

**PERANAN ISOLAT BAKTERI INDIGENOUS SEBAGAI AGEN BIOREMEDIASI PERAIRAN
YANG TERKONTAMINASI URANIUM**

**THE ROLE INDIGENOUS BACTERIAL ISOLATES FOR BIOREMEDIATION AGENT IN THE
URANIUM CONTAMINATED AQUATIC ENVIRONMENT**

Mochd. Yazid

Pusat Teknologi Akselerator dan Proses Bahan, BATAN
Jl. Babarsari Kotak Pos 6101 ykbb, Yogyakarta 55281

e-mail : yazid@batan.go.id

Diterima 25 Nopember 2013, diterima dalam bentuk perbaikan 17 Januari 2014, disetujui 24 Januari 2014

ABSTRAK

PERANAN ISOLAT BAKTERI INDIGENOUS SEBAGAI AGEN BIOREMEDIASI PERAIRAN YANG TERKONTAMINASI URANIUM. Telah dilakukan penelitian peran isolat bakteri indigenous sebagai agen bioremediasi perairan yang terkontaminasi uranium. Tujuan penelitian ini untuk mengkaji peranan *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp yang diisolasi dari limbah uranium cair aktivitas rendah untuk dimanfaatkan sebagai agen bioremediasi radionuklida tersebut di lingkungan yang mencakup : efisiensi dan lokasi pengikatan uranium, perbandingan efisiensi pengikatannya dengan bakteri non indigenous serta pengaruh pemberian stimulan. Pengujian kemampuan pengurangan konsentrasi uranium dilakukan dengan penimbangan biomassa bakteri tersebut, sedangkan pengukuran konsentrasi uranium dilakukan menggunakan spektrofotometer. Penentuan letak pengikatan uranium oleh bakteri dilakukan dengan cara mensuspensikan pellet ke dalam aquadest steril. Penambahan stimulan asam asetat dilakukan dengan variasi konsentrasi 1, 2 dan 3 mM dan volume 1,5 ml; 3,5 ml; 5,5 ml dan 7,5 ml. Diperoleh hasil penelitian sebagai berikut : efisiensi pengurangan uranium untuk isolat bakteri indigenous yaitu *Pseudomonas* sp sebesar 84,99 % dan *Bacillus* sp efisiensinya sebesar 52,70 %; sedangkan untuk isolat bakteri non indigenous yaitu *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 78,47 % dan *Bacillus subtilis* sebesar 45,22 %, setelah waktu inkubasi 54 jam. Lokasi pengikatan uranium yang dominan terdapat pada dinding sel. Penambahan stimulan asam asetat berpengaruh terhadap rentang waktu pencapaian fase pertumbuhan. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa isolat *Pseudomonas* sp. dan *Bacillus* sp. indigenous yang diisolasi dari limbah uranium cair aktivitas rendah dapat berperan sebagai agen bioremediasi perairan yang terkontaminasi uranium sampai dengan konsentrasi 60 ppm, dengan rerata efisiensi pengikatan yang lebih tinggi dibandingkan bakteri non indigenous yaitu 52,70 % - 84,99 %. waktu inkubasi 54 jam. Penambahan stimulan asam asetat dapat meningkatkan efisiensinya menjadi 99,8 %.

Kata Kunci : bakteri indigenous, uranium, bioremediasi, lingkungan

ABSTRACT

THE ROLE INDIGENOUS BACTERIAL ISOLATES FOR BIOREMEDIATION AGENT IN THE URANIUM CONTAMINATED AQUATIC ENVIRONMENT. A Research on the role of indigenous bacterial isolates for bio-remediation agent of the uranium contaminated in the aquatic environment has been conducted. The objective of the research is to study the role of *Pseudomonas* sp and *Bacillus* sp. have been isolated from low level uranium waste for bioremediation agent in their environment, such as the determination of efficiency of the uranium binding compared by the non indigenous bacterial, location of these binding and the influences of added acethyl acid stimulant. The uranium reduction studied was measured by weighting bacterial biomass and uranium concentration was measured by spectrophotometer. The acethyl acid stimulant addition has been done with the variation of concentration and volume. The efficiency of the uranium reduction by indigenous bacterial isolate such as *Pseudomonas* sp were 84.99 % and *Bacillus* sp were 52.70 %, so the reduction efficiency by non indigenous bacterial such as *Pseudomonas aeruginosa* were 78.47 % and *Bacillus subtilis* were 45.22 % for 54 hours incubation time. The result of this research can be concluded that *Pseudomonas* sp and *Bacillus* sp. indigenous bacterial have been isolates from the liquid uranium waste can contributed in bioremediation agent for uranium radionuclide in the environment for 60 ppm concentration with reduction efficiency 52.70 % - 84.99 %, that is

higher non indigenous bacterial for 54 hours incubation time, the stimulant addition of acethyl acid, the efficiency can be increased up to 99.8 %.

Keyword : indigenous bacterial, uranium, bioremediation, environment

PENDAHULUAN

Kegiatan anomali konsentrasi radionuklida uranium di lingkungan dapat disebabkan karena beberapa hal, antara lain : anomali alami, kegiatan eksplorasi pertambangan, proses fabrikasi bahan nuklir, kegiatan industri nuklir dan non nuklir serta dekomisioning instalasi nuklir maupun non nuklir. Kegiatan penelitian dan pengembangan teknologi proses bahan nuklir di PTAPB juga berpotensi menyebabkan terjadinya pelepasan radionuklida ke lingkungan melalui air buangan yang tidak disengaja dan kurang terkontrol yang dilepas melalui sistem saluran pembuangan terpadu. Selain itu, jika pada saatnya nanti dilakukan kegiatan dekomisioning fasilitas tersebut, sehingga menimbulkan air cucian dalam volume yang besar dengan tingkat radioaktivitas rendah.

