny, 2004). Bakteri pereduksi sulfur dapat beradaptasi dalam kisaran suhu – 5 °C sampai 75 °C, dapat tumbuh dalam air pada tekanan 1×10^5 kPa, dan mampu bertahan pada pH sedikit dibawah 5 sampai 9,5 serta mampu beradaptasi pada kondisi osmotik dengan kisaran yang luas.

Menurut Edmons (1978) dalam Saputra (2006), ada dua kelompok bakteri fotosintetik yang melibatkan transfer senyawa sulfur: bakteri sulfur hijau (*Chlorobiocae*) dan bakteri sulfur ungu (*Chromatiaceae*). Kedua bakteri sulfur ini mendapatkan energi untuk proses metabolisme melalui oksidasi H₂S. bakteri – bakteri ini menggunakan CO₂ sebagai sumber karbon. Bakteri – bakteri



ini sangat anaerobik. Sedangkan bakteri belerang tidak berwarna aerobik dapat menggunakan oksigen molekuler untuk mengoksidasi H₂S, yaitu:



H₂S di atmosfer secara cepat dapat diubah menjadi SO₂ melalui reaksi:



Telah banyak penelitian mengenai sifat fisiologis dan enzimatis dari spesies pengoksidasi senyawa sulfur. Dari hasil beberapa penelitian tentang bakteri pengoksidasi sulfur menunjukkan bahwa jenis *Thiobacillus* merupakan spesies kemotropik terbaik. *Thiobacillus thiooxidans* dan *Thiobacillus ferrooxidans*., kedua bakteri ini mengoksidasi H₂S dan membentuk sulfur elemen yang disimpan dalam selnya. Keduanya mengoksidasi bahan anorganik seperti hidrogen sulfida. Sulfur elemen dan besi mengubahnya menjadi asam sulfat. Mereka dapat hidup pada keadaan yang sangat asam dengan nilai pH 2 (Edmons, 1987 dalam Saputra, 2006). Sedangkan menurut Peck (1959) dalam Saputra (2006), bahwa hidrogen sulfida dioksidasi menjadi sulfur elemen dengan ekstrak dari *T. thiooxidans* dan *T. thioparus* dan oleh Peck (1960) dalam Saputra (2006), bahwa ekstrak dari *T. thiooxidans* telah menunjukkan adanya beberapa aktivitas enzimatis yang mungkin berkaitan dengan oksidasi penguraian senyawa sulfur. Pada tabel 2.3 dapat dilihat beberapa jenis bakteri pengoksidasi sulfur.



Tabel 2.3 Beberapa bakteri pengoksidasi sulfur (Lens dan Pol, 2000)

Jenis bakteri	Senyawa yang dioksidasi				Produk
	HS ⁻	S ₂ O ₃ ²⁻	S ₄ O ₆ ⁴⁻	S ⁰	
EUBACTERIA					
<i>Hydrogenobacteria</i>	-	+	-/+	+	SO ₄ ²⁻
Clorobioceae	+	+	-	+	SO ₄ ²⁻
Cloroflaxaceae	+	-	-	-	
α- Proteobacteria					
<i>Paracoccus versutus</i>	+	+	-	+	SO ₄ ²⁻
<i>Acidiphilium acidophilum</i>	+	-	+	+	SO ₄ ²⁻
β- Proteobacteria					
<i>Thiobacillus thioparus</i>	+	+	+	+	SO ₄ ²⁻ , S ⁰
<i>Thiobacillus denitrificans</i>	+	+	+	+	SO ₄ ²⁻
<i>Thiomonas thermosulfatus</i>	-/+	+	+	+	SO ₄ ²⁻
<i>Thiomonas intermedius</i>	+	+	+	+	SO ₄ ²⁻
γ- Proteobacteria					
Chromatiaceae	+	+	-	+	SO ₄ ²⁻
Beggiatoa	+	+	-/+	-/+	SO ₄ ²⁻
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	+	+	+	+	SO ₄ ²⁻
<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	+	+	+	+	SO ₄ ²⁻
ε- Proteobacteria					
<i>Thiovalum</i>	+	-/+	-/+	-/+	SO ₄ ²⁻
<i>Thiomicrospira denitrificans</i>	+	+	+	+	SO ₄ ²⁻
Cynobacteria					
<i>Oscillatoria</i>	+	-	-	-	SO ₄ ²⁻
Bakteri gram positif					
<i>Sulfobacillus</i>	-/+	-/+	-/+	+	SO ₄ ²⁻
ARCHAEBACTERIA					
Crenachaeota					
<i>Acidianus</i> dan <i>Sulfolobus</i>	+	-/+	+	+	SO ₄ ²⁻

sumber: Lens dan Pol (2000)

Keterangan: (+): Terjadi proses oksidasi

(-): Tidak terjadi proses oksidasi



Menurut Schlegel dan Schmidt (1994) hidrogen sulfida oleh beberapa bakteri lebayug bebas dan oleh bakteri hijau dioksidasi menjadi sulfat. Pada proses ini belerang intermediasi oleh sebagian bakteri lebayung belerang ditimbun sementara waktu dalam sel.

Thiobacillus merupakan sekelompok kecil organisme yang metabolisme energinya diubah untuk menghasilkan seluruh energi untuk pertumbuhan. Energi berasal dari oksidasi senyawa sulfur anorganik menjadi sulfat, dan memanfaatkan karbon dioksida sebagai untuk mensintesis material sel. Sebagian besar *Thiobacilli* (*T. thiooxidans*, *T. thioparus*, *T. denitrificans*) bersifat *khemolitroototrof* dan memerlukan fiksasi CO₂ (Schlegel dan Schmidt, 1994).

II.4 *Thiobacillus* sp.

Ada beberapa jenis bakteri yang dapat mengoksidasi senyawa sulfur untuk menghasilkan energi. Kelompok bakteri yang dapat mengolah sulfur menjadi bakteri adalah sulfur bacteria. Bakteri sulfur dapat menyimpan dan atau mempergunakan sulfur elemental atau komponen organik untuk metabolisme selnya. Pada reaksi aerobik, mikroorganisme menghasilkan sulfur dari sulfur anorganik, sedangkan dalam keadaan anaerobik akan dihasilkan H₂S dan merkaptan (Atlas dan Bartha, 1981).



Gambar 2.9 Bentuk kultur dari *Thiobacillus thioparus* dalam media Nutrient Agar

Salah satu bakteri pendegradasi sulfur yang paling penting adalah *Thiobacillus*. Semua jenis *Thiobacillus* merupakan bakteri gram negatif yang

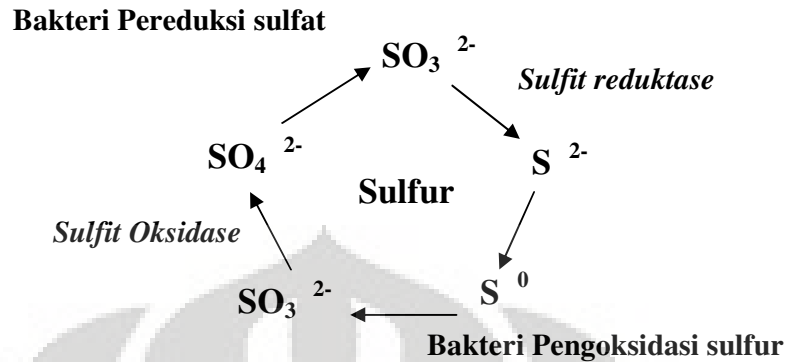


memperoleh energi dari oksidasi senyawa sulfur. *Thiobacillus* sp. termasuk dalam famili *thiobacteriaceae*, sub ordo *psedomonadiaeae*, dan ordo *psedomonadales*. Sel *Thiobacillus* sp. kecil dan berbentuk batang dan diantaranya memiliki flagella polar.

Bakteri *Thiobacillus* tumbuh secara aerob obligat, yang membutuhkan oksigen untuk kelangsungan hidupnya. Jenis bakteri *Thiobacillus* sp. antara adalah *T. thioparus*, *T. denitrification*, *T. neapolitanus*, *T. thiooxidans*, *T. ferrooxidans*, *T. novellas* dan *T. intermedius* (Madigan dan Parker, 2002)

Menurut Holt *et al.* (1994), berdasarkan kemampuan tumbuh pada tingkat keasaman tertentu, mikroorganisme terbagi tiga yaitu *neutrofilik* (pH 6 - 8), *acidofilik* yang tumbuh pada pH dibawah 4,5 dan *alkalofilik* yang tumbuh pada pH diatas 9. *Thiobacillus* sp. dapat tumbuh pada media pH beragam mulai dari 1,0 - 10,5. Bakteri *T. thioparus* tumbuh pada media cair dapat mencapai pH akhir 3,5 - 4,5. *T. thiooxidans* dan *T. ferrooxidans* dapat tumbuh pada pH dibawah 3. *Thiobacillus* sp. adalah mikroorganisme mesofilik yang tumbuh pada kisaran suhu 20 - 40 °C.

