

✓✓

Ketahanan Mikro Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Terhadap Konsentrasi ISOOKTAN Dalam Alam Media Cair

Dianursanti¹, R. Andika, Misri Ghazan, Roekmijati W. Socmantojo dan A. Wijanarko²
Laboratorium Rekayasa Bioproses, Departemen Teknik Gas dan Petrokimia.
Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia, Kampus Baru UI Depok, 16424.
E-mail: danti@che.ui.edu¹, anondho@che.ui.edu²

Abstrak

Teknologi Bioremediasi merupakan teknologi yang belakangan ini digunakan sebagai cara alternatif penanggulangan limbah hidrokarbon. Metode ini menggunakan mikroorganisme bakteri pemecah minyak seperti *Pseudomonas aeruginosa* untuk mendegradasi senyawa hidrokarbon sehingga dapat memulihkan lingkungan, tanah dan air yang tercemur.

Penelitian pengujian ketahanan dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ini merupakan bagian dari penelitian Tim Bioremediasi yang dilakukan di Departemen Teknik Gas dan Petrokimia. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan limbah buatan, yang merupakan campuran isooktan dalam air dan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam kultur medium Nutrien Broth (NB) dengan menggunakan teknik pengguncangan. Proses tersebut berlangsung pada kondisi temperatur 35°C, kecepatan shaker 30 rpm dan tekanan 1 atm dengan variasi konsentrasi substrat iso-oktana yang digunakan pada rentang 800 - 10000 ppm volum.

Secara umum hasil yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi kontaminan, semakin berkurang jumlah massa sel akhir yang dihasilkan, sedang laju pertumbuhan spesifik sel *Pseudomonas aeruginosa* relatif sama. Pertumbuhan terbaik sel dicapai (rentang kontaminan 800 ppm - 10000 ppm) pada konsentrasi 800 ppm dengan jumlah massa sel akhir sebesar 0,007079 gr/dm³. Model pendekatan secara empiris terhadap laju pertumbuhan sel pada penelitian ini mengikuti persamaan Jerusalimsky.

Kata Kunci: Bioremediasi, *Pseudomonas aeruginosa*, Iso-oktana.

Abstract

Bioremediation is an alternative way to overcome hydrocarbon waste to restore contaminated water and soil environment. Microorganism such as *Pseudomonas aeruginosa* had been used to degrade hydrocarbons compounds.

This research is a part of a bioremediation research which was conducted in Gas and Petrochemical Engineering Department. This research was conducted in a nutrient broth (NB) culture medium with shaking technique. The experiment was carried out at 35°C, rotation of 30 rpm and 1 atm pressure with iso-octane concentration variation in the range of 800 - 10000 ppm volume.

The results show that the higher contaminant concentration, the less cell mass production while the specific growth rate of *Pseudomonas aeruginosa* were at the relative same rate. The highest cell growth rate was obtained at 800 ppm with the number of final cell was 7.08 10³ gr/L. The empiric model of specific growth rate of this research is Jerusalimsky.

Keywords: Bioremediation, *Pseudomonas aeruginosa*, Iso-Octane, liquid media

1. Pendahuluan

Industri pengeboran minyak bumi dan industri hilirnya hingga ke stasiun pengisian bahan bakar umum sangat

potensial menyebabkan pencemaran air, tanah, dan udara. Salah satu bentuk pencemaran di tanah adalah tumpahan dari minyak itu sendiri termasuk pula produk ikutannya, air produksi atau kedua-duanya.

Bioremediasi merupakan proses pemulihan (remediasi) secara biologis terhadap komponen lingkungan, tanah dan air, yang tercemar oleh kegiatan manusia[1]. Proses ini merupakan salah satu dari beberapa teknologi penyehatan lingkungan yang ekonomis menggunakan mikroorganisme untuk mendegradasi minyak bumi yang dapat diisolasi dari tanah maupun air menjadi komponen yang tidak merusak lingkungan seperti CO₂, air dan mineral. Hal ini didukung oleh iklim tropis Indonesia yang lembab dan disinari oleh matahari.