Limbah radioaktif yang ditimbulkan dalam kegiatan pengoperasian instalasi nuklir pada umumnya dikelola dengan menggunakan teknologi yang sudah mapan, yang diawali dengan pengumpulan (*collecting*) dan sortir (*screening*). Pengolahan menggunakan berbagai metode yang pada prinsipnya bertujuan untuk mereduksi volume/aktivitas dan diakhiri dengan pembuangan sementara ataupun lestari. Limbah tersebut pada umumnya volumenya relatif kecil dan aktivitasnya rendah sampai sedang, adapun untuk aktivitas tinggi dilakukan dengan teknologi secara khusus.

Permasalahan akan muncul pada pengelolaan air buangan yang ditimbulkan dari kegiatan pertambangan bahan nuklir, dekomisioning instalasi nuklir maupun non nuklir, karena aktivitasnya rendah namun volumenya sangat besar dan lokasinya berada di lingkungan terbuka. Jika dilakukan pengolahan dengan teknologi pengolahan limbah, tentu saja memerlukan waktu yang lama dan menghabiskan biaya yang tidak sepadan.

Masyarakat telah banyak memanfaatkan bakteri saat ini, antara lain untuk pembuatan kompos dari sampah domestik untuk menghindari pembakaran yang mencemari udara, dekomposisi kotoran di dalam *septictank* WC sehingga tanpa memerlukan pengurusan, yang dirasa lebih praktis dan menghemat biaya serta relatif aman bagi kesehatan masyarakat dan lingkungan. Dalam makalah ini dibahas tentang peranan bakteri *indigenous* sebagai agen bioremediasi radionuklida uranium di lingkungan. Bakteri *indigenous* merupakan mikroba pribumi / alami yang diisolasi dari limbah yang jenisnya sama dengan jenis limbah yang akan dilakukan pengolahan yaitu limbah uranium cair aktivitas rendah.

Keberadaan radionuklida dalam limbah berpotensi sebagai sumber radiasi eksternal maupun internal, apabila sampai masuk ke dalam tubuh.⁽¹⁾ Salah satu kandungan radionuklida di dalam limbah radioaktif adalah uranium, yang merupakan unsur logam keempat dari deret aktinida dan terdapat di alam sebagai senyawa oksida, fosfat, sulfat, vanadat, arsenat dan silika. Dalam pengolahan biji uranium, radon dan anak turunnya tidak begitu menimbulkan masalah bila dibandingkan dengan masalah debu – debu yang keluar pada saat peleburan biji uranium yang akan terbawa air hujan ke lingkungan sekitarnya. Uranium akan mengakibatkan kontaminasi jika kadarnya melebihi baku mutu lingkungan. Hal ini disebabkan karena bersifat toksis, radioaktif dengan waktu paro lama, merupakan unsur logam yang tidak dapat didekomposisi oleh organisme hidup serta dapat terakumulasi dalam tubuh manusia baik secara langsung maupun tidak langsung.⁽²⁾

Bioremediasi adalah proses pembersihan lingkungan dari polutan dengan menggunakan material biologi seperti mikroba. Teknik bioremediasi sering diterapkan untuk membersihkan cemaran logam berat di lingkungan dan mampu membersihkan kontaminasi logam berat pada konsentrasi rendah. Proses bioremediasi didasarkan pada permukaan sel mikroba yang bermuatan negatif karena kehadiran struktur anion. Adanya muatan negatif di permukaan sel, membuat sel mampu mengikat kation logam. Bakteri, jamur, khamir dan algae dapat berinteraksi dengan logam dan radionuklida melalui beberapa mekanisme transformasi seluler.

Bioremediasi logam berat berbeda dengan biodegradasi senyawa organik. Pada proses biodegradasi terjadi perombakan senyawa organik dan menghasilkan gas CO₂ atau CH₄, sedangkan pada proses bioremediasi logam masih berupa molekul atau ion dan akan diubah, diimobilisasi dan dikurangi kadar toksiknya oleh mikroba.⁽³⁾

Penggunaan bakteri menjadi salah satu metode yang cukup menjanjikan dalam menangani radiotoksitas. Penggunaan tersebut berkaitan dengan kemampuan mikroba untuk hidup dan menghasilkan suatu enzim untuk mengurangi kadar bahan toksik di lingkungan. Bakteri memiliki berbagai mekanisme dalam mendetoksifikasi radionuklida, antara lain melalui reaksi reduksi oksidasi, kompleksasi, biosurfaktan dan siderofor. Selain itu, mikroba memiliki kemampuan untuk mengikat radionuklida baik pada permukaan luar maupun intraselulernya.^(4,5)

Barbagai aktivitas yang berpotensi sebagai kontaminan radionuklida di lingkungan antara lain : pertambangan terbuka (*open pit mining*) dapat mengubah secara total baik iklim dan tanah akibat seluruh lapisan tanah di atas deposit bahan tambang disingkirkan.⁽⁶⁾ Kegiatan dekomisioning yang berpotensi menimbulkan air buangan dalam volume yang cukup besar antara lain : pendingin/moderator reaktor, cairan yang digunakan untuk kegiatan selama operasi reaktor, misalnya pelumas dan minyak hidrolik. Pertimbangan khusus harus dilakukan untuk pembuangan senyawa organik radioaktif.⁽⁷⁾ Pengelolaan limbah radioaktif dilaksanakan untuk mencegah timbulnya bahaya radiasi terhadap pekerja, anggota masyarakat dan lingkungan hidup. Pengelolaan limbah radioaktif adalah pengumpulan, pengelompokan, pengolahan, pengangkutan, penyimpanan dan atau pembuangan limbah radioaktif.⁽⁸⁾

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji peranan bakteri *indigenous* untuk dimanfaatkan sebagai agen bioremediasi perairan yang terkontaminasi uranium, yang mencakup : jumlah isolat yang didapatkan dan jenis yang terpilih, efisiensi dan lokasi pengikatan uranium serta pengaruh stimulan untuk peningkatan kinerjanya. Hipotesis yang dicanangkan dalam penelitian ini adalah bakteri *indigenous* akan mempunyai efisiensi pengikatan uranium yang lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri *non indigenous* karena telah mengalami proses adaptasi di habitat tersebut dalam waktu yang relatif lama.