Senyawa sulfur yang paling umum digunakan oleh *Thiobacillus* sp. dalam metabolisme adalah H_2S , S^0 , $S_2O_3^{2-}$ dan SO_3^{2-} , dengan hasil akhir berupa sulfat (SO_4^{2-}). Sulfit merupakan produk antara pada sebagian besar jalur reduksi-oksidasi senyawa sulfur oleh mikroorganisme. Banyak bakteri yang tumbuh dengan mengoksidasi sulfit. Ada dua jalur dimana sulfit (SO_3^{2-}) dapat dioksidasi menjadi sulfat (SO_4^{2-}). Cara paling umum adalah dengan bantuan enzim *sulfite oxidase*. Enzim ini mentransfer elektron dari *sulfur kemolitotrofik* dalam mengoksidasi sulfit menjadi sulfat, yaitu dengan pembalikan dari aktivitas enzim *adenosine phosphosulfate* (APS) reductase. Reaksi yang terjadi di jalur pembentukan sulfat (SO_4^{2-}). Ini menghasilkan suatu ikatan fosfat yang mempunyai energi besar, saat AMP dikonversi menjadi ADP (Madigan dan Parker, 2002).



Gambar 2.10 Jalur reduksi – oksidasi sulfur oleh bakteri (<http://soil.cses.vt.edu>)

Untuk pertumbuhan bakteri *Thiobacillus*, media yang baik adalah media yang mengandung bahan – bahan seperti: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sebagai sumber nitrogen, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebagai sumber magnesium, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dan CaCl_2 sebagai sumber besi dan kalsium, serta KH_2PO_4 yang berfungsi sebagai *buffer* yang dapat mempertahankan nilai pH dan sumber fosfor yang dibutuhkan oleh sel.

II.5 Biofilter

Biofilter telah banyak digunakan dinegara – negara Eropa, Amerika dan Jepang, karena efektif untuk mengolah emisi gas buang dari berbagai industri dengan volume gas yang besar namun mempunyai konsentrasi polutan yang rendah. Selain itu bila dibandingkan dengan metode fisika-kimia, metode biofilter mempunyai keuntungan lain yaitu biaya inestasi yang lebih rendah, stabil dalam jangka waktu yang relatif lama, dan memiliki degradasi gas polutan yang tinggi.

Prinsip kerja dari metode biofilter ini adalah menyaring gas – gas yang dialirkan ke kolom yang telah berisi substat didalamnya. Fungsi substat itu sendiri sebagai tempat hidup bagi kultur mikroorganime yang digunakan. Suatu biofilter yang baik mengandung bahan penyaring berupa kompos, zeolit, sekam padi, karbon (arang) aktif dan sebagainya, dimana mikroorganime terjerat (immobilisasi) secara alami didalamnya dengan membentuk lapisan tipis (*biofilm* atau *biolayer*). Gas – gas dilewatkan melalui biofilter, target komponen gas akan larut atau diserap kedalam lapisan biolayer ini, selanjutnya dioksidasi dan



diuraikan mikroorganisme (Ottengraf, 1987; Shoda, 1991). Pada umumnya, bahan pengisi alami mengandung sejumlah nutrisi dan mineral yang mencukupi untuk pertumbuhan mikroorganisme, sehingga penambahan nutrisi dan mineral tidak dibutuhkan lagi. Namun demikian pemanfaatan biofilter dalam jangka waktu yang relatif lama (lebih dari tiga bulan) perlu ditambahkan sejumlah nutrisi tertentu, untuk mempertahankan kelangsungan hidup mikroorganisme tersebut.

Menurut Hirai *et al* (2001), dalam metode biofilter pemilihan bahan pengisi sebagai media tempat tumbuh bakteri merupakan hal yang sangat penting untuk mendukung kehidupan bakteri yang digunakan. Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam menentukan bahan substrat biofilter adalah sebagai berikut (Anit dan Artur, 2004) :

1. Kemampuan menyerap air untuk menjaga kelembaban lapisan biofilm.
2. Porositas dan luas permukaan yang lebar, baik untuk absorsi kontaminan maupun untuk pertumbuhan mikroba.
3. Kemampuan untuk menyerap nutrisi dan menyuplainya ketika dibutuhkan oleh mikroorganisme.
4. Kemampuan menahan aliran udara (penurunan tekanan udara dan kekuatan angin yang dikeluarkan blower).
5. Perubahan bentuk yang sedikit setelah digunakan untuk waktu tertentu.
6. Materi yang digunakan relatif murah.
7. Karakteristik fisik, seperti kestabilan fisik dan kemudahan dipegang.

Metode degradasi polutan gas secara biologis menjadi semakin populer karena memiliki beberapa keuntungan terutama biaya investasi dan pemeliharaan yang relatif murah, operasi stabil dalam jangka waktu yang lama, dan tidak menimbulkan polusi baru. Kinerja biofilter menurut Ottegraf (1987) dapat dinilai berdasarkan beberapa hal berikut:

1. Laju atau kapasitas penghilangan maksimum.
2. Kecepatan tercapainya kondisi aklimatisasi mikroba. Parameter ini akan menunjukkan kinerja dari bioavailabilitas konsorsium mikroba yang dikembangkan untuk pendegradasian polutan target. Semakin cepat masa adaptasi (*log phase*), maka kinerja biofilter akan semakin baik.



3. Kemampuan mempertahankan rasio penghilangan gas (efisiensi) dalam waktu yang relatif lama. Rasio penghilangan polutan gas dari biofilter umumnya diatas 95% dalam waktu yang relatif lama (tahunan).
4. Kemampuan bahan substrat tumbuh bakteri dalam mempertahankan kondisi pH, suhu dan kadar air. Kemampuan ini menggambarkan kinerja biofilter terhadap fluktuasi beban polutan gas yang tinggi, kurangnya humidifikasi dan masa tidak terpakainya biofilter akibat fluktuasi proses produksi pada industri.

Biodegradasi dari mikroorganisme sangat dipengaruhi oleh kadar air substrat. Kadar air media (substrat) juga berpengaruh terhadap waktu pemakaian dari sistem biofilter. Selama proses biodegradasi, kadar air media akan berkurang dikarenakan terjadinya reaksi eksoterm pada oksidasi H_2S dan NH_3 oleh mikroorganisme.

Menurut McNevin dan Barford (2000), kadar air optimal dalam substrat biofilter saat pengoperasian adalah 20% - 60%. Aktifitas biologis akan berhenti bila kadar air lebih rendah dari 20%. Sebaliknya, kadar air yang terlalu tinggi $\geq 85\%$ akan mengakibatkan terbentuknya zona anaerobic, dimana zona ini mengakibatkan oksigen yang dibutuhkan untuk biooksidasi menjadi turun.

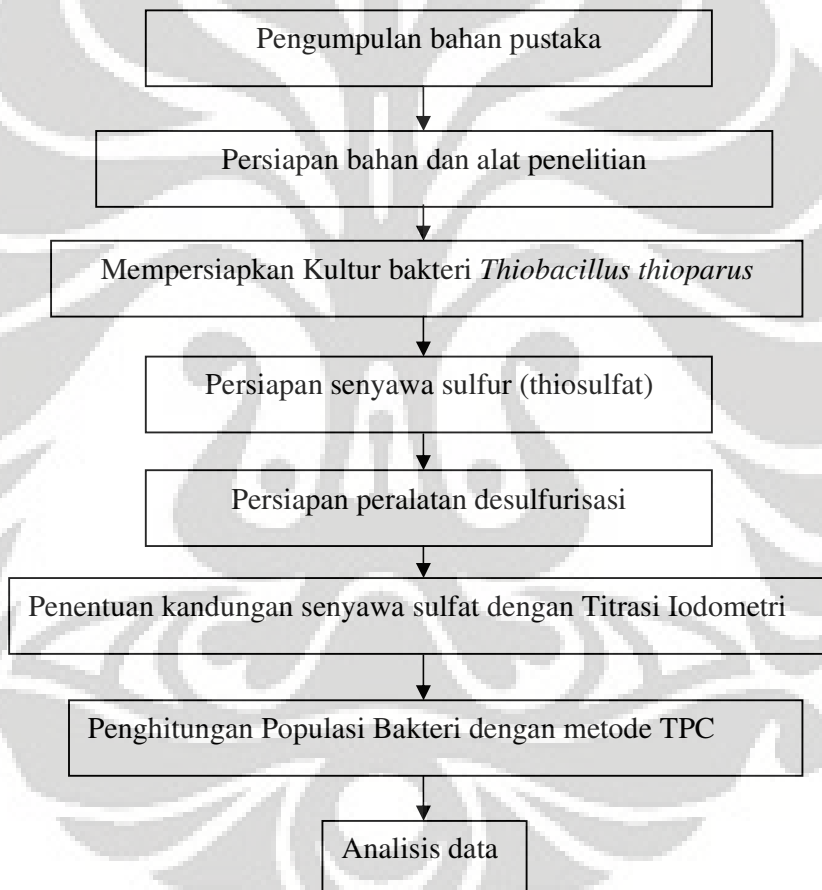


BAB III

METODE PENELITIAN

Pada bab tiga ini meliputi alur penelitian, alat dan bahan, prosedur percobaan, Pelaksanaan pengujian, variabel penelitian data pengamatan dan pengolahan data.