Efektivitas bioremediasi ditentukan oleh berbagai faktor tertentu. Faktor efektivitas tersebut antara lain adalah konsentrasi mikroorganisme pendegradasi, konsentrasi cemaran, faktor fisik seperti suhu, dan faktor kimia seperti pH optimum, ketersediaan oksigen, dan nutrisi [2,3]. Peranan mikroorganisme pada proses bioremediasi ditingkatkan melalui penambahan beberapa senyawa kimia pembantu seperti hara, surfaktan, dan penerima elektron [4].

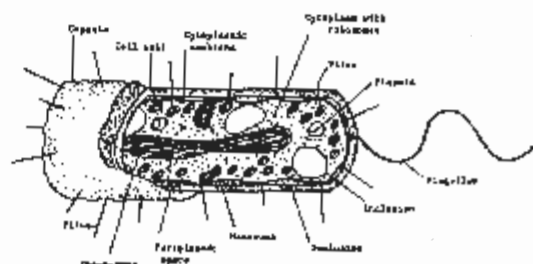
Berdasarkan hal diatas, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui kemampuan pertumbuhan bakteri pemecah minyak dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon dan faktor-faktor apa saja yang mempengaruhi proses bioremediasi tersebut. Penelitian ini merupakan salah satu bagian dari penelitian Tim Bioremediasi yang dilakukan di Departemen Teknik Gas dan Petroimia Program Studi Teknik Kimia, Universitas Indonesia.

2. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara *ex-situ* dalam media cair *Nutrient Broth* (pH = 6,1) dengan volume 30 dm³. Sampel diuji coba secara aerobik dalam bejana erlenmeyer, dilakukan pengguncangan dalam *shaker* (30 rpm) pada temperatur 35°C, 1atm selama 1,5 bulan. Semua peralatan dan media nutrisi disterilisasi menggunakan oven (125°C, 1,5 jam) dan alkohol 70%. Eksperimen dilakukan dengan

menggunakan limbah buatan, yaitu campuran isooktan dalam air, di dalam gelas Erlenmeyer (50 dm³) mengandung 800 ppm hingga 10.000 ppm volum isooktan memiliki panjang molekul sekitar 0.770 nm dan lebar 0.256 nm di dalam media *Nutrient Broth* (pepton dari daging 4,3%, pepton dari kasein 4.3% dan Sodium Klorida 6,4%). Data diambil setiap waktu tertentu dan sampling dilakukan secara duplo.

Bahan penelitian yang digunakan adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berukuran 1.5-3.0 µm yang memiliki dinding sel terdiri atas 2-3 lapis *peptidoglycan* dan berketebalan antara 2-3 nm (Gambar 1,2) [4]. Transport molekul isooktan masuk ke dalam medium cytoplasma sel dimungkinkan dengan memperhatikan perbedaan signifikan antara dimensi molecular isooktan dengan diameter pori. Isooktana tersebut didalam sel mengalami proses katabolisme menggenerasi energi dan CO₂ melalui aktivitas enzimatik yang di inisiasi dengan pembentukan beberapa enzyme pemecah isoalkana dengan memanfaatkan energi hasil katabolisme glukose atau yang sejenis, yang tersedia dalam media pertumbuhan (*Nutrient Broth*, NB).



Gambar 1.
Pseudomonas aeruginosa

Dalam penelitian eksperimental ini, bakteri yang digunakan sebelumnya telah dihitung massa kering selnya. Setelah dihitung, diambil sejumlah volume untuk dilakukan pengenceran sehingga didapatkan massa kering sel sebesar $\pm 0,000498 \text{ gr/dm}^3$, kemudian dimasukkan dalam medium NBH baru, dalam bioreaktor dengan volume total 30 ml. Semua prosedur di atas dilakukan secara aseptik dengan menggunakan bunsen spiritus untuk menghindari atau mengurangi efek kontaminasi.