METODOLOGI

Bahan

Bahan yang diperlukan antara lain, reagen dan bahan kimia untuk sterilisasi. Media pertumbuhan bakteri antara lain *Standart Basal Salt* (SBS) yang ditambah uranil nitrat, asam asetat, *nutrient broth* (oksid), nutrisi agar miring, *Mc Conkey*, *Blood Agar*, dan *Nitrat cair*. Isolat bakteri *indigenous Pseudomonas sp* dan *Bacillus sp* serta isolat *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis* yang *non indigenous*.

Peralatan

Alat yang digunakan antara lain tabung reaksi, pipet ukur, propipet, cawan petri, erlenmeyer, gelas ukur, timbangan semi kasar, kuvet, ose, otoklaf, *Waterbath shaker* 37 °C, magnetik stirrer, Spektrofotometer, shaker, sentrifuge, inkubator, oven, vortex, *ultrasonic homogenizer*, *laminar air flow* (LAF) dan mikroskop.

Metode

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode analisis bakteriologis untuk kultur, sedangkan untuk analisis kadar uranium menggunakan metode spektrofotometri, dengan tahapan sebagai berikut :

Strerilisasi dan Pembuatan media

Sterilisasi alat-alat gelas dan media menggunakan Otoklaf pada tekanan 1 atm, suhu 121°C selama 15 menit. Medium yang digunakan adalah SBS cair ditambah uranil nitrat 10 mg/l, medium SBS agar ditambah uranil nitrat 10 mg/l dan aquades steril. Adapun medium yang digunakan untuk penyimpanan kultur mikroba adalah medium nutrisi agar yang ditambah uranil nitrat 10 mg/l.

Pengujian Kemampuan Isolat Bakteri

$$E_p = \frac{U}{U_o} \times 100 \quad (1)$$

$$U = U_o - U_t \quad (2)$$

Keterangan :

E_p = Efisiensi pengikatan

U = Kadar uranium yang diikat

U_o = Kadar uranium awal

U_t = Kadar uranium sisa

Pengukuran reduksi konsentrasi uranium dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri dalam medium SBS cair 60 mg/l uranium. Pengukuran konsentrasi uranium dilakukan menggunakan Spektrofotometer. Efisiensi pengikatan uranium oleh bakteri ditentukan dengan menghitung selisih antara kadar uranium awal (U_0) dengan kadar uranium sisa pada supernatant (U_t), menggunakan persamaan 1 dan 2.

Lokasi Pengikatan Uranium

Kultur bakteri umur 24 jam sebanyak 25 ml dimasukkan ke dalam 250 ml medium Nutrient Broth (NB) yang mengandung 100 ppm dan 60 ppm uranium, diinkubasikan ke dalam *waterbath shaker* pada suhu 37 °C. Penentuan letak pengikatan uranium oleh bakteri dilakukan dengan cara mensuspensikan pellet yang didapat ke dalam 10 ml aquadest steril. Untuk pemecahan sel, diambil 10 ml suspensi dan dimasukkan ke dalam wadah rol film, dipecah menggunakan *Ultrasonic Homogenizer* untuk memisahkan dinding sel dari sitoplasma. Ditentukan kandungan uranium pada dinding sel dan sitoplasma tersebut

Penambahan Stimulan

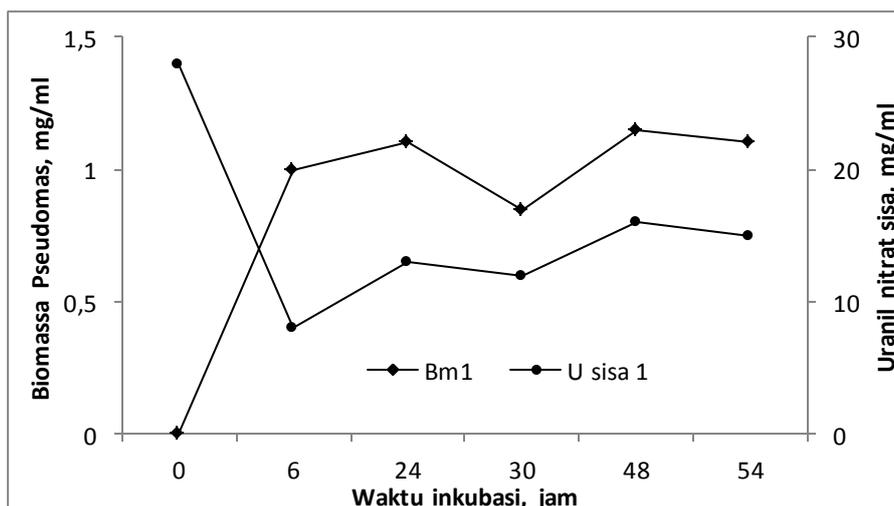
Peningkatan efisiensi kinerja bakteri dalam melakukan pengikatan radionuklida dapat dilakukan dengan penambahan stimulan yang sesuai untuk menstimulasi pertumbuhannya. Asam asetat merupakan bahan organik yang dapat dimanfaatkan mikroba sebagai sumber karbon dalam proses metabolismenya. Penambahan dan analisis kadar asetat dalam medium pertumbuhan bakteri dimaksudkan untuk mengetahui seberapa besar pemanfaatan stimulan asam asetat oleh bakteri. Analisis dilakukan menggunakan metode titrasi netralisasi dengan larutan standar NaOH dan indikator *phenophtalin*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

