5

PENGEMBANGAN LOGAM BERAT TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI PENDEGRADASI MINYAK DIESEL

Oleh

Mohamad Yani

Ratna M. Kurniasari

Seminar Nasional

Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia (PERMI)

Purwokerto, 22-23 Agustus 2008

Departemen Pendidikan Nasional
Fakultas Teknologi Pertanian - Institut Pertanian Bogor
DEPARTEMEN TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN
Kampus IPB Darmaga P.O. Box 220 Bogor 16002, Telp./Fax. (0251) 621974

Surat Pendokumentasian Karya Ilmiah
Nomor : 239 /I3.6.3 /PP/2009

Karya ilmiah/hasil penelitian atau hasil pemikiran yang tidak dipublikasikan, dengan judul :

PENGEMBANGAN LOGAM BERAT TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI PENDEGRADASI MINYAK DIESEL. 2008

Penulis : Mohamad Yani, Ratna M. Kurniasari

Didokumentasikan di Departemen Teknologi Industi Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor

Ketua

Prof. Dr. Ir. Nastiti Siswi Indrasti
NIP. 131841749

Seminar Nasional Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia (PERMI)
Purwokerto, 22-23 Agustus 2008.

PENGARUH LOGAM BERAT TERHADAP PETUMBUHAN BAKTERI PENDEGRADASI MINYAK DIESEL
EFFECT OF HEAVY METALS TO GROWTH OF DIESEL OIL DEGRADER BACTERIA

Mohamad Yani and Ratna M. Kurniasari

Laboratory of Environmental, Technique and Management. Agroindustrial Department
Bogor Agricultural University. Kampus IPB, Darmaga, Bogor 16680
Telp./Fax. 62-251-8625088, e-mail : mohyani@ipb.ac.id

ABSTRACT

The objective of this research is to assess the effect of heavy metals to growth of diesel degrading microbes. The heavy metals tested were zinc, plumbum, iron and mercury. The toxicity heavy metals have been tested gradually untill the growth of isolates were inhibited at certain concentration of heavy metals. The mixed culture of *Pseudomonas pseudomallei* and *Enterobacter agglomerans* have toleranced to higher of heavy metals such as Zn, Pb, Fe up to 8000 ppm, while 150 ppm for Hg. Mixed culture total counting reach to 10^6 - 10^7 cfu/ml. For mixed culture, optimal removal of heavy metals (Zn and Hg; 92 % and 71 % respectively) obtained at concentration of 2000 ppm of Zn and 3000 ppm of Pb.

Keywords : heavy metals, mixed culture, removal

PENDAHULUAN

Minyak bumi merupakan sumber energi konvensional yang digunakan dalam industri modern. Tetapi bila tumpah atau terbuang ke lingkungan, minyak tersebut akan menjadi pencemar yang berbahaya. Tumpahan atau buangan minyak bumi dapat terjadi selama kegiatan industri perminyakan, mulai dari eksplorasi, eksploitasi, pengolahan sampai pengangkutan (Udiharto, 1996).

Limbah yang dihasilkan dari pengolahan minyak bumi juga mengandung logam-logam berat yang dapat mengkontaminasi lingkungan (Darmono, 1995). Logam berat, seperti arsenik, timbal, kadmium, merkuri dan seng berbahaya bagi kesehatan manusia dan kelangsungan kehidupan di lingkungan. Contoh kasus pencemaran yang telah terjadi misalnya tercemarnya teluk Balikpapan dimana pencemaran logam yang mencapai lima kali di atas ambang batas toleransi, sedangkan kadar minyak mencapai 10 - 20 kali lipat dibandingkan batas toleransi minyak yang sebesar 0.002 mg/m^3

Menurut Udiharto (1996) bahan-bahan yang tahan terhadap pengaruh kimia seperti minyak bumi dapat diuraikan oleh mikroorganisme menjadi bahan yang lebih sederhana sehingga dapat didegradasi menjadi CO_2 dan H_2O. Bioremediasi relatif memiliki biaya penanganan yang lebih murah dibandingkan dengan alternatif metode lainnya.