Data yang diambil adalah pH (pH meter) dan *Optical Density* (Spektrofotometri) untuk mengetahui massa sel kering di dalam bioreaktor. Perhitungan Laju Pertumbuhan Spesifik dari bakteri menggunakan persamaan:

$$\mu = \frac{1}{X} \frac{dX}{dt} \quad (1)$$

dengan: X = konsentrasi biomassa (gr/volum)

μ = laju pertumbuhan spesifik (waktu⁻¹)

t = waktu

sedangkan untuk perhitungan jumlah $[\text{HCO}_3^-]$ digunakan persamaan Henderson-Hasselbach:

$$[\text{HCO}_3^-] = \left(\frac{K_{a, \text{H}_2\text{CO}_3}}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} \right) \left(\frac{[\text{H}_2\text{CO}_3]}{[\text{CO}_2] \cdot P} \right) \left(\frac{\text{EXP} \left[A_1 \left(1 - \frac{T_2}{T_1} \right) \right] \cdot B_1 \ln \left(\frac{T_2}{T_1} \right) + C_1 \left(\frac{T_2}{T_1} - 1 \right) \right)}{\text{EXP} \left[A_2 \left(1 - \frac{T_2}{T_1} \right) \right] \cdot B_2 \ln \left(\frac{T_2}{T_1} \right) + C_2 \left(\frac{T_2}{T_1} - 1 \right)} \right) \quad \dots (2)$$

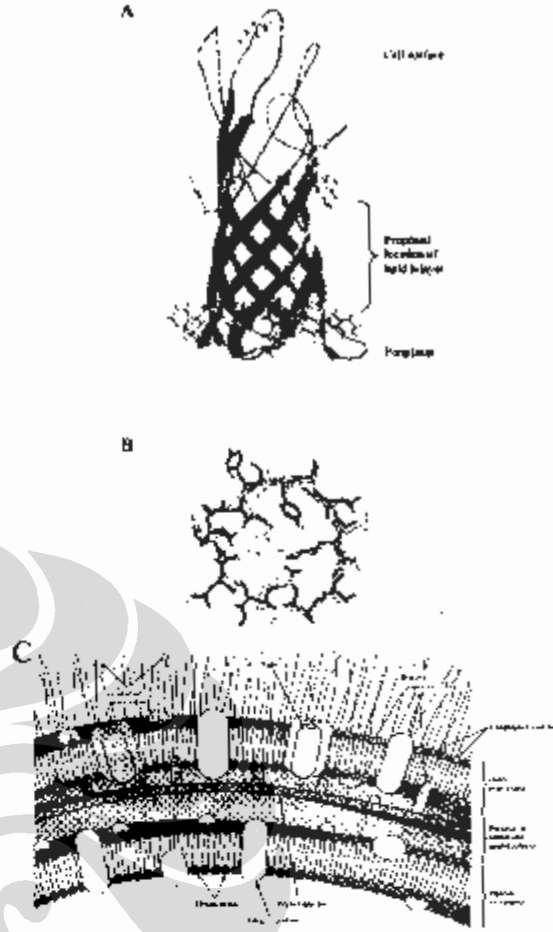
Berdasarkan studi literatur[5], untuk model pendekatan empiris yang diperkirakan mendekati adalah tiga persamaan laju pertumbuhan spesifik, yaitu:

1. Monod

$$\mu = \mu_{\text{maks}} \cdot \frac{[\text{HCO}_3^-]}{K_{a,p} + [\text{HCO}_3^-]} \quad (3)$$

2. Terusalimsky

$$\mu = \mu_{\text{maks}} \cdot \frac{[\text{HCO}_3^-]}{K_{a,p} + [\text{HCO}_3^-]} \left(1 - \frac{1}{\frac{[\text{HCO}_3^-]}{K_{a,p}}} \right) \quad \dots (4)$$



