LAPORAN AKHIR
PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA

PEMURNIAN DAN ANALISIS BIOKIMIA BIOFLOKULAN DARI BAKTERI ISOLAT LOKAL

BIDANG KEGIATAN
PKM PENELITIAN

Disusun oleh :

1. Putri Swadiastuti G44104015 (2004)
2. Juliana G44104054 (2004)
3. Bambang Prasetio G84051965 (2005)

INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2008

LAPORAN AKHIR PKM

1. Judul Kegiatan : Pemurnian dan Analisis Biokimia Bioflokulan dari Bakteri Isolat Lokal
2. Bidang Kegiatan : PKMP (Penelitian)
3. Bidang Ilmu : MIPA
4. Ketua Pelaksana Kegiatan
   a. Nama Lengkap : Putri Swadiastuti
   b. NIM : G44104015
   c. Departemen : Biokimia
   d. Universitas/Institut/Politeknik: Institut Pertanian Bogor
   e. Alamat Rumah/HP : Jl. Babakan Raya 5 no.155, Bogor 085697920027
   f. Alamat email : pu3_swd21@yahoo.com
5. Anggota Pelaksana Kegiatan : 2 orang
6. Dosen Pembimbing
   a. Nama Lengkap dan Gelar : Dr. Laksmi Ambarsari, MS
   b. NIP : 132 093 415
   c. Alamat Rumah/HP : Jl. Janaka I/27 A, Indraprasta II, Bogor 08156036490
7. Biaya Kegiatan Total
   a. DIKTI : Rp. 4.789.000,-
   b. Sumber lain : -
8. Jangka Waktu Pelaksanaan : Bulan Maret s/d Juli 2008 (5 bulan)

Bogor, 4 Juli 2008

Menyetujui
Ketua Departemen Biokimia

drh. Sulistiyani, M.Sc. PhD.
NIP. 131 415 135

Ketua Pelaksana Kegiatan

Putri Swadiastuti
NIM. G44104015

Wakil Rektor Bidang Akademik dan Kemahasiswaan

Prof. Dr. Ir. Yonny Koesmaryono, MS
NIP. 131 473 999

Dosen Pembimbing

Dr. Laksmi Ambarsari, MS
NIP. 132 093 415

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala karuniaNya, shalawat dan salam semoga selalu tercurah kepada Nabi Muhammad SAW, keluarga, sahabat, dan para pengikutnya sampai akhir zaman. Penelitian yang dipilih berjudul Pemurnian dan Analisis Biokimia Bioflokulan dari Isolat Lokal. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia, Departemen Biokimia, Institut Pertanian Bogor pada bulan Maret sampai Juli 2008.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Dr. Laksmi Ambarsari, MS selaku pembimbing yang telah memberikan saran, kritik, arahan, dan dukungannya. Ungkapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada staf laboratorium Departemen Biokimia IPB atas segala bantuannya sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan lancar. Selain itu, terima kasih pula kepada DIKTI yang telah membiayai penuh penelitian ini.

Semoga karya ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua. Amin.

Bogor, Juli 2008

Penulis

ABSTRAK

Penggunaan flokulan sintetik diketahui telah membahayakan bagi lingkungan dan manusia karena pada umumnya bersifat *unbiodegradable*. Selain itu, monomer akrilamida juga diketahui bersifat neurotoksik dan karsinogenik kuat. Oleh karena itu, kebutuhan akan flokulan yang *biodegradable* dan aman mendorong ditelitinya bioflokulan sebagai salah satu alternatif solusinya. Beberapa bakteri penghasil bioflokulan telah berhasil diisolasi dan dikarakterisasi, diantaranya dari sumber perairan di daerah Bogor dan lumpur aktif. Isolat-isolat yang diperoleh menunjukkan aktivitas flokulasi yang cukup tinggi (> 65%) pada kisaran pH yang luas (2-8), namun belum diketahui jenis bioflokulannya. Hal ini penting agar jenis bioflokulan yang diproduksi dapat diaplikasikan secara tepat. Untuk mengetahuinya, perlu dilakukan pemurnian dan analisis biokimia bioflokulan dari isolat-isolat yang ada.