BAHAN DAN METODE

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah nutrien agar, alkohol, spirtus, media CMSC (*Carbon Minimal Salts Culture)*, media Luria Bertani (LB), logam berat Zn, Pb, Fe dan Hg, minyak diesel, aquades dan garam fisiologis. Stok isolat, dilakukan penyegaran dengan menumbuhkannya pada media LB.

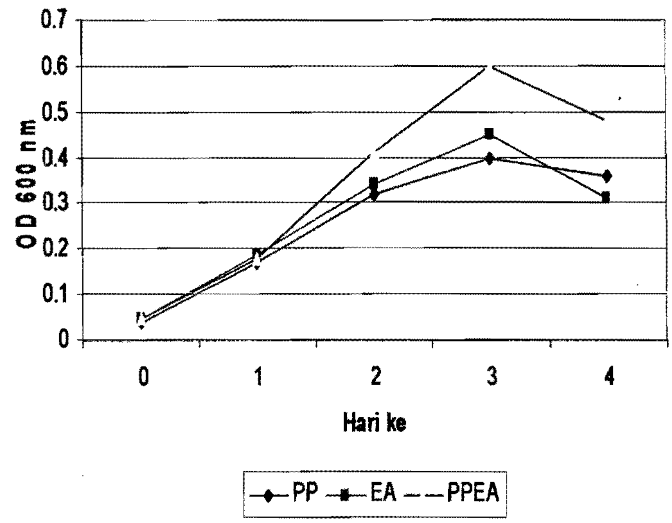
Untuk mengetahui pengaruh logam berat terhadap pertumbuhan mikroorganisme dilakukan penambahan logam berat (Fe, Zn, Pb dan Hg) dalam media CMSC dengan penambahan minyak diesel 10%. Isolat murni *Pseudomonas pseudomallei* dan *Enterobacter agglomerans* yang telah disegarkan, ditumbuhkan di dalam 20 ml media tersebut. Penambahan logam berat dalam berbagai konsentrasi dilakukan secara bertahap dalam interval tertentu. Pengamatan dilakukan terhadap pertumbuhan bakteri meliputi jumlah sel dan *Optical density* dan biomassa kering.

Interaksi antara logam Zn (1000 – 3800ppm) dan Pb (1200-3000ppm), dilakukan dengan mengambil 10 titik awal sebagai titik acuan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap pertumbuhan bakteri tersebut. Nilai-nilai tersebut diperoleh dari hasil penelitian pendahuluan tentang pengaruh masing- masing logam Zn dan Pb terhadap nilai *optical density* (OD) dan nilai *total plate count* (TPC).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pemeliharaan Isolat dan Degradasi Minyak Diesel

Pemeliharaan isolat bakteri dilakukan untuk meningkatkan kemampuan dan jumlah sel, sebelum dilakukan penambahan logam berat. Pengamatan dilakukan setiap hari terhadap kekeruhan yang terjadi dibandingkan kontrol. Terjadinya kekeruhan menunjukkan bahwa isolat tersebut mengalami pertumbuhan dan mampu memanfaatkan sumber karbon yang berasal dari minyak diesel, yang berarti mampu mendegradasi minyak diesel.

