PEMANFAATAN TETES TEBU (MOLASES) DAN UREA SEBAGAI SUMBER KARBON DAN NITROGEN DALAM PRODUKSI ALGINAT YANG DIHASILKAN OLEH BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*

Desniar[*)]

Abstrak

Alginat merupakan salah satu produk yang dihasilkan dari ekstrak rumput laut kelas Phaeophyceae. Alginat mempunyai nilai ekonomis tinggi. Alginat juga diproduksi oleh bakteri *Azotobacter vinelandii* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Tetes tebu dan urea masing-masing dapat digunakan sebagai sumber karbon dan nitrogen dalam produksi alginat oleh *P. aeruginosa*. Penelitian ini bertujuan mencari komposisi media terbaik dari konsentrasi yang dicobakan untuk produksi alginat oleh *P. aeruginosa*. Perlakuan yang dicobakan adalah kombinasi konsentrasi tetes tebu 1%, 5%, 10% dan 15% (w/v) (tanpa pemucatan maupun dengan pemucatan) dan konsentrasi urea 0,25 dan 0,50 g/l. Fermentasi dilakukan menggunakan labu kocok dengan *waterbath shaker* pada suhu 37^{o}C dan agitasi 150 rpm selama 96 jam. Pengaruh perlakuan terhadap pH, pertumbuhan dan konsentrasi alginat dianalisis dengan menghitung rata-rata respon menggunakan standar deviasi yang selanjutnya dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi tetes tebu dapat meningkatkan biomassa kering dan konsentrasi alginat, sedangkan peningkatan konsentrasi urea tidak berpengaruh terhadap konsentrasi alginat akan tetapi dapat meningkatkan bobot biomassa kering baik pada tetes tebu tanpa pemucatan maupun dengan pemucatan. Tetes tebu yang mengalami pemucatan menghasilkan pertumbuhan yang lebih baik dan produk alginat yang lebih bersih dibandingkan dengan tetes tebu tanpa pemucatan.

Kata kunci : Alginat, *Pseudomonas aeruginosa*, tetes tebu.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Alginat merupakan salah satu produk yang dihasilkan dari ekstraksi rumput laut kelas Phaeophyceae. Alginat mempunyai nilai ekonomis tinggi. Alginat dapat juga diproduksi oleh bakteri. Alginat berbentuk polisakarida yang banyak digunakan di Indonesia, tapi sampai saat ini Indonesia belum mampu memenuhi kebutuhan sendiri, sehingga sampai sekarang sebagian besar alginat masih diimpor.

Linker dan Jones (1964) yang dikutip oleh Fyfe dan Govan (1983) pertama kali melaporkan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan beberapa galur *Azotobacter vinelandii* (Jarman, *et al.*, 1978) dapat menghasilkan alginat yang sama baiknya dengan alginat yang berasal dari rumput laut.

Selama ini medium fermentasi yang sering digunakan untuk produksi alginat baik oleh bakteri *A. vinelandii* maupun *P. aeruginosa* adalah media sintetis. Tetes

*) Staf Pengajar Departemen THP FPIK-IPB

tebu merupakan hasil samping industri gula yang mengandung senyawa nitrogen, *trace element* dan kandungan gula yang cukup tinggi terutama kandungan sukrosa sekitar 34% dan kandungan total karbon sekitar 37% (Suastuti, 1998). Urea digunakan sebagai media sumber nitrogen untuk menggantikan media sumber nitrogen lainnya seperti ekstrak khamir dan pepton. Urea mudah didapatkan sebagai pupuk tanaman dan harganya lebih murah.

Penelitian ini bertujuan mencari komposisi media yang baik untuk produksi alginat dari *P. aeruginosa* dengan menggunakan substrat tetes tebu (baik tanpa pemucatan maupun dengan pemucatan) dan urea.

METODOLOGI

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, tetes tebu dan urea. Bahan kimia yang digunakan adalah : gliserol, sukrosa, K_2HPO_4, $MgSO_4.7H_2O$, $ZnSO_4.7H_2O$, $MnSO_4.7H_2O$, $FeSO_4.7H_2O$, Na_2CO_3, $CuSO_4.5H_2O$, NaCl, bacto agar, ekstrak khamir, etanol 96%, H_2SO_4 pekat, fenol, akuades, spiritus, HCl, kapas, tissue, alumunium foil dan NaOH. Alat-alat yang digunakan antara lain meliputi *shaker*, spektrofotometer, pH meter, ependorf, desikator, autoklaf, labu erlenmeyer, ose, *vortex mixer*, pipet, inkubator, timbangan, sentrifuge, oven, pompa vacum, saringan vacuum *freezer* dan alat gelas lainnya.