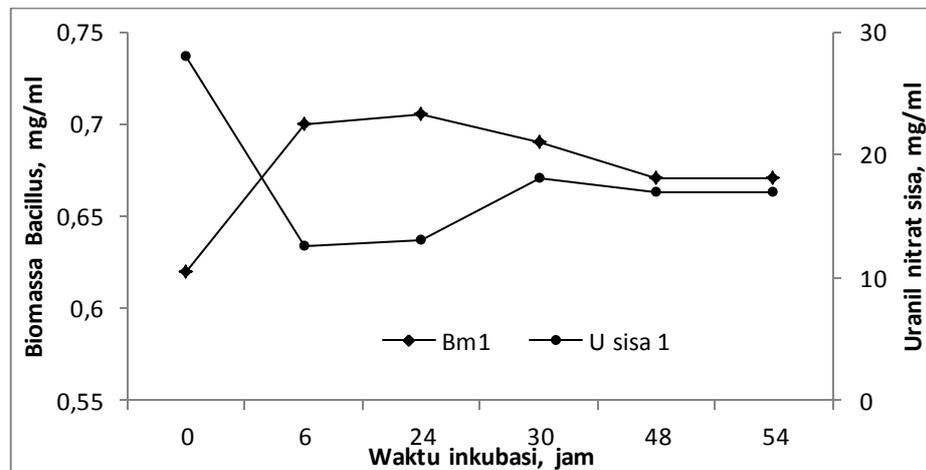
Bakteri *indigenus* dalam penelitian ini, diisolasi dari limbah uranium cair aktivitas rendah yang berada di Laboratorium Pengolahan Limbah Radioaktif PTAPB-BATAN, yang mengandung 50 mg/l uranium yang diharapkan akan mendapatkan bakteri yang sudah beradaptasi dengan habitat yang mengandung uranium tersebut. Diperoleh 3 isolat bakteri yang memiliki rata-rata pertumbuhan yang stabil di berbagai variasi konsentrasi uranium dan memiliki rata-rata pertumbuhan yang baik hingga konsentrasi 80 mg/l dan 100 mg/l yang teridentifikasi sebagai genus *Pseudomonas* dan *Bacillus*.^[9]

Pengujian Kemampuan Isolat Bakteri

Pada penelitian ini digunakan isolat *Pseudomonas sp* dan *Bacillus sp* yang diisolasi dari limbah uranium cair aktivitas rendah. Isolat bakteri yang mampu tumbuh optimum di medium yang mengandung uranium diasumsikan telah beradaptasi di lingkungan tersebut. Konsentrasi uranium yang digunakan untuk percobaan ini adalah 40 mg/l, merupakan konsentrasi yang memungkinkan isolat bakteri tersebut dapat tumbuh dengan optimum. Hubungan antara Konsentrasi uranium sisa di dalam medium dengan biomassa isolat *Pseudomonas sp* dan *Bacillus sp*. disajikan pada grafik di Gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Grafik Hubungan antara Konsentrasi uranium sisa (mg/l) dalam medium terhadap Biomassa (Bm) isolat *Pseudomonas sp* (mg/ml).



Gambar 2. Grafik Hubungan antara Konsentrasi Uranium Sisa dalam Medium (mg/l) dan Biomassa Isolat *Bacillus* sp (mg/ml).

Dari hasil analisis variant menunjukkan perbedaan yang signifikan antara konsentrasi uranium sisa dalam medium pada kontrol (tanpa bakteri) dan perlakuan (dengan bakteri) di semua waktu inkubasi. Perbedaan yang paling signifikan terjadi pada waktu inkubasi 6 jam. Uranium sisa pada jam ke 0 adalah 27,0 mg/l, kemudian pada jam ke-6 turun menjadi adalah 11,2 mg/l. Uranium yang diikat oleh sel bakteri adalah 16,8 mg/l dan biomassa bakteri pada jam ke 6 adalah 1,0 mg/ml, sehingga pengikatan oleh sel bakteri pada jam ke 6 adalah 16,8 mg uranium per gram biomasnya.

Untuk *Pseudomonas* sp. konsentrasi uranium jam ke 0 adalah 28,5 mg/l dan pada jam ke 6 menurun sampai dengan 2,43 mg/l, sedangkan biomassa bakteri meningkat dengan bertambahnya waktu inkubasi yaitu pada saat jam ke 6 sebesar 0,687 mg/ml. Pengikatan uranium oleh sel *Pseudomonas* pada jam ke 6 adalah 26,06 mg per gram berat kering isolat bakteri.

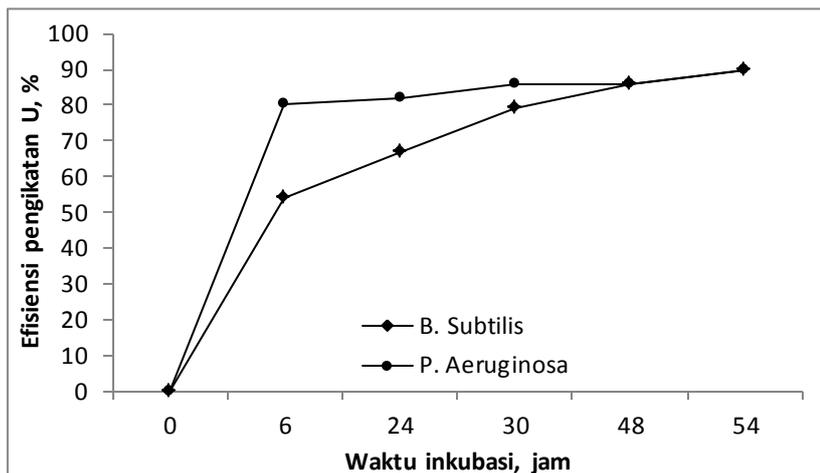
Pengurangan konsentrasi uranium pada medium oleh isolat *Bacillus* sp, konsentrasi uranium pada jam ke 0 adalah 25,6 mg/l. Setelah dimasukkan sel bakteri konsentrasi uranium pada jam ke 6 menjadi 12,1 mg/l, uranium yang diikat oleh sel bakteri adalah 13,5 mg/l. Biomassa bakteri pada jam ke 6 adalah 0,7 mg/ml. berarti pengikatan uranium yang dilakukan oleh bakteri sebesar 19,2 mg per gram berat kering. Data tersebut mengindikasikan bahwa isolat bakteri *indigenus* kemungkinan dapat digunakan sebagai agen bioremediasi karena mampu tumbuh optimum pada medium SBS cair dan sekaligus dapat menurunkan konsentrasi uranium di dalam medium tersebut. Efisiensi pengurangannya untuk isolat *Pseudomonas* sp. sebesar 84,99 %, sedangkan untuk *Bacillus* efisiensiya 52,70 %.