III.1 Diagram Alir



Gambar 3.1 Diagram Alir



III.2 Alat dan Bahan

III.2.1 Alat

Dalam penelitian ini dibutuhkan beberapa peralatan yang akan digunakan untuk menguji pendegradasian sulfur. Peralatan – peralatan tersebut merupakan sarana untuk menumbuhkan dan memelihara kultur mikroba, serta pengujian dan analisis. Secara umum peralatan yang digunakan antara lain:

1. Lemari kaca atau transfer box dengan dilengkapi lampu *ultraviolet* (UV) sebagai tempat kerja dan sekaligus tempat penyimpanan alat yang telah disterilkan.
2. Alat pengocok (*shaker*), untuk menghomogenkan larutan.
3. Peralatan glassware (erlemeyer 250 dan 500 ml, Beaker glass, tabung reaksi, gelas ukur, spatula dan tabung reaksi) sebagai wadah kultur mikroba.
4. Autoclave dan oven kering, Untuk sterilisasi bahan / medium dengan suhu minimum 121°C.
5. Perangkat titrimetri, untuk titrasi Iodometri.
6. *Hotplate*, sebagai alat untuk memanaskan dan sekaligus mengaduk bahan
7. Tabung gelas (*scrubber*), sebagai sarana untuk analisis kandungan sulfur selama dalam pengujian menggunakan penangkap sulfur
8. Pipet 1 dan 10 ml.
9. Bunsen dan spirtus, untuk mengoptimumkan tingkat kesterilan bahan dan alat.
10. Aluminium foil, kapas dan *plastic wrap*.
11. Labu ukur, sebagai wadah pengenceran
12. Cawan petri, batang triglaski, meja putar, penghitung koloni (*Coloni Counter*) dan spatula untuk melakukan analisis *Total Plate Count*.
13. Lemari *incubator* sebagai tempat inkubasi.



III.2.2 Bahan

Beberapa bahan yang umumnya digunakan dalam penelitian ini, antara lain :

1. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur tunggal *Thiobacillus thioparus*, yang diperoleh dari koleksi bakteri yang dimiliki oleh kelompok Bioteknologi + Lemigas (*Biotechnology Lemigas Culture Collection*).
2. *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), *Plate Count Agar* (PCA), sebagai media agar Total Plate Count.
3. Larutan thiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) dengan konsentrasi 200, 400 dan 600 ppm, sebagai senyawa sulfur yang digunakan dalam penelitian.
4. Medium adaptasi, yang terdiri dari:
 - 1,2 gram KH_2PO_4
 - 1,2 gram K_2HPO_4
 - 0,4 gram NH_4Cl
 - 0,22 gram $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
 - 1 liter air aqudest
5. Iodine dan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,052 N, digunakan dalam titrasi
6. Air RO (*Reverse Osmosis*).

III.3 Variabel Penelitian

Variable yang dapat ditentukan dalam penelitian ini adalah :

- Variabel bebas = Konsentrasi thiosulfat awal, jumlah awal bakteri *Thiobacillus thioparus* (cfu/mL awal).
- Variabel terikat = Konsentrasi akhir thiosulfat, jumlah akhir bakteri *Thiobacillus thioparus* (cfu/mL akhir).
- Variabel tetap = Temperatur ruangan (suhu ruang) dan komposisi medium adaptasi



III.4 Prosedur Percobaan

III.4.1 Persiapan Kultur Bakteri

Dalam kegiatan ini perlu disiapkan kultur bakteri yang berpotensi mereduksi kandungan sulfur. Dalam hal ini disiapkan bakteri kultur tunggal *Thiobacillus thioeparus* dan sludge sebagai sumber kultur bakteri campuran. Kultur bakteri tunggal *Thiobacillus thioeparus* diperoleh dari koleksi bakteri yang dimiliki oleh kelompok bioteknologi – Lemigas (*Biotechnology Lemigas Culture Collection*). Kultur bakteri sebelum digunakan akan ditumbuhkan dan diaktifkan terlebih dahulu dalam media kultivasi yaitu media untuk merangsang pertumbuhan optimum bakteri sulfur.

Pengaktifan bakteri dilakukan dengan cara dikocok (*shaker*) selama 48 jam dengan kecepatan 90 rpm. Medium tersebut menjadi medium dasar untuk pengujian desulfurisasi dengan variasi beberapa perlakuan

III.4.2 Tahap penanaman bakteri *Thiobacillus thioeparus* dalam media miring / *Nutrient Agar* (NA)

Pembuatan media agar miring (*Nutrient Agar* (NA)) yang bertujuan untuk mengetahui kultur dari *Thiobacillus thioeparus* yang akan digunakan, adapun langkah – langkahnya sebagai berikut:

1. Alat dan bahan yang akan digunakan
 - *Nutrient Agar* (NA)
 - Air RO (*Reverse Osmosis*)
 - Bakteri *Thiobacillus thioeparus* sumber yang merupakan koleksi bakteri pembiakan dari Lemigas, Jakarta.
 - Tabung reaksi, labu erlenmeyer dan batang strik.
 - Api Bunsen dan spirtus
2. Tahap persiapan
 - Siapkan 0,8 gram *Nutrient Agar* (NA) dan larutkan kedalam 0,1 ml air Air RO (*Reverse Osmosis*)
 - Lalu panaskan dan diaduk dengan menggunakan *hotplate* hingga mendidih dan teraduk sempurna (\pm 15 menit).



- Setelah mendidih, lalu tuangkan larutan *Nutrient Agar* ke dalam test tube sebanyak 5 ml dan tutup test tube hingga bebas dari kontaminasi.
 - Sterilkan larutan *Nutrient Agar* dengan menggunakan autoclave dengan suhu 121°C selama 20 menit.
 - Lalu simpan larutan nutrient agar tersebut dengan posisi miring ($\pm 30^\circ$), dengan suhu ruang selama 2 hari hingga *Nutrient agar* tersebut mengeras.
3. Tahap Menanam bakteri *Thiobacillus thioparus*. dalam media miring (tahap ini dilakukan dalam ruang isolasi, untuk mencegah kontaminasi)
- Menyiapkan bakteri *Thiobacillus thioparus*
 - Mengambil bakteri dengan menggunakan batang strik dengan cara menyentuh permukaan bakteri dalam test tube.
 - Lalu oleskan batang test tube tersebut di permukaan media miring baru yang telah kita persiapkan sebelumnya dengan dibuat zig-zag.
 - Lalu tutup test tube dan simpan bakteri *Thiobacillus thioparus* tersebut dalam incubator dengan suhu ruang.

III.4.3 Tahap penanaman bakteri *Thiobacillus thioparus* dalam media Kultivasi

Pembuatan media kultivasi ini bertujuan untuk meningkatkan populasi dari bakteri *Thiobacillus thioparus*. Karena pada media kultivasi kaya akan senyawa sulfur. adapun langkah – langkahnya, antara lain:

1. Menyiapkan bahan kultivasi yang akan digunakan, yang terdiri dari:
 - 1,2 gram KH_2PO_4
 - 1,2 gram K_2HPO_4
 - 0,4 gram NH_4Cl
 - 0,22 gram $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
 - 0,012 gram $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
 - 8 gram $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
 - 1 liter air RO (*Reverse Osmosis*)



2. Menanam bakteri *Thiobacillus thioparus* dalam media Kultivasi.

- Larutkan semua bahan yang telah ditimbang kedalam 1 liter air RO (*Reverse Osmosis*). Dan dikocok – kocok hingga larut merata.
- Simpan larutan tersebut kedalam botol 1 liter dan ditutup.
- Sterilkan Larutan media kultivasi dengan menggunakan *outoclave* dengan suhu 121°C selama 20 menit.
- Lalu simpan media kultivasi agar suhunya turun mendekati suhu ruang.
- Siapkan media adaptasi dalam botol dan tuang kedalam labu elemeyer sebanyak 100 ml.
- Ambil bakteri dengan menggunakan pipet sebanyak 10 ml.
- Lalu tanam bakteri dalam 100 ml media kultivasi dan dikocok - kocok.
- Lalu tutup labu elemeyer dan simpan labu elemeyer yang telah ditanam bakteri *Thiobacillus thioparus* dalam shaker dengan suhu ruang.

III.4.4 Tahap penanaman bakteri *Thiobacillus thioparus* dalam media adaptasi

Tujuan penanaman bakteri pada media adaptasi adalah untuk menyiapkan bakteri itu untuk lapar sulfur untuk sesaat sehingga ketika dialirkan senyawa sulfat seperti thiosulfat, bakteri *Thiobacillus thioparus* dapat bekerja secara optimum dan poses pendegradasi senyawa sulfat dapat berjalan sebaik mungkin, adapun langkah – langkahnya, antara lain:

1. Menyiapkan bahan yang akan digunakan
 - 1,2 gram KH_2PO_4
 - 1,2 gram K_2HPO_4
 - 0,4 gram NH_4Cl
 - 0,22 gram $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
 - 1 liter air RO (*Reverse Osmosis*)



2. Menanam bakteri *Thiobacillus thioparus* dalam media adatasi.

- Larutkan semua bahan yang telah ditimbang kedalam 1 liter air RO (*Reverse Osmosis*). Dan dikocok – kocok hingga larut merata.
- Simpan larutan tersebut kedalam botol 1 liter dan ditutup.
- Sterilkan Larutan media adaptasi dengan menggunakan *outoclave* dengan suhu 121°C selama 20 menit.
- Lalu simpan media adaptasi agar suhunya turun mendekati suhu ruang.
- Siapkan media adaptasi dalam botol dan tuang kedalam labu elemeyer sebanyak 100 ml.
- Ambil bakteri dengan menggunakan pipet sebanyak 10 ml.
- Lalu tanam bakteri dalam 100 ml media kultivasi dan dikocok - kocok.
- Lalu tutup labu elemeyer dan simpan labu elemeyer yang telah ditanam bakteri *Thiobacillus thioparus* dalam shaker dengan suhu ruang