Metode penelitian ini terdiri dari dua tahapan, yaitu tahap persiapan dan tahap produksi. Pada tahap persiapan dilakukan pembuatan kultur stok, perlakuan awal tetes tebu (Firdanianti, 1995) dan urea serta penentuan waktu propagasi. Tahap produksi meliputi pembuatan media (tanpa pemucatan dan dengan pemucatan), pembuatan inokulum dan fermentasi.

Media fermentasi menggunakan tetes tebu tanpa pemucatan dan pemucatan yang ditanbah dengan urea. Konsentrasi tetes tebu yang digunakan adalah 1%, 5%, 10% dan 15% sedangkan konsentrasi urea adalah 0,25 g/l dan 0,50 g/l. Kemudian semua media ditambah dengan *trace element.*

Produksi alginat dilakukan dalam labu erlenmeyer 250 ml dengan volume kerja 150 ml. Perlakuan yang dicobakan dalam penelitian ini adalah kombinasi konsentrasi tetes tebu dan urea. Fermentasi dilakukan dalam *waterbath shaker* dengan suhu 37^{o}C dan agitasi 150 rpm. Fermentasi dilakukan selama 96 jam dengan pengamatan setiap 0,3,6,9,12,18,24,36,48,60,72,84 dan 96 jam lama inkubasi.

Pengumpulan data untuk analisis selama fermentasi dilakukan dengan cara: (1) Pengukuran pH cairan fermentasi; (2) Pengukuran pertumbuhan sel dengan menggunakan metode kerapatan optik (OD_{640}) yang dikonversi dalam bobot kering biomassa; (3) Pengukuran konsentrasi alginat yang dihasilkan. Analisa data yang digunakan adalah menggunakan standar deviasi yang hasilnya dianalisa secara deskriptif. Analisa ini akan menggambarkan kecenderungan yang terjadi pada perlakuan yang diberikan yaitu konsentrasi tetes tebu dan urea.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pola Perubahan pH

Hasil pengamatan pH cairan kultur pada perlakuan tanpa pemucatan berkisar antara 4,21 – 8,42, sedangkan pada perlakuan pemucatan berkisar antara 3,30 – 7,55. Secara umum hasil pengukuran pH menunjukkan bahwa semua perlakuan kombinasi konsentrasi tetes tebu dan urea memperlihatkan kecenderungan yang sama yaitu penurunan pH terjadi pada awal fermentasi setelah itu pH cenderung meningkat kembali, kecuali pada perlakuan pemucatan pada konsentrasi tetes tebu 10% dan 15%, dimana awal fermentasi cenderung stabil kemudian menurun.

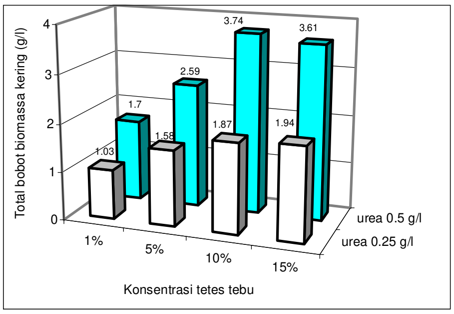
Jenkins (1992) menyatakan bahwa jika sumber karbon yang paling besar didalam kultur medium adalah suatu karbohidrat maka pH akan turun selama pertumbuhan eksponensial dibawah kondisi aerob. Beberapa organisme menghasilkan senyawa metabolisme seperti asam asetat dan piruvat dengan adanya gula berlebih. Asam organik jika berdisosiasi dalam air akan menghasilkan H^+ yang dapat menurunkan pH cairan kultivasi. Peningkatan nilai pH cairan kultur disebabkan oleh pengunaan urea sebagai sumber nitrogen. Kenaikan pH disebabkan oleh terakumulasinya bahan-bahan alkalin hasil metabolisme urea.

Pola Pertumbuhan *P. aeruginosa* Selama Fermentasi.