Isolat diremajakan dalam media agar dan cair, lalu diproduksi menggunakan variasi sumber karbon dan nitrogen selama 70 jam. Bioflokulan (hasil produksi) diisolasi dan dimurnikan melalui tahap sentrifugasi dan pengendapan etanol (Zhang *et al* 2002). Bioflokulan murni yang diperoleh kemudian dianalisis lebih lanjut untuk mengetahui komposisi bioflokulan, diantaranya melalui penentuan kadar protein (Bradford 1976), kadar gula total (Chaplin & Kennedy 1986), dan analisis menggunakan spektrofotometer IR.

Di antara variasi yang digunakan, media pertama yang mengandung glukosa 1% dan sukrosa 1% sebagai sumber karbon merupakan media optimal yang dapat menunjang pertumbuhan bakteri dan produksi bioflokulan. Hal ini ditunjukkan oleh nilai OD dan aktivitas flokulasi yang tinggi, baik pada isolat KH-3 maupun LA-2. Bioflokulan murni yang diperoleh belum dapat dianalisis lebih lanjut karena hasilnya masih sedikit.

Kata Kunci (*keywords*): Bioflokulan, isolat, pemurnian, analisis biokimia

A. JUDUL PENELITIAN

Pemurnian dan Analisis Biokimia Bioflokulan dari Bakteri Isolat Lokal

B. LATAR BELAKANG MASALAH

Flokulan sintetik adalah suatu senyawa organik maupun anorganik yang berfungsi sebagai senyawa pembentuk flok. Umumnya merupakan bahan-bahan polimer dengan berat molekul tinggi, dan banyak digunakan di berbagai macam industri seperti pengolahan air limbah, proses fermentasi, serta proses industri lainnya termasuk industri gula (Kurane *et al.*, 1986; Mochtar 1975; Esparza 1986; Zhang *et al.*, 2002; (Li *et al.*, 2003). Di industri gula flokulan anorganik seperti PSF (polimer ferihidroksi sulfat) digunakan untuk menghilangkan warna pada molase. Sedangkan flokulan organik, yaitu poliakrilamid digunakan di dalam proses pemurnian gula. Penambahan poliakrilamid ke dalam *clarifier* merupakan salah satu teknik yang menguntungkan karena dapat meningkatkan efisiensi pemisahan dan mengurangi kehilangan sukrosa (Mochtar 1975; Ting dan Hsiao 1985). Flokulan organik banyak digunakan di berbagai industri karena mempunyai sifat yang kuat dalam memflokulasi dan sangat ekonomis bila dibandingkan flokulan anorganik (Kurane *et al.*, 1986; Lu WY *et al.*, 2005). Namun, pada umumnya flokulan tersebut tidak dapat didegradasi oleh mikroba serta dapat mencemari lingkungan. Monomer pembentuk poliakrilamid yaitu akrilamid, merupakan senyawa karsinogenik yang dapat menyerang syaraf (Yokoi *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 2002). Oleh sebab itu, perlu diupayakan untuk mendapatkan flokulan yang aman terhadap lingkungan dan bersifat *biodegradable* (dapat didegradasi oleh mikroba).

Bioflokulan merupakan polimer ekstraseluler yang diproduksi oleh mikroorganisme selama pertumbuhan, dan setiap mikroorganisme memproduksi bioflokulan dengan komposisi yang berbeda-beda (Brown dan Lester 1980; Zhang *et al.*, 2002; Jie *et al.*, 2006). Dibandingkan dengan flokulan sintetik, bioflokulan mempunyai keunggulan antara lain: aman terhadap manusia dan lingkungan, serta bersifat *biodegradable* sehingga sangat memungkinkan untuk dapat digunakan di dalam industri minuman, pengolahan limbah, proses *downstream*, dan fermentasi (Zhang *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2003; Jie *et al.*, 2006). Beberapa mikroorganisme antara lain bakteri, fungi, aktinomicetes, telah dilaporkan sebagai mikroorganisme penghasil polimer ekstraseluler, seperti flokulan polisakarida, protein, dan glikoprotein (Zhang *et al* 2002).

Beberapa bakteri penghasil bioflokulan telah berhasil diisolasi dan dikarakterisasi. Isolat-isolat tersebut berasal dari berbagai sumber, antara lain: lumpur aktif dan sumber perairan termasuk sumber air panas di kawasan Gunung Pancar Bogor. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaporkan (Susanti *et al* 2007), diperoleh informasi penting, yaitu bahwa isolat-isolat yang telah diisolasi menunjukkan aktivitas flokulasi cukup tinggi, namun belum diketahui jenis bioflokulannya. Hal ini penting agar jenis bioflokulan yang diproduksi dapat diaplikasikan secara tepat terutama untuk industri-industri pengolahan bahan makanan. Dalam penelitian ini akan dilakukan pemurnian dan analisis biokimia dari bioflokulan yang berasal dari isolat-isolat yang ada.