Fenomena yang terjadi mengindikasikan bahwa pengikatan uranium oleh sel bakteri relatif konstan setelah jam ke 6, karena pertumbuhan bakteri setelah jam ke 6 sudah memasuki fase konstan, setelah mengalami fase eksponensial sebelum jam ke 6. Pada fase eksponensial pertumbuhan bakteri relatif cepat sehingga kinerja penyerapan uraniumnya juga sebanding. Penelitian ini dilakukan secara *batch* sehingga ketersediaan nutrisi dalam medium relatif konstan dan akan menurun secara perlahan-lahan yang akan diikuti juga dengan penurunan pertumbuhan bakteri. Untuk menghindari hal tersebut dapat dilakukan percobaan dengan metode kontinyu sehingga ketersediaan nutrisi konstan untuk menjaga agar pertumbuhan bakteri tetap dalam fase eksponensial.

Sebagai pembandingan dilakukan percobaan yang sama terhadap isolat bakteri *non indigenus* yang telah ada di pasaran, yaitu *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis*. Efisiensi pengikatan uranium oleh kedua species bakteri tersebut disajikan pada grafik di Gambar 3.

Efisiensi pengikatan uranium oleh kedua bakteri tersebut mengalami peningkatan sejalan dengan lamanya waktu inkubasi. Pada *Pseudomonas aeruginosa*, setelah 6 jam inkubasi, kadar uranium sisa di dalam supernatant mengalami penurunan. kemudian setelah 54 jam meningkat lagi. Sedangkan pada *Bacillus subtilis* inkubasi setelah 6 jam juga menunjukkan penurunan kadar uranium sisa di dalam supernatant dan mencapai maksimal pada inkubasi jam ke 54 dengan efisiensi pengikatan lagi. Fenomena ini menunjukkan bahwa pada awal pertumbuhan kedua bakteri tersebut masih mengalami proses adaptasi terlebih dahulu. Efisiensi pengikatan

uraniu pada *Pseudomonas aeruginosa* lebih tinggi dibandingkan dengan *Bacillus subtilis* karena dinding selnya tersusun oleh peptidoglikan yang sangat berperan signifikan terhadap kemampuan dinding sel untuk membentuk kompleks dengan kation atau ion logam.⁽³⁾



Gambar 3. Efisiensi Pengikatan Uranium oleh *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis*

Lokasi Pengikatan Uranium

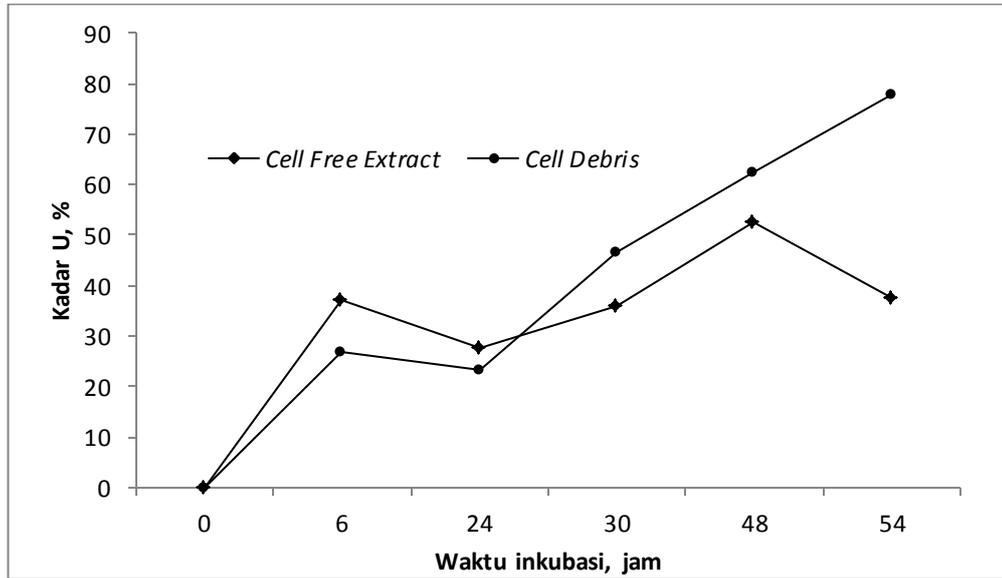
Penentuan lokasi pengikatan uranium pada bakteri dilakukan dengan cara memecah pelet yang diperoleh pada uji pengurangan uranium menggunakan *Ultrasonic Homogenizer* sehingga diperoleh dinding sel (*sel debris*) dan sitoplasma (*free extract*), kemudian ditentukan kandungan uranium pada masing-masing komponen sel tersebut. Hasil penentuan kandungan uranium di dalam sitoplasma dan dinding sel disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Lokasi Pengikatan Uranium pada *Bacillus sp* dan *Pseudomonas sp.* untuk Waktu Inkubasi 54 Jam