Gambar 2. Model 3 D pori pada lapis atas dan bawah dinding sel *Pseudomonas aeruginosa* (A) tampak samping, (B) potongan melintang pori dinding sel, diameter pori rata-rata sekitar 1,54 nm (C) model dinding sel

3. Haldane

$$\mu = \mu_{\text{maks}} \cdot \frac{[\text{HCO}_3^-]}{K_{a,p} + [\text{HCO}_3^-] \left(1 + \frac{[\text{HCO}_3^-]}{K_{i,p}} \right)} \quad \dots (5)$$

Ketiga persamaan di atas adalah model pendekatan yang digunakan untuk melihat korelasi antara pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dengan produk yang dihasilkannya $[\text{HCO}_3^-]$ di dalam media cair.

3. Hasil dan Pembahasan

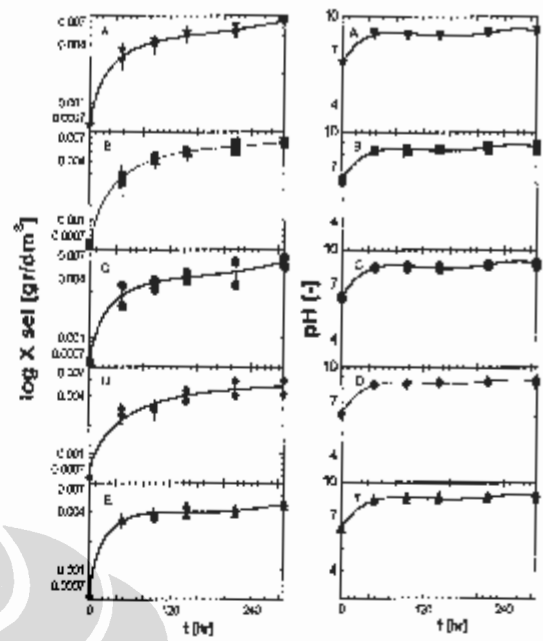
Pada penelitian yang dilakukan temperatur operasi dalam bioreaktor berlangsung pada temperatur 35°C, yaitu sesuai dengan temperatur optimal pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*

yaitu $\pm 37^{\circ}\text{C}$. Jumlah inokulum yang dimasukkan sebagai awal dari pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* di dalam bioreaktor ini adalah sebesar $\pm 0,000498 \text{ gr/dm}^3$. Secara fisik larutan medium yang berisi sejumlah sel bakteri tersebut berwarna kuning bening. Keadaan ini menunjukkan bahwa penambahan inokulum di dalam larutan medium sangat sedikit sehingga larutan tidak berwarna kuning keruh keputih-putihan. Namun di akhir proses didapat larutan kuning keruh keputih-putihan.

Pada hasil kurva pertumbuhan untuk kelima variasi (Gambar 3) dapat dilihat bahwa kelima kurva tidak menunjukkan adanya *lag phase* (fase pertumbuhan lambat), yaitu suatu fase dimana sel tersebut masih menyesuaikan diri (aklimatisasi) dengan lingkungan yang baru. Hal ini karena pertumbuhan sel bakteri yang sangat cepat dan juga pengambilan data yang berjarak 48 jam sehingga *lag phase* tidak terlihat. Pada Gambar 3 ini dapat dilihat bahwa terjadi pertumbuhan bakteri ada dalam fase log (fase pertumbuhan logaritmik) dimana sel-sel bakteri akan membelah diri pada kecepatan tinggi mengikuti persamaan eksponensial sesuai dengan kemampuannya dalam mengolah substrat yang diperlukan bagi pertumbuhannya.