C. PERUMUSAN MASALAH

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, diperoleh tujuh isolat yang menunjukkan aktivitas flokulasi cukup tinggi, yaitu dua isolat berasal dari lumpur aktif (LA-2 dan LA-7) dan lima isolat berasal dari sumber perairan termasuk sumber air panas di kawasan Gunung Pancar Bogor (LT-5, LT-6, KH-1, KH-3, dan K-P). Semua isolat mempunyai aktivitas flokulasi cukup tinggi, yaitu rata-rata di atas 65% dengan pH bervariasi, yaitu pada kisaran pH 2 (asam) hingga pH 8 (basa), dan aktivitas flokulasi meningkat dengan adanya kation-kation seperti Al^{3+} dan Fe^{3+} . Informasi tersebut di atas sangat penting karena menunjukkan bahwa setiap isolat mempunyai sifat yang berbeda dalam kemampuan memflokulasi. Informasi lebih lanjut, yaitu jenis bioflokulan yang dihasilkan dari masing-masing isolat sangat diperlukan karena setiap mikroorganisme akan memproduksi bioflokulan dengan komposisi yang berbeda-beda.

D. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian bertujuan melakukan pemurnian dan analisis biokimia dari bioflokulan yang berasal dari bakteri isolat lokal.

E. LUARAN YANG DIHARAPKAN

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi penting, yaitu bakteri yang telah berhasil diisolasi dari peneliti terdahulu mempunyai sifat dan jenis bioflokulan yang berbeda sehingga dapat diaplikasikan secara tepat.

F. KEGUNAAN PENELITIAN

Bioflokulan yang dihasilkan diharapkan dapat diaplikasikan di industri gula dan industri lainnya seperti pengolahan limbah, sehingga dapat tercipta lingkungan yang aman. Selain itu, juga dapat memberikan sumbangan bagi perkembangan IPTEK di Indonesia khususnya dalam bidang material baru dalam menghasilkan polimer flokulan *biodegradable*.

G. TINJAUAN PUSTAKA

Bioflokulan merupakan hasil proses dinamik dari sintesis polimer ekstraseluler oleh organisme hidup (Jie *et al*, 2006). Yokoi (1996) menjelaskan bahwa pada beberapa tahun terakhir pemanfaatan flokulan yang dihasilkan oleh mikroorganisme telah banyak dilakukan karena sifatnya yang *biodegradable* dan aman terhadap lingkungan. Sejak Butterfield (1935) berhasil dalam mengisolasi bakteri penghasil flok dari lumpur aktif, maka banyak penelitian tentang korelasi antara akumulasi ekstraseluler dan flokulasi bakteri. Flokulan-flokulan tersebut menunjukkan kemampuannnya dalam mendestabilkan dispersi bakteri, disamping menunjukkan aktifitas flokulasi yang tinggi terhadap bahan anorganik seperti *caolin clay*. Menurut Nakamura (1976) mikroba penghasil flok yang diisolasi dari lumpur aktif sangat terbatas pada bakteri seperti *Pseudomonas, Zooglea, Alcaligenes, flavobacterium,* dan *Nocardia.*

Beberapa bakteri telah berhasil ditemukan dan dapat menghasilkan bioflokulan, antara lain: *Corynebacterium* sp, *Aspergilus sojae, Dematinum* sp, *Paecilomyces* sp, *Agrobacterium* sp, *dan Rhodococcus erythropolis* (Kurane R, 1986), *Zoogloea* spp (Farah SR and Richard F, 1976). Mikroorganisme selain penghasil bioflokulan, juga ditemukan bakteri seperti *Nocardia amarae* YK-1 (Koizumi *et al*., 1991), *Bacillus licheniformis* (Shih *et al*., 2001) dan *Rhodococcus erytrofolis* (Takeda dan Kurane, 1991) yang menghasillkan protein flokulan. Selain itu juga ditemukan polisakarida flokulan dari bakteri *Alcaligenes cupidus*

KT201 (Toeda and Kurane, 1991), dan *Acillus subtilis* IFO 3335 (Yokoi *et al.*, 1996), sedangkan *Arcuadendron* sp. TS-4 (Lee *et al.*, 1995) dan *Arathrobacter* sp (Wang *et al.*, 1995) dapat menghasilkan glikoprotein bioflokulan.