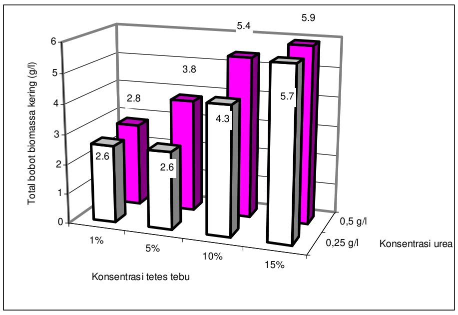
Pertumbuhan sel dapat dibuktikan dengan peningkatan bobot biomassa kering yang dihasilkan selama fermentasi. Pola pertumbuhan atau pembentukan bobot biomassa kering selama berlangsungnya fermentasi pada berbagai kombinasi konsentrasi tetes tebu dan urea baik pada perlakuan tanpa pemucatan maupun pemucatan menunjukkan pola yang sama yaitu memiliki tiga fase pertumbuhan (fase adaptasi, eksponensial dan stasioner)

Fase adaptasi terjadi sampai 3 jam lama kultivasi, kemudian diikuti oleh fase eksponensial sampai jam ke 12 lama kultivasi pada medium tetes tebu 1%, jam ke 48 atau 60 lama kultivasi pada tetes tebu 5% dan jam ke 60 atau 72 pada tetes tebu 10% dan 15% pada semua konsentrasi tetes tebu yang dicobakan. Setelah itu masing-masing diikuti oleh fase stasioner setelah akhir fase eksponensial.

Pengaruh konsentrasi tetes tebu dan urea terhadap bobot kering biomassa pada perlakuan tanpa pemucatan dapat dilihat pada Gambar 1, sedangkan perlakuan pemucatan pada Gambar 2.



Gambar 1. Pengaruh konsentrasi tetes tebu dan urea terhadap total peningkatan bobot biomassa kering pada perlakuan tanpa pemucatan



Gambar 2. Pengaruh konsentrasi tetes tebu dan urea terhadap total peningkatan bobot biomassa kering pada perlakuan pemucatan

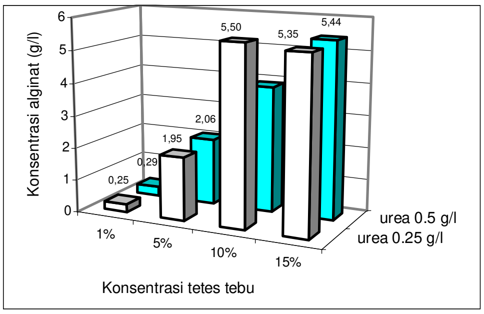
Gambar 1 dan 2 menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi tetes tebu sampai 15% pada konsentrasi urea 0,25 dan 0,50 g/l dapat meningkatkan bobot biomassa kering bakteri. Peningkatan tersebut disebabkan oleh substrat yang dikonversi bakteri menjadi biomassa cukup besar. Akan tetapi konsentrasi yang berlebihan dapat menghambat pertumbuhan biomassa dan polisakarida. Peningkatan konsentrasi urea dari 0,25 menjadi 0,50 g/l pada masing-masing konsentrasi tetes tebu yang dicobakan baik pada perlakuan tanpa pemucatan maupun dengan pemucatan dapat meningkatkan bobot biomassa kering bakteri. Urea berfungsi sebagai sumber nitrogen. Sumber nitrogen meskipun dibutuhkan untuk pertumbuhan dan pembentukan polisakarida, akan tetapi kelebihan nitrogen pada umumnya dapat mengurangi konversi substrat menjadi polisakarida (Kang dan Cottrell, 1979). Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi urea dari 0,25 menjadi 0,50 g/l belum berlebihan.

Bobot biomassa kering yang dihasilkan pada perlakuan tanpa pemucatan berkisar antara 0,43-4,34 g/l. Bobot biomassa tertinggi diperoleh pada medium dengan konsentrasi tetes tebu 10% dengan urea 0,50 g/l. Bobot biomassa kering yang dihasilkan pada perlakuan pemucatan berkisar antara 0,42 – 6,29 g/l. Bobot biomassa tertinggi diperoleh pada medium dengan konsentrasi tetes tebu 15% dengan urea 0,50 g/l. Dari sini dapat disimpulkan bahwa perlakuan pemucatan menghasilkan bobot biomasa yang lebih tinggi dari pada perlakuan tanpa pemucatan.