III.4.5 Tahap penanaman bakteri *Thiobacillus thioparus* dalam media *Plate Count Agar* (PCA)

Media *Plate Count Agar* berfungsi sebagai media untuk memudahkan perhitungan koloni bakteri dengan metode *Total Plate Count*. Adapun langkah – langkahnya :

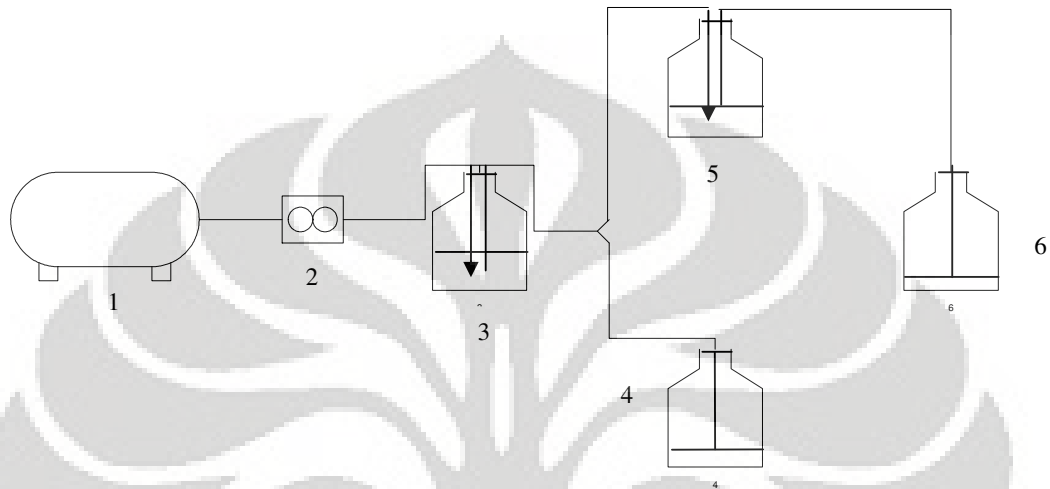
1. Menyiapkan alat dan bahan yang akan dipergunakan
 - *Plate Count Agar* (PCA)
 - Air RO (*Reverse Osmosis*).
2. Menanam bakteri *Thiobacillus thioparus* dalam *Plate Count Agar* (PCA)
 - Larutkan 23,5 gram bubuk *Plate Count Agar* (PCA) yang telah ditimbang ke dalam 1000 ml air RO (*Reverse Osmosis*).
 - Lalu panaskan dan diaduk dengan menggunakan *hotplate* hingga mendidih dan teraduk sempurna (± 15 menit).



- Setelah mendidih, Tuangkan larutan *Plate Count Agar* (PCA) ke dalam test tube sebanyak 5 ml dan tutup test tube hingga bebas dari kontaminasi.
- Sterilkan Larutan *Plate Count Agar* (PCA) dengan menggunakan autoclave dengan suhu 121°C selama 20 menit.
- Lalu tuang *Plate Count Agar* (PCA) dalam test tube ke dalam petridisc dan lakukan proses ini pada ruang isolasi dan jagalah dari bahaya kontaminasi.
- Simpan *Plate Count Agar* (PCA) pada suhu ruang selama 2 hari hingga *Plate Count Agar* (PCA) tersebut mengeras.
- Siapkan bakteri *Thiobacillus thioparus*. dalam media.
- Ambil bakteri dengan menggunakan pipet 1ml dengan cara pengenceran $10^1 - 10^5$ dalam test tube yang telah disiapkan.
- Isi 9 ml air RO steril pada test tube, lalu pada masukkan 1 ml bakteri dalam test tube pertama (kita beri label 10^1), lalu kocok hingga homogen dengan menggunakan vortex .
- Lalu dari test tube pertama kita siapkan test tube ke dua dan ambil 1 ml bakteri hasil pengenceran dari test tube pertama, dan encerkan kembali pada test tube kedua, dan seterusnya .
- Lalu pada pengenceran 10^3 sampai 10^5 , siapkan penanaman dalam petridisc yang telah dibuatkan *Plate Count Agar* (PCA). Dengan cara meneteskan 1ml bakteri hasil pengenceran 10^3 sampai dengan 10^5 dalam masing – masing patridisc, dan dilakukan secara dublo (dilakukan dua kali pada dua buah petridisc dengan perlakuan yang kurang lebih sama pada setiap pengenceran).
- Simpan hasil penanaman bakteri dalam media *Plate Count Agar* (PCA) pada incubator dengan suhu ruang dan tunggu hingga dua hari , lalu hitung jumlahnya koloninya.

III.5 Skema Alat

Pada penelitian ini ada rangkaian alat yang digunakan sebagai peralatan desulfurisasi thiosulfat oleh bakteri *Thiobacillus Thioparus*, adapun skema alatnya sebagai berikut:



Gambar 3.2 Skema alat pendegradasi sulfur

Keterangan:

1. Air Compressor
2. Flow Meter
3. Thiosulfat(200, 400 dan 600 ppm)
4. Iodin
5. Bakteri *Thiobacillus Thioparus* dalam media adaptasi
6. Iodin

III.6 Pelaksanaan pengujian

Dalam pelaksanaan pengujian dengan alat biofilter, dilakukan dengan beberapa tahap, antara lain:

1. Pengaktifan kultur bakteri yang akan digunakan (*Thiobacillus thioparus*) dengan media thiosulfat.
2. Proses desulfurisasi dilakukan dengan mengalirkan gas ke alat biofilter melalui inlet dengan masing - masing variasi bahan pengisi dan perlakuannya.



3. Pengamatan dilakukan pada masing – masing kolom meliputi konsentrasi gas thiosulfat yang masuk (*inlet*), dan gas keluar (*outlet*). Pengamatan lain yang dilakukan adalah jumlah koloni mikroba, pengamatan dilakukan pada waktu yang bersamaan dari kedua parameter tersebut.

III.6.1 Penentuan Kandungan Thiosulfat dengan Titrasi Iodimeter

Sebanyak 10 mL larutan iodine 0,025 N dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL. Kemudian ditambahkan ditambahkan air Reverse Osmosis sampai volumenya menjadi 20 mL. Selanjutnya, ditambahkan sebanyak 2 mL larutan HCl 6 N. Sebanyak 5 mL sampel (media) dimasukkan ke dalam erlenmeyer tersebut, Jika warna iodin (coklat) hilang. Larutan iodin ditambahkan sampai warna iodin (coklat) terlihat kembali. Selanjutnya, ditetesi dengan tiga tetes larutan indicator kanji. Setelah itu larutan tersebut dititrasi dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,025 N sampai warna biru hilang. Volume titrat, volume sampel, dan volume iodin yang digunakan, dipakai untuk menghitung kadar belerang (dalam bentuk $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) yang terkandung dalam media.

$$\text{S}_2\text{O}_3^{2-} \text{ (mg/L)} = \frac{[(A \times B) - (C \times D)] \times 1,121 \cdot 10^5}{\text{mL sampel}} \quad (3.1)$$

dimana :

A : Volume (mL) larutan iodin yang terpakai

B : Normalitas larutan iodin

C : Volume (mL) larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ yang terpakai

D : Normalitas larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

III. 6.2 Perhitungan Populasi Bakteri *Thibacillus thioparus* dengan metode TPC

Penghitungan Populasi bakteri bertujuan untuk mengetahui populasi bakteri yang terdapat pada bahan pengujian. Cara penghitungan jumlah bakteri yaitu dengan mengambil 1ml sampel. Sampel diencerkan dengan 9 ml aquades (pengenceran 10^1), kemudian dihomogenkan. Pengenceran dilanjutkan dengan cara yang sama sampai tingkat pengenceran yang sesuai. Selanjutnya pipet masing – masing 0,1 ml sampel dan dilakukan planting secara duplo dengan cara sebar



(*spread plate*) menggunakan triglaski pada cawan petri berisi media agar. Pekerjaan dilakukan secara aseptik, yang selanjutnya cawan petri di inkubasi pada incubator dengan suhu 30°C selama 48 jam. Lalu koloni pada cawan dihitung yang mempunyai 30 – 300 koloni.

Penghitungan jumlah bakteri per- mL dengan persamaan :

$$\text{Jumlah sel/mL (cfu mL}^{-1}\text{)} = \text{Jumlah rata - rata koloni} \times \text{kebalikan faktor pengenceran} \times \text{vol sampel yang ditanam} \quad (3.2)$$

III.7 Data Pengamatan dan pengolahan data

III.7.1 Data Pengamatan

Data – data yang diambil dari penelitian degradasi senyawa sulfur dengan bakteri *Thiobacillus thioparus* antara lain:

1. Pada flow meter diperoleh laju alir dari setiap variasi konsentrasi
2. Pada Titrasi iodimetri, didapatkan data – data hasil titrasi berupa besar konsentrasi masukan (*inlet*) yang berasal dari larutan iodin 200, 400 dan 600 ppm, konsentrasi keluaran (*outlet*) yang berasal dari aliran masuk (*inlet*) yang telah dilirkan kedalam media adaptasi yang berisikan bakteri *Thiobacillus thioparus*, sehingga pada aliran keluaran (*outlet*) konsentrasi thiosulfat yang terhitung jauh lebih kecil dari pada aliran masukan (*inlet*).
3. Pada *Total Plate Count* (TPC), data – data yang akan diperoleh berupa kurva pertumbuhan bakteri *Thiobacillus thioparus* pada tiap waktunya. Data ini dapat menunjukkan fase – fase pertumbuhan bakteri *Thiobacillus thioparus* dari fase adaptasi, fase log, fase stasioner dan fase kematian.