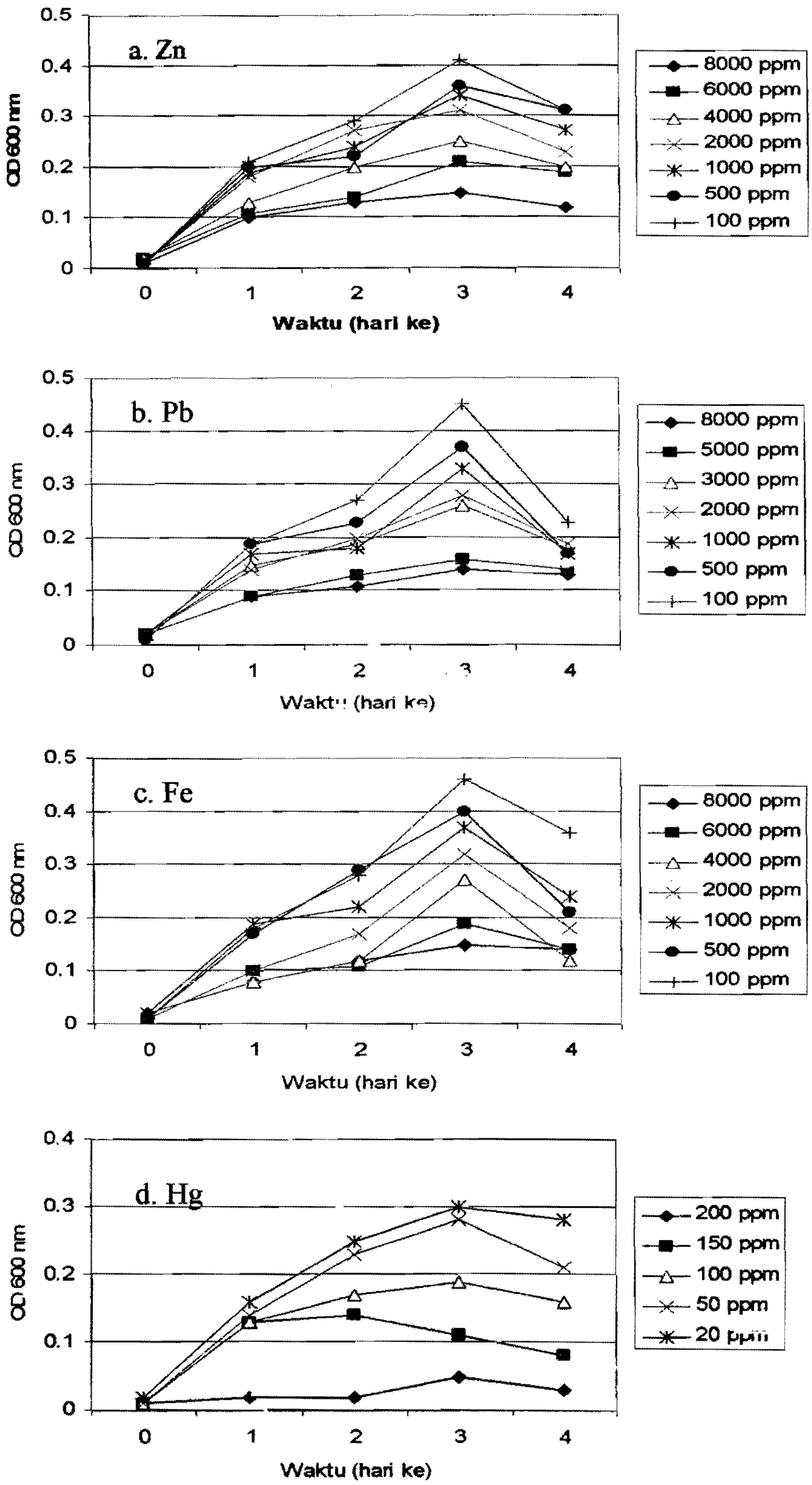


Gambar1. Pertumbuhan Bakteri Pada Konsentrasi 10 % Minyak Diesel.

Isolat *Pseudomonas pseudomallei* (PP) dan *Enterobacter agglomerans* (EA) mampu tumbuh hingga 10^{12} sel/ml dan kombinasi isolat (PPEA) mampu tumbuh hingga 10^{13} sel/ml, dengan OD mencapai maksimum 0.6 (Gambar 1).

2. Pengaruh Logam Berat Pada Pertumbuhan Bakteri

Pada konsentrasi 100 ppm Zn kombinasi PPEA memiliki jumlah sel mencapai 9.8×10^{10} sel/ml. Umumnya pertumbuhan mikroorganisme akan terhambat dengan kenaikan konsentrasi logam. Pada konsentrasi Zn diatas 4000 ppm, isolat tidak mengalami pertumbuhan yang berarti, bahkan tidak mampu tumbuh sama sekali pada konsentrasi 10000 ppm Zn (Gambar 2a). Logam Zn dapat menyebabkan kerusakann sel yang serius karena mempunyai afinitas yang tinggi dengan gugus fosfat seperti ADP dan ATP (Roane dan Pepper, 2000).