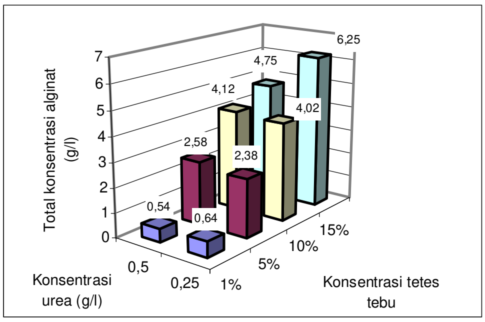
Hal ini terjadi karena tetes tebu merupakan hasil samping langsung dari pabrik gula mengandung banyak senyawa lain (selain gula). Tanpa adanya pemucatan senyawa-senyawa ini akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri, sehingga perlakuan dengan pemucatan menghasilkan pertumbuhan bakteri yang lebih baik. Hal ini ditunjukkan oleh bobot biomassa yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan tanpa pemucatan.

Pembentukan Alginat

Alginat yang dihasilkan pada penelitian ini merupakan alginat kasar. Hasil pengukuran alginat baik pada perlakuan tanpa pemucatan maupun pemucatan menunjukkan bahwa produksi alginat selama waktu kultivasi cenderung meningkat kemudian cenderung stabil sampai akhir fermentasi (96 jam kultivasi). Produksi alginat dimulai pada jam ke-12 lama kultivasi. Pengaruh konsentrasi tetes tebu dan urea terhadap produksi alginat pada perlakuan pemucatan dan tanpa pemucatan dapat dilihat pada Gambar 3 dan 4.



Gambar 3. Pengaruh konsentrasi tetes tebu dan urea terhadap produksi alginat oleh sel - *P.aeruginosa* pada perlakuan tanpa pemucatan



Gambar 4. Pengaruh konsentrasi tetes tebu dan urea terhadap produksi alginat oleh sel *P. aeruginosa* pada perlakuan pemucatan

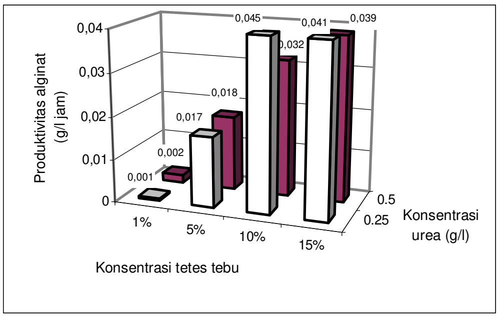
Gambar 3 dan 4 menunjukkan bahwa perlakuan tanpa pemucatan dan pemucatan secara umum terlihat kecenderungan yang sama yaitu peningkatan konsentrasi tetes tebu sampai 15% dapat meningkatkan konsentrasi alginat kecuali pada pada konsentrasi tetes tebu 10% dan 15% pada konsentrasi urea 0,25 g/l menghasilkan konsentrasi alginat yang sama (perlakuan tanpa pemucatan). Hal ini karena semakin tinggi konsentrasi tetes tebu artinya semakin tinggi konsentrasi substrat yang dapat dikonversi menjadi produk. Wilkinson (1958) dan Sutherland (1979) yang dikutip oleh Margaritis dan Pace (1985) menyatakan bahwa jumlah substrat (karbon) yang diubah oleh sel menjadi polimer tergantung pada komposisi medium pertumbuhan. Umumnya media yang mengandung rasio korbon dan nutrien terbatas (umumnya nitrogen) yang tinggi menyokong untuk produksi polisakarida

Sebaliknya secara umum pada perlakuan tanpa pemucatan dan pemucatan peningkatan konsentrasi urea yang digunakan tidak berpengaruh terhadap konsentrasi alginat yang dihasilkan pada semua konsentrasi tetes tebu yang dicobakan. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan urea dari 0,25 g/l menjadi 0,50 g/l tidak mempengaruhi pembentukan alginat. Artinya tidak melebihi batas sumber nitrogen yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan pembentukan alginat.