III.7.2 Pengolahan data

1. Persentase konsentrasi (%C) thiosulfat dari hasil titrasi iodimetri yang merupakan perbandingan antara konsentrasi thiosulfat masukan (*inlet*) dikurangi konsentrasi thiosulfat keluaran (*outlet*) per konsentrasi thiosulfat masukan (*inlet*) dikalikan seratus persen, yang tertulis dari persamaan :

$$\%C = \frac{(C_{in} - C_{out})}{C_{in}} \times 100\% \quad (3.3)$$



Dimana:

%C = Persen konsentrasi

C_{in} = Konsentrasi masukan

C_{out} = konsentrasi keluaran

2. Perhitungan Laju Degradasi (D) adalah laju penurunan konsentrasi substrat, kontaminan hidrokarbon, per sel bakteri per waktu(jam), yang dapat ditentukan dengan persamaan (Hamed et. al., 2003):

$$D = \frac{1}{X} \frac{dS}{dT} \quad (3.4)$$

Dimana :

D = Laju degradasi substrat (massa sel⁻¹waktu⁻¹)

S = Konsentrasi substrat (massa/volum)

X = konsentrasi sel bakteri (sel/volum)

T = Waktu



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada bab empat ini akan dipaparkan mengenai analisis prosedur penelitian dan data – data yang diperoleh dari hasil percobaan berlangsung. Selain itu akan dibahas pula tentang perhitungan hasil yang penting yang bertujuan untuk mengetahui ketahanan dan kecenderungan pertumbuhan bakteri *Thiobacillus thioparus* dalam proses biodegradasi sulfur dengan cara melihat kurva dan laju pertumbuhan bakteri, menentukan kecenderungan proses degradasi variasi konsentrasi thiosulfat sebagai senyawa sulfur.

Sebelum penelitian dilakukan, ada beberapa hal yang perlu diperhatikan mengenai aspek sterilisasi peralatan dan juga media tumbuh bakteri. Sterilisasi ditujukan untuk meminimalisir kontaminan seperti bakteri – bakteri lain, jamur, debu, benda atau makhluk hidup lain yang dapat merusak pertumbuhan bakteri *Thiobacillus thioparus* itu sendiri, sehingga proses penelitian pendegradasian senyawa sulfur dapat berjalan se-optimum mungkin. Sterilisasi dapat dilakukan dengan menggunakan panci bertekanan tinggi dengan suhu minimum 121°C atau yang biasa disebut autoclave, dan dikeringkan dengan menggunakan oven kering dan untuk menjaga kesterilan bahan atau alat untuk jangka waktu yang agak lama maka ada baiknya disimpan dalam lemari UV (*Ultra Violet*), alat atau bahan yang biasanya disterilkan sebelum digunakan pada penelitian ini antara lain: media agar (*Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), *Plate Count Agar* (PCA)), media kultivasi, media adaptasi, air *Reverse Osmosis* (RO), Petri disc, tabung reaksi, labu Erlenmeyer dan pipet).

Kemudian langkah selanjutnya yang dilakukan adalah persiapan bahan yang akan dipakai antara yaitu *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), *Plate Count Agar* (PCA). Medium – medium tersebut diperoleh dari Departemen Farmasi Fakultas MIPA Universitas Indonesia, dengan komposisi pemakaian, sebagai berikut *Nutrient Agar* (NA) 23,5 gram untuk 1000 mL air *Reverse Osmosis* (RO), *Nutrient Broth* (NB) 23 gram untuk 1000 mL air *Reverse Osmosis*



(RO), dan *Plate Count Agar* (PCA) 23,5 gram untuk 1000 mL air *Reverse Osmosis* (RO).

Tahap penting dari penelitian ini adalah persiapan bakteri yang akan digunakan. Menurut Frobisher (1962), salah satu bakteri pendegradasi sulfur yang paling baik adalah *Thiobacillus*. Semua jenis *Thiobacillus* merupakan bakteri gram negatif yang memperoleh energi dari oksidasi senyawa sulfur. *Thiobacillus* sp. termasuk dalam famili *Thiobacteriaceae*, sub ordo *psedomonadiaeae*, dan ordo *psedomonadales*. Sel *Thiobacillus* sp. kecil dan berbentuk batang dan diantaranya memiliki flagella polar, dan dari semua famili *Thiobacillus* sp. yang lebih bagus digunakan adalah *Thiobacillus thioparus* yang diperoleh dari hasil kultivasi yang dilakukan di Lemigas, Jakarta.

Setelah memperoleh kultur bakteri *Thiobacillus thioparus* dari Lemigas, Jakarta dan belum memulai penelitian ini, maka ada beberapa langkah untuk membiakkan bakteri, sehingga di laboratorium bioproses, Departemen Teknik Kimia, Universitas Indonesia memiliki cadangan bakteri *Thiobacillus thioparus* sendiri, yang juga berguna sebagai pencegah kegagalan yang mungkin dapat terjadi.

Beberapa langkah pembiakan itu antara lain membuat pembiakan bakteri *Thiobacillus thioparus* dengan media agar miring (*Nutrient Agar* (NA)) yang bertujuan mengetahui kultur dari *Thiobacillus thioparus*, selanjutnya dibuat media cair (*Nutrient Broth* (NB)) yang berfungsi sebagai media sementara bagi *Thiobacillus thioparus* dimana pada media ini asupan nutrisi sudah mulai banyak disediakan, lalu selanjutnya dibuatkan media kultivasi yang kaya akan sulfur, karena media kultivasi ini terdiri dari KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , NH_4Cl , $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ dan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Adapun tujuan dibuat media kultivasi ini adalah untuk meningkatkan populasi dari bakteri *Thiobacillus thioparus*. Setelah populasi bakteri *Thiobacillus thioparus* mengalami peningkatan yang pesat dalam media yang kaya sulfat selanjutnya bakteri *Thiobacillus thioparus* dimasukkan kedalam media adaptasi dimana pada media ini kandungan sulfatnya sangat sedikit tetapi memiliki beberapa nutrisi lain seperti kalium, magnesium, klor, dan lain – lain, karena pada media adaptasi ini terdiri dari KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , NH_4Cl dan $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dan tidak lagi ditambahkan dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ dan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.



Adapun tujuan penanaman bakteri pada media adaptasi adalah untuk menyiapkan bakteri itu untuk lapar sulfur untuk sesaat sehingga ketika dialirkan senyawa sulfat seperti thiosulfat, bakteri *Thiobacillus thioparus* dapat bekerja secara optimum dan poses pendegradasi senyawa sulfat dapat berjalan sebaik mungkin.

Pada proses degradasi thiosulfat oleh bakteri *Thiobacillus thioparus* dilakukan pada konsentrasi 200, 400 dan 600 ppm. Pada penelitian ini, data diambil selama 54 jam dengan rentang waktu setiap tiga jam sekali untuk empat data pertama dan selanjutnya enam jam sekali untuk data ke-7, 8 dan 9 sedangkan untuk data ke -6 dan ke -10 dilakukan setelah 12 jam. Pengambilan waktu ini didasarkan pada penelitian dari Lemigas, Jakarta, yang menunjukkan waktu pertumbuhan optimum bakteri atau log fase adalah hari ke-1 sampai hari ke-2 atau jam ke-24 sampai jam ke-48. Fase logaritmik merupakan suatu fase dari pertumbuhan mikroorganisme, dimana pada fase ini jumlah selnya meningkat pesat seiring dengan bertambahnya waktu (Lay dan Sugyohastowo, 1989).

Pada percobaan ini peralatan dirangkai terlebih dahulu Sebelum penelitian ini dimulai, maka perlu dicari dulu berapa konsentrasi hasil blank test dari setiap larutan thiosulfat 200, 400, dan 600 ppm dan diperoleh pada konsentrasi larutan thiosulfat 200 ppm, hasil blank test sebesar 196 ppm, pada larutan thiosulfat 400 ppm diperoleh konsentrasi awal sulfur sebesar 390,88 ppm dan pada larutan thiosulfat 600 ppm diperoleh konsentrasi awal sebesar 595,84 ppm, terlihat pada table 4.1.

Tabel 4.1 Konsentrasi awal thiosulfat

Konsentrasi Larutan Thiosulfat (ppm)	Blank test (ppm)
200	196
400	390,88
600	595,84

Secara umum perlakuan pada setiap variasi konsentrasi baik 200, 400 dan 600 ppm kurang lebih sama, adapun enelitian ini bertujuan untuk mengkaji proses desulfurisasi oleh bakteri *Thiobacillus thioparus*, mengetahui tingkat ketahanan bakteri *Thiobacillus thioparus* terhadap variasi konsentrasi senyawa sulfur dan



menentukan laju degradasi sulfur oleh bakteri *Thiobacillus thioparus* dalam proses desulfurisasi.

IV.1 Proses desulfurisasi senyawa sulfur oleh bakteri *Thiobacillus thioparus*.