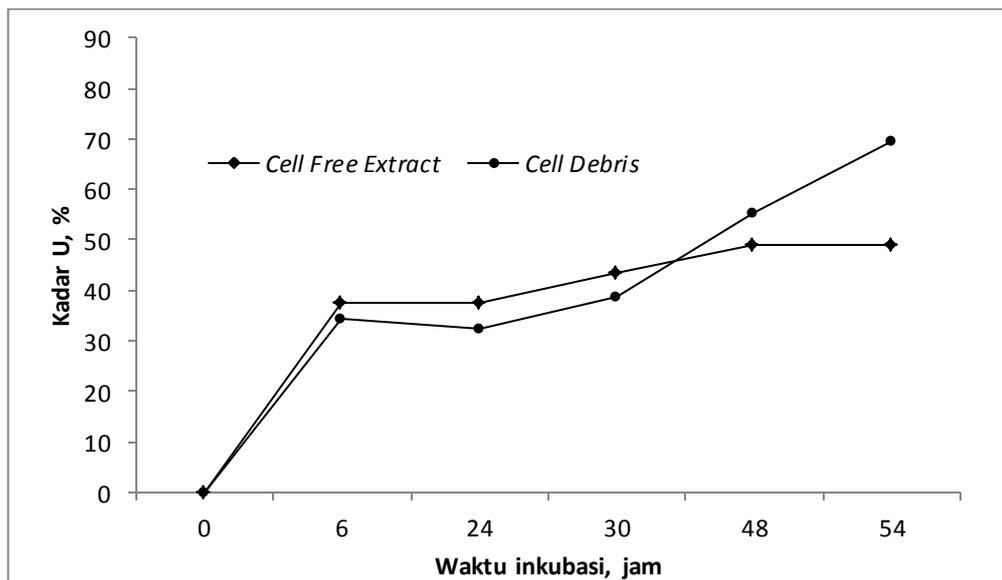
Waktu Inkubasi (Jam)	<i>Bacillus sp.</i>		<i>Pseudomonas sp.</i>	
	Sitoplasma (ppm)	Dinding sel (ppm)	Sitoplasma (ppm)	Dinding sel (ppm)
0	0	0	0	0
6	37,2	26,7	37,7	34,3
12	27,7	23,4	37,7	32,4
24	35,8	46,7	43,4	38,6
48	52,4	62,4	49,0	55,3
54	37,7	77,7	49,1	69,6

Pada *Bacillus sp.* kadar uranium pada sitoplasma tertinggi dicapai pada waktu inkubasi 48 jam yaitu sebesar 52,4 ppm. Sedangkan pada dinding sel tertinggi dicapai pada waktu inkubasi 54 jam yaitu sebesar 77,7 ppm. Untuk *Pseudomonas sp* kadar uranium pada sitoplasma tertinggi dicapai pada waktu inkubasi 48 jam yaitu sebesar 49,09 ppm. Sedangkan pada dinding sel tertinggi dicapai pada waktu inkubasi 54 jam yaitu sebesar 69,5 ppm.⁽⁸⁾ Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 4 dan 5.

Pengikatan unsur tertentu oleh sel bakteri ditentukan pula oleh tingkat toksisitasnya. Toksisitas dapat terjadi sebagai hasil dari pengikatan unsur tersebut pada ligand yang mengandung gugus reaktif sulfhidril, karboksil dan fosfat seperti protein dan asam nukleat. Sebagai konsekwensinya beberapa mikroba memiliki sistem adaptasi untuk mencegah toksisitas tersebut, antara lain dengan mencegah masuknya unsur tersebut ke dalam sel atau secara aktif memompa unsur tersebut agar keluar dari sel kembali. Kemungkinan lain yang terjadi, unsur yang masuk ke dalam sel akan terakumulasi di dalamnya dengan mekanisme difusi pasif ataupun transport aktif. Sebagai contoh *Pseudomonas* mampu mengakumulasi uranium melalui kedua proses tersebut dan akan membentuk deposit pada bagian intraseluler.



Gambar 4. Grafik Hubungan antara Waktu Inkubasi dengan Kadar Uranium di dalam Sel *Bacillus sp.*



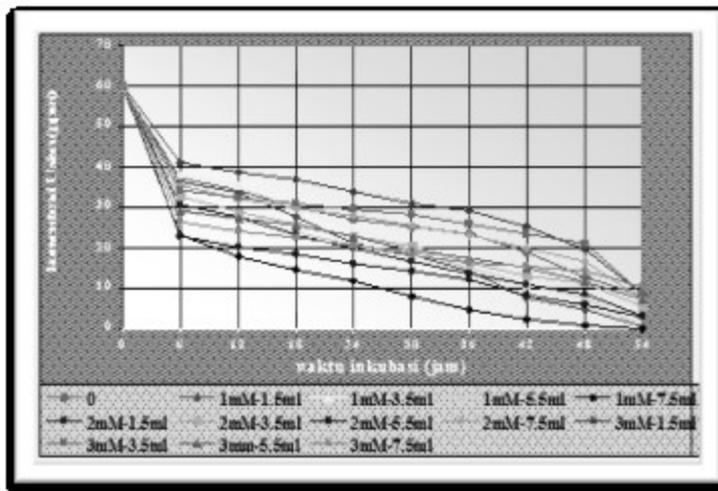
Gambar 5. Grafik Hubungan antara Waktu Inkubasi dengan Kadar Uranium di dalam Sel *Pseudomonas sp.*

Mekanisme pengikatan uranium oleh bakteri baik secara intraseluler maupun ekstraseluler pada umumnya berbeda untuk tiap jenis bakteri, yang berkaitan erat dengan struktur dan komposisi dari dinding selnya. Pengikatan terjadi pada saat ion uranium menempel pada permukaan sel, dimana ion tersebut akan terikat pada permukaan sel berdasarkan kemampuan afinitas kimia yang dimiliki. Proses pengikatan pada dinding sel dapat terjadi dengan dua cara, yaitu pertukaran ion dimana ion monovalent dan divalent seperti Na, Mg dan Ca pada dinding sel akan digantikan oleh ion-ion logam tersebut. Kedua, membentuk kompleks formasi antara ion logam dengan gugus fungsional seperti karboksil, amino, thiol, hidroksi, fosfat dan hidroksi-hidroksil yang berada pada dinding sel.