Jumlah sel akhir bakteri pada kelima variasi menunjukkan perbedaan yang tidak terlalu besar. Sel akhir bakteri ada pada rentang $0,004789 \text{ gr/dm}^3$ hingga $0,007086 \text{ gr/dm}^3$. Jumlah ini dapat menunjukkan bahwa terjadi peningkatan hingga sel ada pada fase eksponensial dan juga dapat menunjukkan bahwa terjadi proses pengambilan substrat oleh sel *Pseudomonas aeruginosa*.

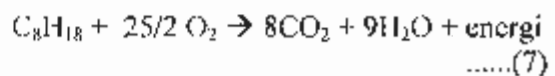
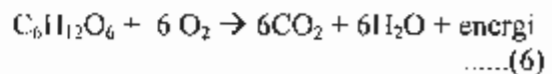
Perubahan pH dalam medium disebabkan oleh adanya aktivitas pertumbuhan sel *Pseudomonas aeruginosa* pada berbagai konsentrasi substrat sehingga mengindikasikan terjadinya peningkatan jumlah massa sel. Dari hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa peningkatan massa sel dalam medium cenderung -



Gambar 3.

Grafik Pertumbuhan Sel *Pseudomonas aeruginosa* dan Perubahan pH Terhadap Waktu dengan Variasi Kontaminan 800 ppm (A), 1600 ppm (B), 3200 ppm (C), 6400 ppm (D) dan 10000 ppm (E) dengan Range Error 10% (Warna Putih Menunjukkan Pengambilan Data 1 dan Warna Hitam Menunjukkan Pengambilan Data 2).

meningkatkan pH medium. Hal ini terjadi karena proses metabolisme substrat (glukosa maupun iso-oktan) terjadi dalam suasana basa yang berlangsung secara enzimatis dan pada akhirnya menghasilkan gas CO_2 dan H_2O (dalam bentuk HCO_3^-) terdifusi ke dalam medium melalui transfer elektron sehingga meningkatkan pH (Baker, 1994). Persamaan reaksi keseluruhan secara sederhana disajikan sebagai berikut:



Berdasarkan fenomena di atas dapat dikatakan bahwa semakin tinggi jumlah sel yang terbentuk dalam medium maka sifat larutan medium menjadi semakin basa. Kenaikkan nilai pH ini dapat dilihat pada Gambar 3 dimana kurva pH terhadap waktu memiliki kecenderungan naik pada semua

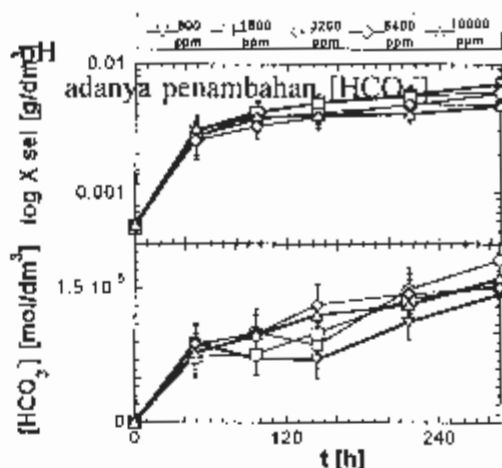
konsentrasi substrat. Maka secara tidak langsung adanya penambahan penambahan

dan terjadinya proses bioremediasi.

Sejumlah konsentrasi asam bikarbonat pada proses bioremediasi iso-oktan ini terbentuk karena adanya produk hasil respirasi bakteri CO_2 dan H_2O dalam pH tinggi. Perhitungan terhadap besarnya $[\text{HCO}_3^-]$ dimaksudkan untuk mengetahui jumlah $[\text{HCO}_3^-]$ yang dihasilkan oleh sel *Pseudomonas aeruginosa* dalam pertumbuhannya.