Penelitian ini merupakan proses degradasi senyawa sulfat oleh bakteri *Thiobacillus thioparus* pada rentang konsentrasi 200 ppm hingga 600 ppm. Pada penelitian ini digunakan iodin sebagai penitratnya, namun iodin memiliki sifat yang mudah menguap, karena merupakan salah satu dari *Volatil Organic Compound's* (VOC's), berwarna coklat dan sedikit berbau. Untuk dapat meningkatkan keakuratan data penelitian maka ada baiknya untuk melapisi tutup labu erlenmeyer dan buret oleh aluminium foil, hal ini untuk mencegah senyawa iodin yang menguap.

Pada tabel 4.2 dapat dilihat konsentrasi masukan atau (*inlet*) dan konsentrasi keluaran (*outlet*) untuk konsentrsai 200, 400, dan 600 ppm dari jam ke-0 sampai jam ke-54. Selain itu juga dapat dilihat persen konsentrasi yang merupakan perbandingan antara selisih kontrasi masukkan (*inlet*) dikurangi konsentrasi keluaran (*outlet*) per konsentrasi keluaran (*outlet*) dikali seratus persen, yang ditunjukkan pada tabel 4.3, pada tabel ini bertujuan melihat kecendrungan tingkat persentase pada setiap waktu pada setiap variasi konsentrasi. Dan pada gambar 4.1 menunjukkan grafik persen konsentrasi perbandingan antara setiap variasi konsentrasi per satuan waktu.

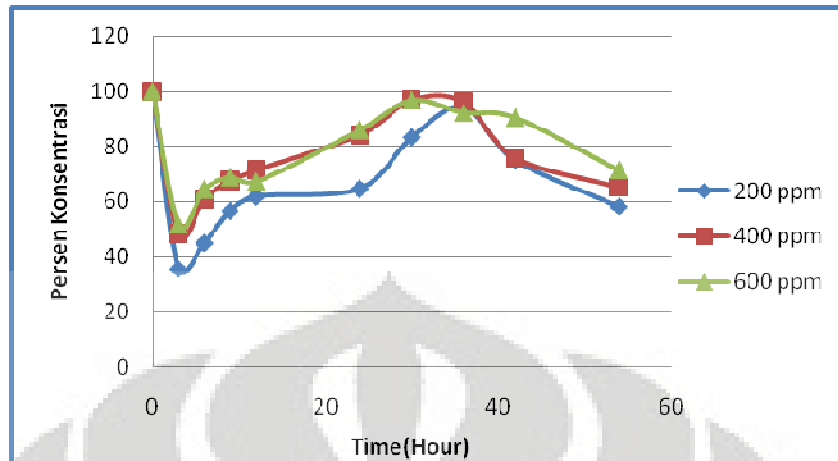


Tabel 4.2 Konsentrasi inlet dan outlet untuk variasi konsentrasi 200, 400, dan 600 ppm

Time (Hour)	200 ppm		400 ppm		600 ppm	
	Inlet (ppm)	Outlet (ppm)	Inlet (ppm)	Outlet (ppm)	Inlet (ppm)	Outlet (ppm)
0	196		390,88		595,84	
3	185,36	119,28	381,92	197,12	593,6	286,72
6	196,56	108,08	382,48	148,96	586,88	208,32
9	185,92	80,64	371,84	120,4	598,08	185,92
12	188,16	71,68	380,8	108,64	582,4	190,4
24	187,04	66,08	392,56	61,6	584,64	81,76
30	188,16	31,36	394,24	12,32	593,6	19,04
36	194,88	11,2	380,8	14,56	595,84	45,92
42	192,64	48,16	389,76	94,08	590,24	56
54	198,24	82,88	386,4	134,4	584,64	166,88

Tabel 4.3 Persen konsentrasi untuk variasi konsentrasi 200, 400, dan 600 ppm

Time (Hour)	200 ppm (%)	400 ppm (%)	600 ppm (%)
0	100	100	100
3	35,65	48,39	51,70
6	45,01	61,05	64,50
9	56,63	67,62	68,91
12	61,90	71,47	67,31
24	64,67	84,31	86,02
30	83,33	96,86	96,79
36	94,25	96,18	92,29
42	75	75,86	90,51
54	58,19	65,22	71,46



Gambar 4.1 Grafik persen konsentrasi thiosulfat pada variasi konsentrasi 200, 400, dan 600 ppm

Pada gambar 4.1 dapat dilihat bahwa pada konsentrasi 200 ppm kurva persen konsentrasi yang dihasilkan lebih kecil dari pada kurva pada konsentrasi 400 ppm dan pada konsentrasi thiosulfat 600 ppm kurva persen konsentrasi jauh lebih stabil dari kedua kurva lain. Pada konsentrasi thiosulfat 200 ppm persen konsentrasi memerlukan waktu 36 jam untuk mencapai grafik puncaknya dan langsung mengalami penurunan, sedangkan pada konsentrasi 600 ppm, waktu yang dibutuhkan untuk mencapai grafik puncak dibutuhkan waktu yang lebih cepat, yaitu 30 jam, pada kurva konsentrasi 600 ppm menunjukkan grafik yang relatif stabil dari jam ke-30 sampai jam ke-42. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar variasi konsentrasi thiosulfat maka akan semakin besar persen konsentrasi yang dihasilkan, ini dikarenakan pada konsentrasi 600 ppm, kandungan sulfur lebih pekat dari pada 200 dan 400 ppm dan ini membuat kondisi lingkungan populasi bakteri *Thiobacillus thioparus* yang merupakan bakteri sulfur semakin kaya akan sulfur.

IV.2 Tingkat ketahanan bakteri *Thiobacillus thioparus* terhadap variasi konsentrasi senyawa sulfur.

Penelitian ini dilakukan pada suhu ruang ber-AC (26 °C), dengan mengansumsikan bahwa temperatur adalah variabel tetap. Jumlah inokulum yang

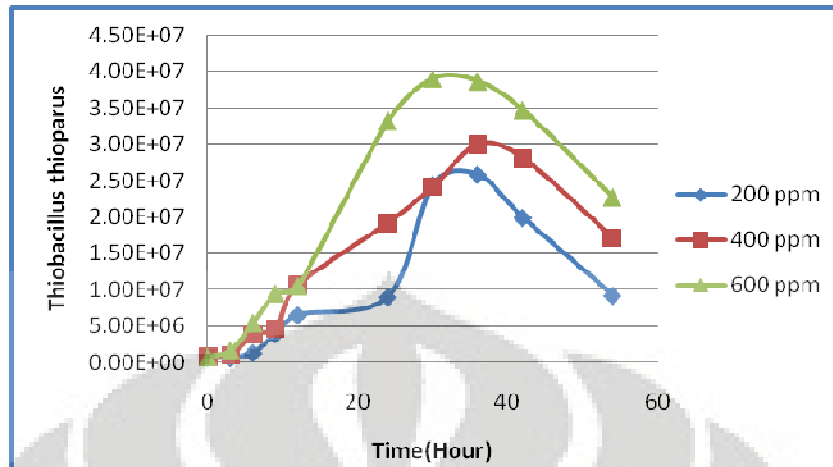


dimasukkan kedalam labu erlenmeyer sebagai awal pertumbuhan bakteri (jam ke-0) adalah sebesar 7×10^5 cfu/mL. Pengamatan secara makroskopis dari larutan berisi sejumlah sel bakteri pada awal pertumbuhan, terlihat media adaptasi masih bening dengan sedikit selaput putih (selaput putih berasal dari larutan penyusun media adaptasi yang terdiri dari KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , NH_4Cl dan $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) sedangkan setelah satu hingga dua hari maka akan terlihat selaput putih akan semakin banyak hal ini merupakan indikasi awal bahwa didalam media adaptasi telah banyak ditumbuhi bakteri *Thiobacillus thioparus*, dan ternyata kekentalan selaput berwarna putih sejalan dengan tingkat konsentrasi dari thiosulfat yang dialirkan, dimana tingkat kekentalan tertinggi terlihat pada media adaptasi yang dialirkan dengan senyawa thiosulfat 600 ppm.

Dari penelitian ini dapat dihasilkan data pertumbuhan bakteri *Thiobacillus thioparus* dari jam ke-0 hingga jam ke-54 dengan variasi thiosulfat 200 ppm, 400 ppm dan 600 ppm, seperti yang terlihat dari tabel 4.4. Dan secara grafik dapat terlihat pada kurva pertumbuhan *Thiobacillus thioparus* dapat ditunjukkan pada gambar 4.2.

Tabel 4.4 Data pertumbuhan bakteri

Time (Hour)	200 ppm (cfu/mL)	400 ppm (cfu/mL)	600 ppm (cfu/mL)
0	700.000	700.000	700.000
3	600.000	1.000.000	1.600.000
6	1.300.000	3.800.000	5.400.000
9	3.900.000	4.600.000	9.500.000
12	6.500.000	10.600.000	10.500.000
24	9.000.000	19.200.000	33.200.000
30	24.500.000	24.200.000	39.100.000
36	25.800.000	30.100.000	38.700.000
42	19.900.000	28.100.000	34.700.000
54	9.200.000	17.100.000	22.700.000



Gambar 4.2 Grafik pertumbuhan bakteri *Thiobacillus thioparus* (cfu/mL)

Pada awal fase merupakan lag fase, dimana *Thiobacillus thioparus* mensintesis molekul – molekul yang dibutuhkan untuk pertumbuhan sel dan penggandaan sel, dan juga mensintesis enzim metabolisme. Pada 12 jam pertama menunjukkan rentang waktu lag fase untuk semua variasi konsentrasi. Pada lag fase masing – masing konsentrasi memiliki perbedaan aktivitas yang dilakukan. Pada lag fase untuk setiap konsentrasi mengalami pertumbuhan yang sangat lambat, baik pada 200 ppm , 400 ppm dan 600 ppm memiliki tingkat pertumbuhan yang kurang lebih sama pada fase ini, ini mungkin terjadi karena konsentrasi thiosulfat yang digunakan memiliki rentang konsentrasi thiosulfat yang digunakan tidak terlalu lebar.