Menurut Kurane dan Nohata (1994), bioflokulan dari *A latus* merupakan super bioabsorben polisakarida baru yang dapat menyerap air lebih dari 1000 kali bobotnya dan diperkirakan lima kali lebih kuat dari polimer penyerap sintetik. Selain itu, juga mempunyai aktivitas flokulasi yang kuat pada *caolin clay*, limbah cair industri kosmetik serta cukup efisien untuk memflokulasi emulsi minyak. Biopolimer flokulan yang dihasilkan dari *Pseudomonas* sp A-99 dilaporkan mempunyai aktivitas dalam memflokulasi suspensi anorganik yang mengandung Ca^{2+}, Mg^{2+} atau Fe^{3+} dan suspensi organik yang mengandung Fe^{2+}, Fe^{3+}, atau Al^{3+}. Bioflokulan tersebut terdiri atas asam galakturonat, glukosa, dan galaktosa (Yokoi *et al.* 1998), sedangkan komposisi bioflokulan yang dihasilkan dari mikobakterium *Nannocystis* sp. NU-2 tediri atas 40,3% protein, 56,5% polisakarida (komponen penyusunnya adalah glukosa, manosa, dan asam galakturonat dengan perbandingan masing-masing 5:4:1) dan mempunyai aktivitas flokulasi yang tinggi bila terdapat kation Fe^{3+} dan Al^{3+} (Zhang dan Jiang, 2002). Bioflokulan yang dihasilkan dari *Enterobacter aerogenes* terdiri atas 13,2% asam uronat, 7,4% asam piruvat, dan 1,6% asam asetat serta mengandung tiga komponen gula yaitu: glukosa, fruktosa, dan manosa dengan perbandingan masing-masing 10,3:5,4:1. Dilaporkan bahwa efisiensi bioflokulan tersebut lebih baik dibandingkan flokulan sintetis seperti poliakrilamida anionik (Lu *et al* 2005).

Kelompok peneliti Biokimia Molekul di Departemen Biokimia IPB telah berhasil mengisolasi beberapa mikroba yang berasal dari lumpur aktif dan sumber air panas di kawasan Gunung Pancar yang terdapat di kota Bogor. Isolat-isolat yang ada telah diuji dan mempunyai aktivitas tinggi dalam memflokulasi dan beberapa isolat menghasilkan bioflokulan yang bersifat termostabil. Namun, jenis bioflokulan yang dihasilkan masih belum diketahui, oleh sebab itu penelitian ini akan memanfaatkan isolat-isolat tersebut untuk dilakukan pemurnian dan analisis biokimia.

II. METODE PELAKSANAAN PROGRAM

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan dari bulan Maret sampai Juli 2008 di Laboratorium Biokimia, Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

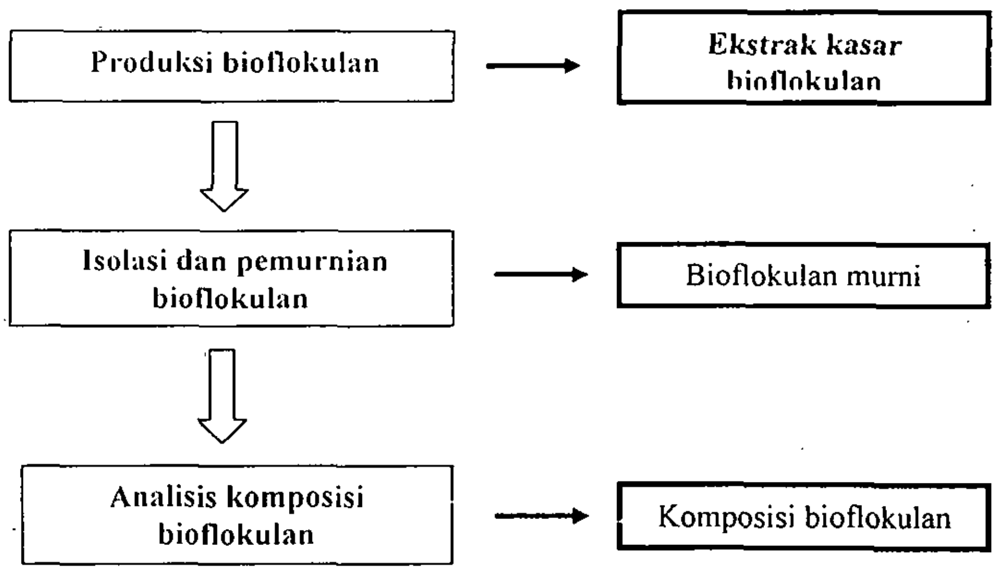
Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah suspensi kaolin, isolat kawah, isolat lumpur aktif, isolat limbah tapioka, $AlCl_3$, kapas, es batu, geirit, glukosa, sukrosa, $MgSO_4$, K_2HPO_4, KH_2PO_4, $(NH_4)_2SO_4$, NaCl, urea, pepton, ekstrak khamir, akuades, $CaCl_2$, nutrien agar, *nutrient broth*, etanol absolut, reagen Bradford, asam sulfat 96%, fenol 80%, standar glukosa, bovin serum albumin.