Jika kita bandingkan antara kedua kurva pada Gambar 4 antara massa sel yang diperoleh dengan besarnya $[\text{HCO}_3^-]$ yang terlarut di dalam medium, dapat dikatakan bahwa peningkatan sel pada awal fase akan menyebabkan peningkatan $[\text{HCO}_3^-]$ dalam larutan medium. Hal ini ditandai dengan peningkatan $[\text{HCO}_3^-]$ yang dihasilkan di awal proses tersebut. Kemudian seiring bertambahnya waktu dengan adanya kenaikan jumlah sel menyebabkan akumulasi $[\text{HCO}_3^-]$ pada medium. Pada Gambar 4 dapat dilihat bahwa peningkatan $[\text{HCO}_3^-]$ berbanding lurus dengan jumlah massa sel.

Bila dilihat dari Gambar 4 kurva penambahan massa sel ada pada fase log atau eksponensial (pada jam ke 0 hingga 48) dimana pertumbuhannya mengalami perbedaan yang signifikan. Dari grafik bisa dikatakan bahwa pertumbuhan sel akan mulai mengalami fase log hingga jumlah $[\text{HCO}_3^-]$ antara $7,13 \cdot 10^{-6} \text{ mol/dm}^3 - 8,40 \cdot 10^{-6} \text{ mol/dm}^3$. Kemudian diikuti dengan fase stasioner dimana laju pertumbuhan sel menghasilkan jumlah sel yang tidak terlalu berbeda pada jumlah $[\text{HCO}_3^-]$ antara $7,021 \cdot 10^{-6} - 1,04 \cdot 10^{-5}$ hingga $1,43 \cdot 10^{-5} - 1,82 \cdot 10^{-5}$. Akan tetapi kurva pertumbuhan sel ini belum bisa dikatakan telah memasuki fase kematian. Oleh karena itu perlu dilakukan pengambilan data lebih lanjut untuk melihat pengurangan jumlah massa sel.



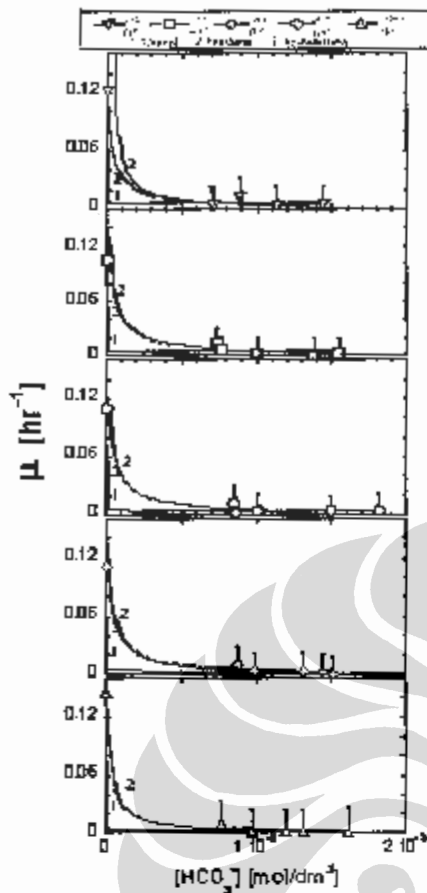
Gambar 4.

Grafik Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dan $[\text{HCO}_3^-]$ Terhadap Waktu dengan Variasi Kontaminan 800 ppm (A), 1600 ppm (B), 3200 ppm (C), 6400 ppm (D) dan 10000 ppm (E) dengan Range Error 10%

Bila dikaitkan dengan hasil pertumbuhan sel yang terjadi maka dapat dikatakan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* mampu mendegradasi substrat iso-oktan hingga konsentrasi 10000 ppm. Semakin tinggi jumlah sel yang dihasilkan maka semakin besar pula $[\text{HCO}_3^-]$ yang dihasilkan.

Model pendekatan pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dibuat sebagai upaya untuk melihat prediksi sederhana secara empiris korelasi antara pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* tersebut dengan produk yang dihasilkannya $[\text{HCO}_3^-]$ di dalam medium. Hasil yang diperoleh dari pendekatan terhadap model-model persamaan di atas dapat dilihat pada Gambar 5.