Pada fase selanjutnya adalah fase pertumbuhan logaritmik (fase eksponensial), fase ini dapat terlihat pada jam ke-12 sampai pada jam ke-36, dimana bakteri menghasilkan pertumbuhan yang cukup signifikan, karena pada fase inilah lalu pertumbuhan optimum didapatkan. Selama fase eksponensial jumlah bakteri terus meningkat secara cepat untuk setiap variasi substrat. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi proses metabolisme dan pertumbuhan sel pada semua variasi konsentrasi terjadi sangat optimum dimana jumlah nutrisi yang tersedia cukup untuk mengimbangi pertumbuhan bakteri yang sangat cepat. Pada fase ini dapat terlihat semakin besar konsentrasi larutan thiosulfat masukkan (*inlet*) maka pertumbuhan bakteri makin besar, dimana pada variasi konsentrasi thiosulfat 200 ppm jumlah bakteri *Thiobacillus thioparus* maksimum sebesar 2,58



$\times 10^7$, untuk variasi konsentrasi thiosulfat 400 ppm jumlah bakteri *Thiobacillus thioparus* maksimum sebesar $3,01 \times 10^7$ dan pada variasi konsentrasi thiosulfat 600 ppm jumlah *Thiobacillus thioparus* maksimum sebesar $3,91 \times 10^7$.

Setelah jam ke-36 sampai jam ke-54 grafik pertumbuhan bakteri mengalami penurunan. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi proses metabolisme dan pertumbuhan sel pada semua variasi konsentrasi terjadi tidak optimum lagi, dimana jumlah nutrisi yang tersedia sudah tidak mencukupi untuk mengimbangi pertumbuhan bakteri, pada fase ini telah terjadi persaingan untuk merebutkan nutrisi sulfur yang tersedia, sedangkan konsentrasi sulfur tidak meningkat, sehingga terdapat bakteri yang melewati fase kematian.

IV.3 Laju degradasi sulfur oleh bakteri *Thiobacillus thioparus*.

Degradasi Thiosulfat merupakan penurunan konsentrasi kontaminan thiosulfat akibat telah dikonsumsi oleh *Thiobacillus thioparus*. Senyawa thiosulfat akan dirombak menjadi energi bagi bakteri *Thiobacillus thioparus*. Laju degradasi thiosulfat dapat dihitung dengan persamaan (3.4) berikut ini:

$$D = \frac{1}{X} \frac{dS}{dt}$$

Dimana D merupakan laju degradasi substrat ($\mu\text{g sel}^{-1}\text{jam}^{-1}$), S merupakan konsentrasi thiosulfat (mg/L), X merupakan konsentrasi sel bakteri (sel/mL) tiap satuan waktu.

Tabel 4.5 laju Degradasi keseluruhan bakteri *Thiobacillus thioparus*

Konsentrasi thiosulfat (ppm)	Laju Degradasi keseluruhan ($\mu \text{ sel}^{-1} \text{ jam}^{-1}$)
200	4,64E-05
400	8,46E-05
600	1,12E-04

Dari tabel 4.5 menunjukkan laju degradasi keseluruhan untuk masing – masing konsentrasi. Dari tabel tersebut, dapat dilihat bahwa semakin besar konsentrasi, maka laju degradasi keseluruhan akan semakin besar. Hal ini disebabkan karena *Thiobacillus thioparus* telah memiliki waktu yang cukup untuk



bermetabolisme menggunakan sumber karbon yang ada dan melakukan pembentukan sel.

Laju degradasi tersebut linier dengan persen terdegradasi yang telah disebutkan sebelumnya. Jadi semakin besar konsentrasi, laju degradasi semakin besar sehingga persen terdegradasi yang dihasilkan akan semakin besar, sesuai dengan teori yang ada yaitu semakin besar konsentrasi substrat, maka laju degradasi akan semakin besar hingga mencapai nilai maksimum, dan kemudian menurun dengan bertambahnya konsentrasi substrat, mengindikasikan inhibisi substrat (Hamed et. al., 2003).





BAB V

KESIMPULAN

Ada beberapa kesimpulan yang didapatkan dari hasil penelitian dan analisis terhasi tersebut, antara lain :

1. Pada proses desulfurisasi senyawa sulfur oleh bakteri *Thiobacillus thioparus*, dapat terlihat bahwa semakin besar konsentrasi maka proses desulfurisasi akan semakin optimum.
2. Tingkat ketahanan bakteri *Thiobacillus thioparus* terhadap variasi konsentrasi senyawa sulfur secara umum mengalami lag fase pada 12 jam pertama, lalu mengalami fase eksponensial dimana pertumbuhan bakteri sangat cepat selama 30 atau 36 jam dan mengalami penurunan populasi pada jam ke-54.
3. Pada laju degradasi sulfur oleh bakteri *Thiobacillus thioparus* semakin besar konsentrasi substrat, maka laju degradasi akan semakin besar hingga mencapai nilai maksimum, dan kemudian menurun dengan bertambahnya konsentrasi substrat.



DAFTAR PUSTAKA

- Atlas, R.M dan R. Bartha, 1981, *Microbial Ecology: Fundamentals and Applications*, Addison-Wesley Publishing Company, London.
- Anit, S.B. dan Artuz R. J., 2004, *Biofiltration of air*. www.rpi.edu. Diakses tanggal 6 November 2007.
- Anonim, *Jalur reduksi – oksidasi sulfur oleh bakteri*, <http://soil.cses.vt.edu>, Diakses tanggal 6 November 2007.
- Anonim, *Kompos bahan organik dan kotoran hewan*, <http://id.wikipedia.org/wiki/Kompos>.diakses tanggal 6 november 2007.
- Baker, Katherine H. and Diane S. Herson, 1994, *Bioremediation*, Mc Graw Hill, Inc: NewYork.
- Berry, D.F and A.J Francis, 1987, *Microbial Metabolism of Homocyclic and Heterocyclic Aromatic Compound Under Aerobic Condition*.
- Bouwer, E.J.,1992, *Environmental Biotechnology: Bioremediation of Organics Contaminants in Subsurface*, Newyork: John Wiley And Son Inc.
- Cho, K.S., Hirai, M., dan Shoda, M., 1992, *Enhanced removal Efficiency of Malodorous gases in a Pilot-scale peat Biofilter inoculated with Thiobacillus Thioparus DW44*, J. Ferment, Bioeng, 73, 46-50.
- Chung, Y.C., Huang, C., dan Tseng, C.P., 1996b, *Microbialoxidation of Hydrogen Sulfide with Biofilter*, J. Eviron, Sci, Health 31(A), 1263-1278.
- Citroreksoko, Padmono, 1996, *Prosiding Pelatihan dan lokakarya: Peranan Bioremediasi dalam lingkungan*, LIPI, BPPT, dan HSF.
- Collins C.H., et. al., 1995, *Microbiological Methods*, Butterworth-Heinemann.
- Denny, 2004, *Penghilangan emisi Gas H₂S dengan Metode Biofilter menggunakan Media Anorganik*, Skripsi, Fakultas Teknologi Pertanian – IPB, Bogor.
- Fierdaus M. dkk, 2006, *Peneitian Reduksi Kandungan Sulfur dalam Gas Bumi dengan Aktifitas Mikroba secara Biofilter*, Pusat Penelitian dan – Pengembangan Teknologi Minyak dan Gas Bumi – Lemigas, Jakarta.
- Hamed, Tarek abu et. al., 2003, *the Biodegradation of Benzene, Toulene, and Phenol in two-phase systm*. Departement of Chemical Engineering,



Turkey.

Harley, J.P. & Klein, D.A., 1990, *Microbiology*, Wm.C. Brown Publishers, USA.

Hirai, M., yani, M., 2001, *Comporation of Biological Removal Characteristics of H_2S and NH_3 using four kind of inorganic carriers*, J. Bioscin (240-248)

Holt JG, Kreig NR, Sneath PHA, Staley JT. Williams ST., 1994, *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Lippincott Williams & Wilkins. USA.

Irawan, 2005, *Penghilangan Emisi Gas SO_2 dengan Teknik Biofilter menggunakan *Thiobacillus sp* dengan Media Campuran Arang Aktif dan Kompos*, Skripsi, Fakultas Teknologi Pertanian – IPB, Bogor.

Keteren, S. dan B. Djatmiko, 1987, *Daya Guna hasil Kelapa*. Departemen Teknologi Hasil Pertanian, fakultas Teknologi Pertanian – IPB, Bogor.

Knowles, 2004, Liberty School.

Lay, B.W. Dan Sugyohastowo, 1989, *Mikrobiologi*, Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB, Bogor.