Alat-alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis, vortex, Erlenmeyer, pH meter, *rotary shaker*, gelas piala, pipet Mohr, tabung reaksi, gelas ukur, *shaker incubator*, pipet volumetrik, *magnetic stirrer*, autoklaf, *laminar air flow*, ultrasonikator, cawan petri, sentrifus Beckman JA-20.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui tiga tahap penelitian (produksi, ekstraksi dan pemurnian bioflokulan serta analisis komposisi bioflokulan) dengan strategi penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 Strategi penelitian.

Peremajaan Isolat

Sebanyak 1 ose isolat dalam stok gliserol diinokulasikan ke media agar (Thermus dan nutrien agar). Koloni tunggal yang diperoleh diinokulasikan ke 10 mL media cair. Lalu, kultur diinkubasi pada suhu 55 ^{0}C (untuk isolat dari kawah) dan suhu 30 ^{0}C (isolat dari lumpur aktif dan limbah tapioka) selama 16 jam. Komposisi media Thermus diantaranya $(NH_4)_2SO_4$ 0.01%, $MgSO_4$ 0.025%, $CaCl_2$ 0.0125%, KH_2PO_4 0.02%, NaCl 0.1%, ekstrak khamir 0.2%, dan pepton 0.4%.

Produksi Bioflokulan

Setelah inkubasi, sebanyak 1% dari kultur dipindahkan ke dalam 10 mL media produksi (glukosa 10 g, sukrosa 10 g, KH_2PO_4 1.5 g, K_2HPO_4 4.5 g, $(NH_4)_2SO_4$ 1.5 g, NaCl 0,1 g, urea 1 g, pepton 0.5 g, $MgSO_4$ 0.2 g, ekstrak khamir 0.5 g dalam 1 L akuades) dalam Erlenmeyer 100 mL dan diatur pHnya 7.3. Kemudian diinkubasi pada *rotary shaker* suhu ruang dengan kecepatan 180 rpm selama 70 jam. Bioflokulan yang diperoleh diuji aktivitas flokulasinya. Variasi sumber karbon dalam media berupa penambahan glukosa 1% dan sukrosa 1%, glukosa 2%, serta glukosa 1% dan fruktosa 1% (untuk isolat kawah); glukosa 1% dan sukrosa 1%, pati 1%, glukosa 0.2% dan pati 3% (untuk isolat lumpur aktif). Variasi sumber nitrogen berupa penambahan pepton atau tanpa penambahan pepton ke dalam media produksi (untuk isolat kawah).

Aktivitas Flokulasi terhadap Kaolin

Sebanyak 80 mL suspensi kaolin (5.5 g/L) dicampur dengan 10 mL $AlCl_3$ 0.05%, 1 mL kultur bioflokulan, dan ditambahkan akuades hingga volumenya 100 mL. Kemudian campuran diaduk dan dibiarkan selama 5 menit. Lalu, absorbansinya diukur pada λ 550 nm dengan spektrofotometer. Untuk kontrol, dilakukan dengan kondisi yang sama hanya tanpa penambahan bioflokulan. Nilai aktivitas dihitung menggunakan rumus : $(A-B)/A \times 100\%$ dengan A adalah absorbansi kontrol dan B adalah absorbansi sampel (Kurane *et al* 1986).