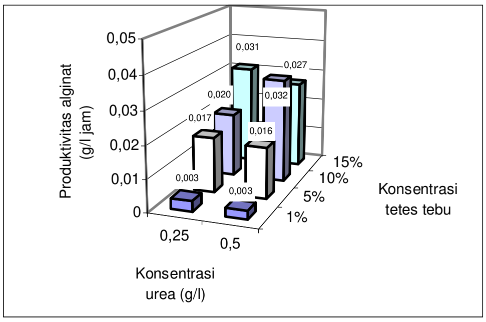
Konsentrasi alginat yang dihasilkan pada perlakuan tanpa pemucatan dan dengan pemucatan berkisar antara 0,15 sampai 5,52 g/l, sedangkan pada perlakuan dengan pemucatan berkisar antara 0,24 sampai 6,25 g/l.

Produktivitas Alginat

Peningkatan produksi alginat dapat dilihat dari berapa besar konsentrasi alginat yang dihasilkan setiap jam (produktivitas) atau dapat dilihat juga berdasarkan konsentrasi alginat rata-rata yang dihasilkan. Produktivitas alginat pada semua kombinasi konsentrasi urea dan tetes tebu pada perlakuan tanpa pemucatan dan perlakuan dengan pemucatan dapat dilihat pada Gambar 5 dan 6 sedangkan produksi alginat berdasarkan rata-rata pada perlakuan tanpa pemucatan dan perlakuan dengan pemucatan dapat dilihat pada Gambar 7 dan 8.



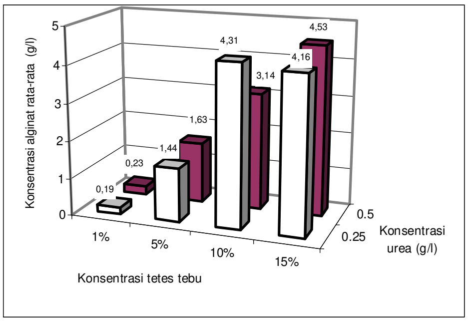
Gambar 5. Pengaruh konsentrasi urea dan tetes tebu terhadap produktivitas alginat yang dihasilkan pada perlakuan tanpa pemucatan



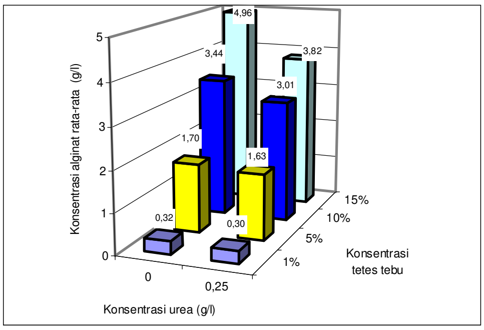
Gambar 6. Pengaruh konsentrasi urea dan tetes tebu terhadap produktivitas alginat yang dihasilkan pada perlakuan pemucatan

Gambar 5 dan 6 menunjukkan bahwa secara umum peningkatan konsentrasi tetes tebu dari 1% menjadi 15% pada semua konsentrasi urea yang dicobakan dapat meningkatkan produktivitas yang dihasilkan baik pada perlakuan tanpa pemucatan maupun dengan pemucatan. Dengan kata lain semakin tinggi konsentrasi tetes tebu semakin tinggi pula konsentrasi alginat yang dihasilkan per jamnya. Sebaliknya pada perlakuan tanpa pemucatan peningkatan konsentrasi urea dari 0.25 g/l menjadi 0.50 g/l tidak terlalu berbeda pada konsentrasi tetes tebu 1% dan 5% bahkan cenderung menurun pada konsentrasi tetes tebu 10% dan 15%. Pada perlakuan dengan pemucatan peningkatan konsentrasi urea dari 0,25 g/l sampai 0.50 g/l tidak terlalu berbeda pada konsentrasi tetes tebu1%, 5% dan 10% sedangkan pada konsentrasi tetes tebu 15% peningkatan konsentrasi urea dari 0,25 sampai 0,50 g/l cenderung meningkatkan produktivitas alginat yang dihasilkan.