Lens, P. dan L.H. Pol., 2000, *Environmental Technologies to treat Sulfur Pollution*, IWA Publishing, London.

Lovley, Derek R. et. al., 1994, *Benzene oxidation coupled to sulfate reaction*, US Geological survey, Virginia.

Madigan, M.T., dan J. Parker, 2002, *Growth of Biological Microorganism*, 10th Ed. Peason Education, Inc, New Jersey.

Manik, S. P., 2005, *Penghilangan Gas SO_2 (Sulfur Dioksida) dengan Teknik Biofilter menggunakan *Thiobacillus sp.* dengan Media Kompos, Tanah dan Serbuk Gergaji*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian – IPB, Bogor.

MCNevin, D., & Barford, J., 2000, *Biofiltration as an odour abatement strategy*, *Biochemical Engineering Journal*, 5(3), 231-242.

Merck, E., 1980, *Reagents diagnostic chemicals*, Darmstadt, Germany.

Ottegraf, S. P. P., 1987, *Exhaust Gas Purification in Biotechnology*, 8th Ed. Rehm, H. J. and Reed, G., VCH, Tokyo.

Pelczar, M. J., dan E. C. S. Chan, 1988, *Dasar – dasar Mikrobiologi*, Universitas Indonesia Press, Jakarta.

Risma, 2005, *Studi awal proses Biodegradasi toluene oleh bakteri *Pseudomonas**



Aeruginosa, Skripsi, Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia, Depok.

Sanseverino, J. Graves, Levitt, M.E., dan Gupta, S.K., 1994, Surfactant-Enhanced Bioremediation of polynuclear Aromatic Hydrocarbons in Coke Waste. Dalam L.W. Donald dan D.J. Trantolo (eds.), *Remediation of Hazardous Waste Contaminated Soils*, Marcel Dekker. Inc, Newyork.

Saputra, 2006, Penerapan Biofilter untuk penghilangan NH₃ dan H₂S dengan menggunakan bakteri *Nitrosomonas* sp dan *Thiobacillus* sp, Skripsi, Fakultas Teknologi Pertanian – IPB, Bogor.

Schlegel, H.G. dan K. Schmidt, 1994, *Mikrobiologi Umum*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

Shoda, M., 1991, *Methods for The Biological Treatment of Exhaust Gases in Biological Degradation of Wastes* (ed. Martin, A. M.), Elsevier Science Pub. Ltd.

Suthersan, Suthan S., 2001, *Frontmatter: Natural and Enhanced Remediation systems*, CRC Press: Florida.

Wahyuni, A, 2004, *Penghilangan H₂S dengan Metode Biofilter menggunakan Media Kompos dan Arang Aktif yang Diinokulasi dengan Bakteri Thiobacillus sp*, Skripsi, Fakultas Teknologi Pertanian – IPB, Bogor.

Yani, M., 1999, *Study on Ammonia Removal by Nitrifying Bacteria*, Phd Thesis, Tokyo Institute of Technology, Tokyo.



LAMPIRAN

L1. Data mentah dari penelitian

1. Data populasi Bakteri *Thiobacillus thioparus*. Pada konsentrasi thiosulfat masukkan sebesar 200, 400 dan 600 ppm. Populasi bakteri ditanam dalam media adaptasi dengan volum 200 mL dan volume thiosulfat masukkan sebesar 200 mL.

Time(hour)	200 ppm		400 ppm		600 ppm	
		Total(cfu)		Total(cfu)		Total(cfu)
0	A	800000	A	800000	A	800000
	B	600000	B	600000	B	600000
3	A	200000	A	1600000	A	1200000
	B	1000000	B	400000	B	2000000
6	A	600000	A	3400000	A	4200000
	B	2000000	B	4200000	B	6600000
9	A	4600000	A	6200000	A	10400000
	B	3200000	B	3000000	B	8600000
12	A	4400000	A	9800000	A	14800000
	B	8600000	B	11400000	B	6200000
24	A	7600000	A	17400000	A	31000000
	B	10400000	B	21000000	B	35400000
30	A	28200000	A	26200000	A	41400000
	B	20800000	B	22200000	B	36800000
36	A	26600000	A	27800000	A	39600000
	B	25000000	B	32400000	B	37800000
42	A	19600000	A	29600000	A	33400000
	B	20200000	B	26600000	B	36000000
54	A	10800000	A	15800000	A	21600000
	B	7600000	B	18400000	B	23800000

2. Data hasil titrasi

Pada data titrasi konsentrasi thiosulfat yang digunakan sebagai penitrat sebesar 0,052 N (hasil ini merupakan hasil standardisasi dengan menggunakan $K_2R_2O_7$), dan konsentrasi iodine yang bervariasi, ini dikarenakan sifat iodine yang mudah menguap (I_2), sehingga setiap harinya, dan diperoleh konsentrasi sebesar: 0,03, 0,035, 0,04 dan 0,038 N. volume iodi sebagai trapper sebesar 10 mL



a) Pada konsentrasi inlet thiosulfat 200 ppm

Time(Jam)	Inlet			Outlet		
	Titrasi		Hasil	Titrasi		Hasil
	iodine	thiosulfat		iodine	thiosulfat	
0	6,2	3,5	196	6,2	3,5	196
3	5,7	3,2	185,36	6,7	4,1	119,28
6	6,5	3,7	196,56	5,9	3,6	108,08
9	6	3,4	185,92	6,8	4,3	80,64
12	7,2	4,2	188,16	7,2	4,6	71,68
24	6,6	3,8	187,04	7,5	4,1	66,08
30	5,8	2,7	188,16	6,6	3,7	31,36
36	7,4	3,6	194,88	7	4	11,2
42	6	2,8	192,64	6,7	3,7	48,16
54	6,9	3,3	198,24	7	5,1	82,88

b) Pada konsentrasi inlet thiosulfat 400 ppm

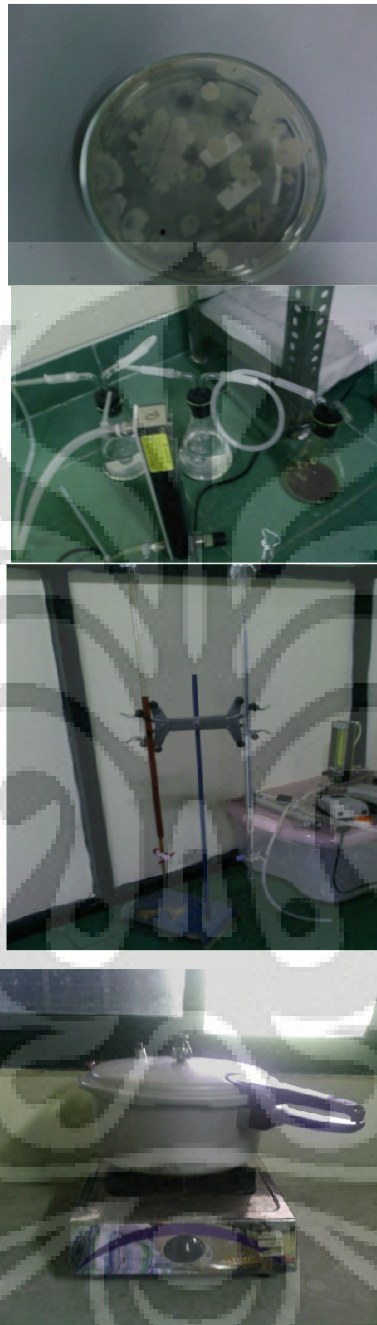
Time(Jam)	Inlet			Outlet		
	Titrasi		Hasil	Titrasi		Hasil
	iodine	thiosulfat		iodine	thiosulfat	
0	6,6	3,1	390,88	6,6	3,1	390,88
3	7	3,4	381,92	6,8	3,9	197,12
6	7,3	3,6	382,48	7	4,2	148,96
9	6,8	3,3	371,84	7,3	4,5	120,4
12	6,4	3	380,8	6,2	3,8	108,64
24	7,5	3,7	392,56	7,3	4	61,6
30	7,2	2,8	394,24	7,7	4,4	12,32
36	6,6	2,5	380,8	6,5	3,7	14,56
42	7	2,7	389,76	6,8	3,6	94,08
54	7,5	3	386,4	7,1	5	134,4

c) Pada konsentrasi inlet thiosulfat 600 ppm

Time(Jam)	Inlet			Outlet		
	Titrasi		Hasil	Titrasi		Hasil
	iodine	thiosulfat		iodine	thiosulfat	
0	7,6	3,8	595,84	7,6	3,8	595,84
3	7,2	3,5	593,6	8,3	5,4	286,72
6	7,3	3,6	586,88	7,3	4,9	208,32
9	8	4,1	598,08	8,5	5,9	185,92
12	7,8	4	582,4	8	5,5	190,4
24	6,9	3,3	584,64	7,5	5,2	81,76
30	8,4	4,1	593,6	8,3	6	19,04
36	8	3,8	595,84	8,7	6,2	45,92
42	7,7	3,6	590,24	8,2	5,8	56
54	7,4	3,4	584,64	7,9	5,2	166,88



L.2 Foto – foto penelitian



Keterangan gambar (dari paling atas sampai paling bawah): Tampak populasi bakteri dalam media PCA, rangkaian peralatan penelitian, Titrasi iodimetri dan outoclave yang digunakan dalam penelitian.