Gambar 2. Pertumbuhan PPEA Pada Berbagai Konsentrasi Logam (a) Zn, (b) Pb, (c) Fe dan (d) Hg Dengan Penambahan 10% Minyak Diesel.

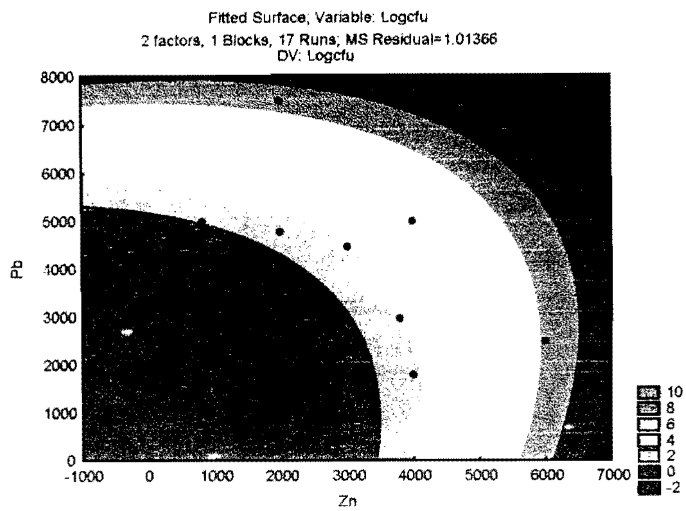
Pada konsentrasi 100 ppm Pb, PPEA memiliki jumlah sel mencapai $8.1x10^{10}$ sel/ml. Pada konsentrasi Pb diatas 5000 ppm, isolat tidak mengalami pertumbuhan yang signifikan dan tidak mampu tumbuh sama sekali pada konsentrasi 10000 ppm Pb (Gambar 2b). Logam Pb dapat menyebabkan toksik pada mikroorganisme, karena mampu menempati ion-ion logam esensial yang digunakan untuk metabolisme sel. Logam Pb dapat berikatan dengan gugus sulfidril (-SH), dan mengakibatkan kerusakan pada protein (Wong *et al.*, 2002).

Pada konsentrasi 100 ppm Fe, kombinasi PPEA memiliki jumlah sel mencapai $4.1x10^{11}$ sel/ml. Konsentrasi maksimum hingga kedua isolat tersebut tidak mampu tumbuh dicapai pada 10000 ppm Fe (Gambar 2c). Menurut Ford dan Mitchell (1992), Fe^{3+} dapat diakumulasi oleh bakteri yang mempunyai komponen organik yang disebut dengan siderophorus. Siderophorus terdiri dari gugus hidroksil (-OH) yang berasosiasi dengan molekul nitrogen dan mempunyai afinitas tinggi terhadap kehadiran Fe^{3+} dengan membentuk pengkelat. *Pseudomonas* sp. merupakan salah satu bakteri yang memiliki siderophorus.

Logam Hg merupakan logam yang paling toksik terhadap pertumbuhan kombinasi isolat PPEA. Pada konsentrasi antara 20 ppm hingga 50 ppm Hg, kombinasi PPEA memiliki jumlah sel antara 10^7-10^8 sel/ml. Pada konsentrasi 200 ppm Hg, isolat tidak mampu tumbuh lagi (Gambar 2d). Bakteri resisten Hg menghasilkan enzim lyase organomerkuri yang dapat memutuskan ikatan C-Hg dan enzim merkuri reduktase yang mereduksi Hg^{2+} yang bersifat toksik menjadi Hg^0 yang bersifat lebih tidak toksik dan volatil (Gadd, 1990)

3. Interaksi Antara Logam Seng (Zn) dan Timbal (Pb)

Pertumbuhan isolat PPEA dapat digambarkan dengan jelas melalui grafik konturnya. Berdasarkan grafik diatas, pertumbuhan PPEA menuju nilai maksimum ke arah sudut kiri bawah dengan pertumbuhan maksimumnya mencapai 10^{10} sel/ml. Gambar kontur bewarna hijau muda menunjukkan bahwa pertumbuhan PPEA turun hingga mencapai 10^6 sel/ml dan warna merah menunjukkan tidak ada lagi pertumbuhan yang terjadi akibat interaksi antara logam Zn-Pb (Gambar 3).