Produktivitas alginat tertinggi pada masing-masing perlakuan tanpa pemucatan dan dengan pemucatan adalah 0,045 g/l jam (pada perlakuan dengan konsentrasi urea 0,25 g/l dan tetes tebu 10%) dan 0,032 g/l jam (pada perlakuan dengan konsentrasi urea 0,50 g/l dan tetes tebu 10%). Dari data ini dapat disimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi tetes tebu dapat meningkatkan produktivitas alginat yang dihasilkan dan produktivitas alginat pada perlakuan tanpa pemucatan lebih besar dibandingkan dengan perlakuan dengan pemucatan. Peningkatan konsentrasi tetes tebu sanpai 15% pada konsentrasi urea yang tetap dapat meningkatkan nilai rasio C/N. Umumnya media yang mengandung rasio C/N yang tinggi menyokong pembentukan polisakarida (alginat).



Gambar 7. Pengaruh konsentrasi urea dan tetes tebu terhadap konsentrasi alginat rata-rata yang dihasilkan pada perlakuan tanpa pemucatan



Gambar 8. Pengaruh konsentrasi urea dan tetes tebu terhadap konsentrasi alginat rata-rata yang dihasilkan pada perlakuan dengan pemucatan

Gambar 7 dan 8 menunjukkan bahwa secara umum peningkatan konsentrasi tetes tebu dari 1% menjadi 15% pada semua konsentrasi urea yang dicobakan dapat meningkatkan konsentrasi alginat rata-rata yang dihasilkan baik pada perlakuan tanpa pemucatan maupun dengan pemucatan. Sebaliknya pada perlakuan tanpa pemucatan peningkatan konsentrasi urea dari 0,25 g/l menjadi 0,50 g/l cenderung sedikit meningkatkan konsentarsi alginat rata-rata pada semua konsentrasi tetes tebu yang dicobakan. Pada perlakuan dengan pemucatan peningkatan konsentrasi urea dari 0,25 g/l sampai 0,50 g/l tidak terlalu berbeda pada semua konsentrasi tetes tebu yang dicobakan kecuali pada konsentrasi tetes tebu 15% dengan konsentrasi urea 0,50 g/l terjadi penurunan.

Konsentrasi alginat rata-rata tertinggi pada masing-masing perlakuan tanpa pemucatan dan dengan pemucatan adalah 4.53 g/l (pada perlakuan dengan konsentrasi urea 0.50 g/l dan tetes tebu 15%) dan 4.96 g/l (pada perlakuan dengan konsentrasi urea 0.75 g/l dan tetes tebu 15%). Berdasarkan data ini dapat disimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi tetes tebu dapat meningkatkan konsentrasi alginat rata-rata yang dihasilkan dan konsentrasi alginat rata-rata pada perlakuan dengan pemucatan lebih besar dibandingkan dengan perlakuan tanpa pemucatan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tetes tebu dan urea dapat digunakan sebagai medium sumber karbon dan sumber nitrogen dalam produksi alginat oleh *P. aeruginosa.* Tetes tebu yang mengalami pemucatan menghasilkan pertumbuhan yang lebih baik dan produk alginat yang lebih bersih dibandingkan dengan tetes tebu tanpa pemucatan. Konsentrasi urea yang digunakan dalam penelitian ini tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan dan produksi alginat. Konsentrasi tetes tebu yang digunakan dalam penelitian ini berpengaruh terhadap pertumbuhan dan produksi alginat dimana peningkatan konsentrasi tetes tebu sampai 15% dapat meningkatkan pertumbuhan dan alginat yang dihasilkan.

Konsentrasi alginat tertinggi yang dihasilkan pada masing-masing perlakuan tanpa pemucatan dan dengan pemucatan adalah 5,52 g/l (pada konsentrasi tetes tebu 10% dengan konsentrasi urea 0,25 g/l) dan 6,25 g/l (pada konsentrasi tetes tebu 15% dengan konsentrasi urea 0,25 g/l).

Produktivitas alginat tertinggi pada masing-masing perlakuan tanpa pemucatan dan dengan pemucatan adalah 0,045 g/l jam (pada perlakuan dengan konsentrasi urea 0,25 g/l dan tetes tebu 10%) dan 0,032 g/l jam (pada perlakuan dengan konsentrasi urea 0,5 g/l dan tetes tebu 10%). Konsentrasi alginat rata-rata tertinggi pada masing-masing perlakuan tanpa pemucatan dan dengan pemucatan adalah 4,53 g/l (pada perlakuan dengan konsentrasi urea 0,50 g/l dan tetes tebu 15%) dan 4,96 g/l (pada perlakuan dengan konsentrasi urea 0,50 g/l dan tetes tebu 15%).