Alasan pemilihan terhadap persamaan-persamaan tersebut adalah berdasarkan prediksi terhadap kecenderungan kurva dari hasil penelitian yang diperoleh. Dari hasil yang diperoleh pada Gambar 5, dapat dilihat bahwa hasil pendekatan secara empiris yang diperoleh dari pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dalam skala laboratorium mengikuti model persamaan yang melibatkan pengaruh penghambatan produk (inhibisi produk). Dalam hal ini pendekatan yang terbaik adalah *terusatimsky*.



Gambar 5.

Korelasi Produksi Bikarbonat [HCO₃⁻] vs Laju Pertumbuhan Spesifik μ_{max} dengan Range Error 15%

Kegunaan dari pendekatan model empiris ini adalah agar nantinya kita dapat dengan mudah membuat suatu sistem bioremediasi dengan menggunakan *Pseudomonas aeruginosa* berdasarkan persamaan yang mewakili laju pertumbuhan dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tersebut. Korelasi antara konstanta inhibisi dan aktivasi oleh pembentukan produk adalah sebagai berikut:

$$K_{a,p} = 1 + (B \cdot C_0^n) \quad (8)$$

$$K_{i,p} = \frac{1}{1 + (A \cdot C_0^m)} \quad (9)$$

dengan: $A = 6,89 \cdot 10^{-7}$ $n = 0,346$
 $B = -1$ $m = -6,81 \cdot 10^{-9}$

Korelasi ini dapat memprediksi laju pertumbuhan dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terhadap variasi iso oktan pada rentang 800 – 10000 ppm.

4. Kesimpulan

Dari percobaan ini dapat disimpulkan beberapa hal:

1. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat tumbuh dan berkembang dalam rentang konsentrasi iso-oktana 800 - 10000 ppm volum dengan kondisi operasi 35°C, 1 atm dengan pengaruh pengguncangan 30 rpm dalam media cair. Pada rentang tersebut pertumbuhan terbaik adalah pada konsentrasi sebesar 800 ppm.
2. Adanya pertumbuhan sel dapat dilihat dari parameter jumlah massa sel yang meningkat, kenaikan nilai pH dan jumlah konsentrasi bikarbonat yang terdifusi ke dalam media cair sebagai produk.
3. Pengaruh peningkatan konsentrasi substrat pada rentang 800 – 10000 ppm menunjukkan jumlah massa bakteri mengalami pengurangan dengan laju spesifik yang tidak terlalu berbeda.
4. Model pendekatan secara empiris yang diperoleh dari pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* pada remediasi substrat iso-oktan ini dalam skala laboratorium mengikuti persamaan *Ierusalimsky*.

Daftar Pustaka

1. Baker, H. Katherine dan Diane S. Herson. Bioremediation. 1994. McGraw-Hill.
2. Metcalf & Eddy, 2000, Waste Water Treatment Engineering, Treatment Disposal Reuse, McGraw-Hill International Edition, 3rd.
3. Udiharto, M., 1992, "Aktivitas Mikroba dalam Degradasi Minyak Bumi", dalam Proceedings Diskusi Ilmiah VII Hasil Penelitian LEMIGAS, Februari. PPP'IMGB "LEMIGAS" Jakarta.

4. Cookson, Jr. J.T. 1995. *Bioremediation Engineering: Design and Application*. New York: McGraw-Hill, Inc.
5. Schugerl, K., Bellgardt, K.H., 2000, *Bioreaction Engineering, Modeling and Control*, ISBN 3-540-66906-X Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.
6. Said, E. Gumbira dan Anas M. Fauzi, "Bioremediasi dengan Mikroorganisme", dalam *Proceeding Peranan Bioremediasi dalam Pengelolaan Lingkungan*. Cibinong, 24-28 Juni 1996. LIPi.