Gambar 3. Kontur Interaksi Zn-Pb pada Nilai Log CFU.

Isolat PPEA mampu mengakumulasi logam Zn sebesar 92.1 % dan logam Pb 71.32 %, pada konsentrasi awal sebesar 100 ppm (Table 2). Setiap jenis bakteri mempunyai mekanisme yang berbeda dalam merespon logam. *Pseudomonas marginalis* mampu merespon kehadiran logam dengan memproduksi sejumlah besar polimer ekstraseluler, sedangkan *Bacilllus megaterium* mempunyai kemampuan mengakumulasi logam secara intraseluler di sitoplasma (Roane dan Pepper, 2000). Sel bakteri sangat berlimpah sisi-sisi yang mengandung muatan negatif yang terletak pada dinding selnya, seperti fosforifil (PO_4^{3-}) karboksil (COO^-), sulfidril (SH) dan hidroksil (OH^-), sehingga akan terjadi interaksi ion logam dengan muatan negatif tersebut.

Tabel 2. Penyerapan (akumulasi logam) Zn dan Pb oleh Bakteri PPEA

Perlakuan	Kons. akhir Zn (ppm)	Zn (%) absrob	Kons. akhir Pb (ppm)	Pb (%) absorb
	(Awal 100)		(Awal 100)	
Ulangan 1	5.0	93.9	23.9	71.1
Ulangan 2	9.0	89.1	23.6	71.5
Rata-rata	7.0	91.5	23.75	71.3
Kontrol	82.3		82.8	

Metabolisme internal logam berat pada mikroorganisme dapat juga melalui mekanisme penjebakan atau terikat dengan intraseluler polimer seperti metalotionein. Menurut Lasut (2002), metallothionein merupakan protein pengikat logam (metal-binding protein) yang berfungsi dan berperan dalam proses pengikatan atau penyekapan logam di dalam jaringan setiap mahluk hidup. Protein ini mengandung kelompok 'thiol' (-SH) dalam jumlah yang besar. Kelompok ini mengikat logam-logam berat sangat kuat, khususnya merkuri (Hg), kadmium (Cd), perak (Ag) dan seng (Zn).

Pseudomonas aeroginosa akan terhambat pertumbuhannya pada saat konsentrasi antara 1800 ppm hingga 3200 ppm Zn dan 3100 ppm Pb (Teitzel dan Parsek, 2003). Menurut Dopson *et al.* (2003), *Acidimicrobium ferrooxidans* akan mengalami lisis ketika ditambahkan logam Fe sebesar 20000 ppm, sedangkan *L. ferrooxidans* dan *Acidimicrobium cryptum* tahan terhadap logam Fe hingga konsentrasi 28000 ppm dan menurut Canstein *et al.* (1999), *Pseudomonas putida* mempunyai toleransi terhadap logam Hg hingga konsentrasi 9 ppm. Diatas konsentrasi tersebut, *Pseudomonas putida* akan mengalami penghambatan pertumbuhan. Handayani (2001), melakukan penelitian tentang bakteri *Pseudomonas* sp. yang mampu mereduksi logam Hg sebesar 94,7% hingga 97,8% pada konsentrasi logam Hg awal sebesar 120 ppm

KESIMPULAN

Isolat *Pseudomonas pseudomallei* dan *Enterobacter agglomerans* mempunyai toleransi terhadap keberadaan logam berat, khususnya Zn, Pb, Fe dan Hg. Pada penambahan logam Zn hingga konsentrasi 2000 ppm, Pb 3000 ppm, Fe 4000 ppm dan Hg 50 ppm isolat masih mampu tumbuh sebesar 10^6 - 10^7 cfu/ml. Isolat masih mampu tumbuh hingga konsentrasi 8000 ppm Zn, Pb dan Fe, serta pada konsentrasi Hg 150 ppm.