Penambahan Stimulan

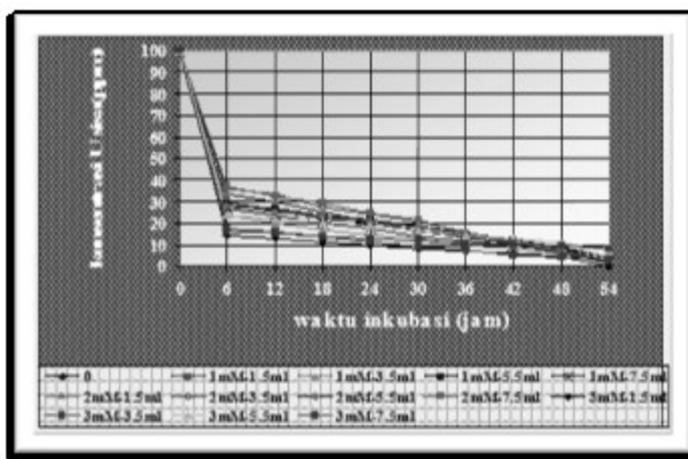
Penambahan stimulan asam asetat diharapkan dapat memperpanjang fase eksponensial karena menyediakan sumber karbon kedua selain *extract yeast* sebagai sumber karbon utama bagi bakteri, pada fase ini pada umumnya memerlukan sumber energi untuk pertumbuhannya sehingga berbanding lurus dengan peningkatan efisiensi pengikatan uraniumnya. Pengaruh penambahan asam asetat terhadap konsentrasi uranium sisa untuk waktu inkubasi 54 jam pada *Bacillus sp.* dan *Pseudomonas sp.*, disajikan pada Gambar 6 dan 7.

Pengikatan uranium dapat terjadi secara signifikan oleh *Bacillus sp.* pada waktu inkubasi 6 jam, pada rentang waktu tersebut masih banyak gugus fungsional pada membran sel yang dapat berikatan dengan ion uranil. Sedangkan pada jam berikutnya penurunan konsentrasi uranium terlihat lebih lambat karena sudah banyak gugus fungsional yang jenuh dengan ion uranil.



Gambar 6. Grafik Pengaruh Penambahan Asam Asetat terhadap Konsentrasi Uranium Sisa pada *Bacillus sp.* Waktu Inkubasi sampai dengan 54 Jam

Gambar 7 menunjukkan bahwa konsentrasi uranium sisa menurun tajam pada waktu inkubasi 6 jam yang disebabkan oleh melimpahnya jumlah gugus fungsional yang dapat berikatan dengan gugus uranil. Setelah waktu inkubasi 6 jam pertama, pengikatan uranium oleh *Pseudomonas sp* terus berlangsung sampai dengan akhir pengamatan sehingga konsentrasi uranium terendah terjadi pada waktu inkubasi terpanjang (54 jam).



Gambar 7. Grafik Pengaruh Penambahan Asam Asetat terhadap Konsentrasi Uranium Sisa pada *Pseudomonas sp.* Waktu Inkubasi sampai dengan 54 Jam

Jika dicermati, dimungkinkan adanya pemanfaatan asam asetat oleh *Pseudomonas sp.* berlangsung setelah waktu inkubasi 12 jam, yang ditandai dengan terjadinya penurunan asam asetat. Selama waktu inkubasi 1 jam pertama, dimungkinkan *Pseudomonas sp* hanya memanfaatkan *extract yeast* sebagai satu-satunya sumber carbon. Setelah jam ke 12 sampai dengan akhir pengamatan, asam asetat dalam media pertumbuhan mengalami penurunan secara kontinyu yang mengindikasikan adanya pemanfaatan asam asetat oleh *Pseudomonas sp.*⁽¹⁰⁾

Efisiensi pengikatan uranium oleh *Bacillus* maksimal pada penambahan asam asetat 1 mM sebanyak 7,5 ml dengan waktu inkubasi 54 jam yaitu sebesar 99,8 %, sedangkan pada *Pseudomonas* maksimal pada penambahan asam asetat 3 mM sebanyak 1,5 ml dengan waktu inkubasi 54 jam yaitu sebesar 99,8 %.

Penurunan kadar asam asetat di dalam media pertumbuhan diikuti dengan peningkatan pertumbuhan *Bacillus sp* dan ketika asam asetat di dalam media mulai menipis maka fase pertumbuhan eksponensial mulai melambat dan akhirnya memasuki fase stasioner. Setelah waktu inkubasi 6 jam kadar asam asetat mengalami penurunan hingga 54 jam, sebaliknya kurva pertumbuhan mengalami peningkatan secara kontinyu hingga waktu inkubasi 48 jam dan mulai memasuki fase stasioner pada pengamatan terakhir. Peningkatan kadar asam asetat selama 6 jam inkubasi pertama disebabkan adanya produksi asam tersebut oleh bakteri *Pseudomonas* sehingga selama selang waktu tersebut asam asetat yang ditambahkan belum dimanfaatkan sebagai sumber karbon. Penurunan kadar asam asetat di dalam media pertumbuhan mengindikasikan adanya pemanfaatan asam tersebut oleh bakteri, yang kemudian dapat mendukung proses regenerasi sel untuk meningkatkan pertumbuhan.