Pengaruh konsentrasi dua logam, yaitu Zn dan Pb terhadap pertumbuhan isolat menunjukkan bahwa isolat PPEA mampu tumbuh hingga 10^8 cfu/ml pada konsentrasi Zn 2000 ppm + Pb 3000 ppm. Kombinasi isolat PPEA mampu menurunkan konsentrasi logam Zn dalam media sebesar 92.1% dan menurunkan konsentrasi logam Pb sebesar 71.32%, pada konsentrasi awal 100 ppm Zn maupun Pb.

DAFTAR PUSTAKA

Anggraeni, D. 2003. Isolasi dan Karakteristik Mikroorganisme Pendegradasi Minyak Diesel dari Kotoran Hewan (Skripsi). FATETA IPB, Bogor.

Canstein, H. von, Y. Li, K. N. Timmis, W.D. Deckwer dan I. Wagner-Döbler. 1999. Removal of Mercury from Chloralkali Electrolysis Wastewater by a Mercury-Resistant *Pseudomonas putida* Strain. Appl Environ Microbiol. 1999 December; 65(12): 5279–5284.

Darmono. 1995. Logam Dalam Sistem Biologi Mahluk Hidup. UI-Press, Jakarta.

Dopson, M., C. Baker-Austin, P. Ram Koppineedi dan P. L. Bond. 2003. Growth In Sulfidic Mineral Environments: Metal Resistance Mechanisms In Acidophilic Micro-Organisms. Microbiology 149 (2003), 1959-1970.

Ford, T.E. and R. Mitchell. 1992. Microbial Transport of Toxic Metal. In. Environmental Microbiology. John Wiley-Liss New York. 83-101.

Gadd, G.M. 1990. Metal Tolerance. *In*. C. Edwards (ed). Microbiology of Extreme Environment. Mc. Graw Hill. New York.P. 178-210.

Handayani, E.P. 2001. Karakterisasi dan Uji Aktivitas *Pseudomonas sp* dan *Flavobacterium sp* Pereduksi Merkuri asal Pongkor dan Kalimantan Tengah (Tesis). IPB, Bogor.

Gumbira Said, E. 1987. Bioindustri Penerapan Teknologi Fermentasi. PT Mediyatama Sarana Perkasa, Jakarta.

Lasut, M. T. 2002. 'Metallothionein': Suatu Parameter Kunci Yang Penting Dalam Penetapan Baku Mutu Air Laut (BMAL) Indonesia. http://tumoutou.net/Metallothionein.pdf.search='logam'. diakses tanggal 5 Agustus 2005.

Obire, O dan Aguda, M.2002. Bacterial Community of Leachate from a Waste-Dump and an Adjacent Stream. Journal of Applied Sciences & Environmental Management, Vol. 6, No. 2, Dec, 2002, pp. 71-75.

Roane,T.M. dan I.L. Pepper. 2000. Microorganism and Metal Pollution. In. Environmental Microbiology. Edited By R.M. Maier, I.L. Pepper& C.P. Gerba. Academic Press. London. Pp 403-422.

Teitzel, G. M. dan M. R. Parsek. 2003. Heavy Metal Resistance of Biofilm and Planktonic *Pseudomonas aeruginosa.* Applied and Environmental Microbiology, April 2003, p. 2313-2320, Vol. 69, No. 4.

Udiharto, M. 1996. Bioremediasi Minyak Bumi. Prosiding Pelatihan dan Lokakarya " Peranan Bioremediasi dalam Pengelolaan Lingkungan", Cibinong 24-28 Juni 1996. LIPI-BPPT-HSF.

Wong, C., N. Renninger dan C. Gong. 2002. Cadmium Bioremediation. http:/www.ochemberkeley.edu/research/Cd Precipitation.html. diakses tanggal 10 Mei 2005.