Hasil analisis varian menunjukkan bahwa penambahan asam asetat memberikan pengaruh yang signifikan terhadap lama waktu pencapaian fase stasioner baik pada *Bacillus* maupun *Pseudomonas*. Perlakuan penambahan asam asetat 1 dan 2 mM pada *Bacillus* memberikan pengaruh yang signifikan terhadap rerata lama waktu pencapaian fase stasioner dalam jam. Pada *Pseudomonas* lama waktu pencapaian fase stasioner berbeda secara signifikan terhadap kontrol pada penambahan 2 dan 3 mM. Dinding sel *Pseudomonas* memiliki struktur yang lebih kompleks dibandingkan dengan *Bacillus*. Dinding sel *Pseudomonas* terdiri dari lipopolisakarida (LPS), membran luar, peptidoglikan dan membran sitoplasma. Sedangkan dinding sel *Bacillus* hanya terdiri dari asam teikoat dan lipoteikoat yang tertanam pada peptidoglikan dan membran sitoplasma. Struktur dinding sel *Pseudomonas* yang lebih kompleks tersebut menyediakan pertahanan yang lebih optimal terhadap kondisi lingkungan yang asam.

Penambahan asam asetat dalam media pertumbuhan dengan konsentrasi dan volume yang tepat akan dimanfaatkan sebagai sumber karbon yang mendukung pertumbuhan kedua jenis bakteri tersebut. Pengambilan asam asetat terjadi melalui difusi pasif dengan bantuan monokarboksilat. Asam asetat berdifusi menyeberangi membran sitoplasma dalam bentuk terprotonisasi atau diangkut oleh ion H^+ simpoter dimana satu H^+ mengangkut per molekul asam asetat.

Asam asetat dapat mendukung pertumbuhan bakteri berkaitan dengan kemampuannya mengkonversi asam tersebut menjadi substrat yang siap dimetabolisme. Asam asetat dapat dikonversi menjadi asetil CoA melalui dua rute yang berbeda. Sebagian besar organisme mensintesis asetil CoA melalui reaksi asetil CoA sintetase (ACS) atau *asetat kinase (ACK)/fosfotransasetilase (PTA)*. *Bacillus* dapat melalui kedua jalur tersebut untuk menginterkonversi asam asetat dan asetil CoA. *Pseudomonas* menggunakan ACK dan PTA untuk membentuk asetil CoA.⁽³⁾

Hasil penelitian ini diharapkan untuk diaplikasikan dalam proses bioremediasi perairan yang terkontaminasi uranium sehingga akan terkonsentrasi pada endapan sehingga perairan tersebut bersih kembali dan dapat dimanfaatkan sesuai dengan peruntukannya. Endapan yang mengandung kontaminan uranium untuk selanjutnya dapat dilakukan proses immobilisasi menggunakan metode dan material yang sesuai.

KESIMPULAN

Isolat bakteri *Pseudomonas sp.* dan *Bacillus sp. indigenous* yang diisolasi dari limbah uranium cair aktivitas rendah dapat berperan sebagai agen bioremediasi perairan yang terkontaminasi uranium sampai dengan konsentrasi 60 ppm, dengan efisiensi pengikatan yang lebih tinggi dibandingkan bakteri *non indigenous* yaitu 52,70 % - 84,99 % waktu inkubasi 54 jam. Hal ini disebabkan karena bakteri *indigenous* tersebut telah mengalami proses adaptasi di habitat yang mengandung uranium dalam waktu yang relatif lama. Dengan penambahan stimulan asam asetat efisiensinya dapat ditingkatkan menjadi 99,8 %.

DAFTAR PUSTAKA

1. SUHENDRAYATNA, *Bioremoval Logam Berat Dengan Menggunakan Mikroorganisme*.(2011), http://www.istecs.org/publication/Japan/010211_suhendrayatna.PDF
2. WARDHANA, W., *Teknologi Nuklir*, Andi Offset, Yogyakarta, (2006)
3. GAZSO, L., *The Key Microbial Processes in The Removal of Toxic Metals and Radionuclides From The Environment* (2001), http://www.fjokk.hu/cejoem/files/volume7/vol7no3-4/CE01_3-4-03.htm.
4. DAUNER, M et al., "Intraceluller Carbon Fluxes in Riboflavin, Producing *Bacillus subtilis* during Growth on Two Carbon Substrat Mixtures." *Applied and Environmental Microbiology*, 68 (2002), 113-122

5. SARKAR, et al., 2008. "Microbial Biodiversity Screening for Metal Accumulators from mineral Rich Site in Andhra Pradesh, India". Jurnal of Biological Sciences 8 (2008):32-40
6. SOFYAN, H., *Dampak Lingkungan Eksploitasi Tambang Batubara*. <http://haniyahsofyan.blogspot.com/2009/11/dampak-lingkungan-eksploitasi-tambang.html>. 27 maret (2010)
7. *Program Dekomisioning Reaktor Kartini, Revisi 0*, PT APB-BATAN Yogyakarta, (2007)
8. ERWANSYAH L., *Pengolahan Limbah Radioaktif*. Pusat Kajian Radiografi dan Imaging, www.Puskaradim.blogspot, diakses tgl.28 Maret (2012)
9. M. YAZID & ZAINUL ARIFIN., *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Untuk Remediasi Radionuklida Uranium di dalam Lingkungan*, Prosiding Pertemuan dan Presentasi Ilmiah Penelitian Dasar Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Nuklir, BATAN YOGYAKARTA (2006), 41 - 47
10. M. YAZID, ARIS BASTIANUDIN., *Pengaruh Stimulan Asam Asetat Terhadap Efisiensi Pengikatan Uranium dalam Bioremediasi Lingkungan Menggunakan Bacillus sp. dan Pseudomonas sp.* Prosiding Pertemuan dan Presentasi Ilmiah Penelitian Dasar Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Nuklir, BATAN YOGYAKARTA (2010), 206 - 211