

PENGARUH KONSENTRASI Na-ALGINAT DAN UKURAN BEADS TERHADAP STABILITAS BEADS DAN AKTIVITAS SEL *Agrobacterium tumefaciens* LSU20 IMMOBIL DALAM BIODESULFURISASI DIBENZOTHIOPHENA

I Made Yoga Saputra¹, Nyoman Semadi Antara², Ida Bagus Wayan Gunam²

¹Mahasiswa Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, UNUD

²Dosen Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, UNUD

E-mail: semadi.antara@unud.ac.id

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the concentration and size of Na-alginate beads that have the highest degradation activity of dibenzothiophene. Biodesulfurization (BDS) of dibenzothiophene (DBT) was performed using 3 Na-alginate concentrations and 3 different beads sizes in the oil model system. Biodesulfurization was performed with incubation for 24 hours. The previous research showed that sodium alginate (Na-alginate) was an appropriate immobilizing agent compared to other immobilized materials. Na-alginate 4% show the activity of the degradation of the most good that is 66.33% (bead size 2 mm), 62.99% (bead size 3 mm), 59.93% (bead size 4 mm), for concentration of 3% Na-alginate showed 65.58% (bead size 2 mm), 61.68% (bead size 3 mm) and 60.43% (bead size 4 mm), while concentration 5% showed the most low that is 64.86% (bead size 2 mm), 61.01% (bead size 3 mm), and 58.89% (bead size 4 mm). The stability test showed Na-alginate 4% have the stability and durability of the bead stronger, the test showed Na-alginate can be used up to five repeat and still have degradation activity.

Key words: Biodesulfurization, Dibenzothiophene, Immobilized cells, Na-alginate.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki kekayaan alam yang sangat luar biasa, salah satunya adalah energi minyak bumi. Energi merupakan salah satu sumber daya yang sangat penting dan sangat dibutuhkan pada era modern seperti sekarang ini. Berbagai aktivitas manusia saat ini sangat tergantung terhadap ketersediaan sumber daya energi (Hidayati, 2013). Minyak bumi walaupun persediaannya semakin menurun namun masih merupakan sumber energi utama dunia. Produksi dan konsumsi energi primer dunia menunjukkan peningkatan yang terus-menerus. Penggunaan energi meningkat dengan meningkatnya kebutuhan dan keamanan. Penggunaan energi fosil terutama minyak bumi diakui mempunyai manfaat yang sangat luas namun mengandung senyawa beracun dan menimbulkan pencemaran lingkungan yang serius (Gunam *et al.*, 2013).

Untuk menghilangkan senyawa sulfur yang berasal dari bahan bakar fosil dilakukan proses hidrosulfurisasi. Proses hidrosulfurisasi ini memerlukan biaya yang sangat mahal dan memerlukan energi yang tinggi. Selain itu beberapa senyawa sulfur organik kompleks sangat sulit dihilangkan dengan proses desulfurisasi (Park *et al.*, 2003). Biodesulfurisasi salah satu metode yang bisa digunakan untuk menghilangkan senyawa sulfur aromatik dalam bahan bakar

fosil. Biodesulfurisasi adalah suatu metode untuk menurunkan kandungan sulfur dengan memanfaatkan mikroorganisme. Biodesulfurisasi memiliki keuntungan utama dibandingkan dengan hidrosulfurisasi yaitu proses ini tidak memerlukan kondisi reaksi yang tinggi seperti misalnya suhu dan tekanan yang tinggi. Proses biodesulfurisasi ini dapat terjadi pada kondisi suhu dan tekanan normal. Selain keuntungan yang disebutkan di atas, biodesulfurisasi juga mempunyai keunggulan lain yakni biaya yang lebih hemat dan energi yang diperlukan lebih efisien (Sohrabi *et al.*, 2012).

Biodesulfurisasi dapat dilakukan dengan *growing cells*, *resting cells* dan sel immobil. Proses biodesulfurisasi dengan *growing cells* dan *resting cells* sangat sulit dilakukan dan memerlukan jumlah sel yang banyak, serta sel sangat mudah terkontaminasi dan menurun viabilitasnya. Untuk mengatasi permasalahan ini proses biodesulfurisasi dapat dilakukan dengan sel immobil, karena imobilisasi sel dapat melindungi sel dari kondisi buruk lingkungan sekitar (suhu), proses separasi menjadi lebih mudah dan cepat, dan mempertahankan stabilitas sel. Berdasarkan penelitian sebelumnya telah dibuktikan bahwa bakteri *Pseudomonas stutzeri* UP-1 yang diimobilisasi dengan sodium alginat 4% dapat digunakan untuk mendesulfurisasi DBT secara efisien pada model minyak. Hasil menunjukkan bahwa sodium alginat merupakan bahan yang sangat sesuai karena memiliki tingkat kestabilan yang baik (Hou *et al.*, 2005). Berdasarkan penelitian pendahuluan juga menunjukkan bahwa Na-alginat dengan konsentrasi di bawah 4% memiliki viskositas yang rendah sehingga *beads* yang dihasilkan mudah hancur atau kurang kokoh dan bentuknya kurang seragam. Dengan demikian kemungkinan tidak dapat digunakan untuk mempertahankan viabilitas sel imobil selama penyimpanan. Sedangkan Na-alginat dengan konsentrasi lebih dari 8%, memiliki viskositas yang tinggi sehingga menyebabkan kesulitan dalam pembentukan *beads* (Dewi, 2005). Pada penelitian yang telah dilakukan, konsentrasi Na-alginat dan ukuran *beads* sudah diteliti pengaruhnya terhadap kemampuan immobil sel *Agrobacterium tumefaciens* LSU20 dalam mendegradasi sulfur dari dibenzothiophena. Pada penelitian ini dilakukan perbandingan konsentrasi bahan imobilisasi Na-alginat 3%, 4%, dan 5% serta ukuran *beads* 2 mm, 3 mm, dan 4 mm dengan tujuan untuk mendapatkan konsentrasi bahan dan ukuran *beads* dengan aktivitas tertinggi dalam biodesulfurisasi serta memiliki stabilitas yang baik.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Bioindustri dan Lingkungan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana dan Laboratorium Forensik Polda Bali dari bulan November 2016 sampai Februari 2017.

Bahan

Strain bakteri *Agrobacterium tumefaciens* LSU20 diperoleh dari kultur stock Laboratorium Bioindustri dan Lingkungan Fakultas Teknologi Pertanian. Media untuk menumbuhkan dan media untuk pengujian biodesulfurisasi dilakukan dalam sistem 2 lapis, yaitu medium yang mengandung mineral dan bebas sulfur dan minyak bumi. Komposisi dari medium adalah sebagai berikut : KH_2PO_4 (Merck), Na_2HPO_4 (Merck), NH_4Cl (Merck), NaCl (Applichem), $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Merck), CaCl_2 (Merck), FeCl_3 (Merck), $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck), MnCl_2 (Merck), $4\text{H}_2\text{O}$ (Merck), glukosa (Merck) dan senyawa sulfur organik yang telah terkonsentrasi

(CA). Bahan lainnya: Dibenzothiophene (Aldrich), Tetradekana (Merck), Minyak bumi (crude oil), bahan untuk immobilisasi sel Na-Alginat (Fluka).

Alat

Peralatan yang digunakan adalah *gas cromathography* (Agilent Technologies 6890N), *mass selective detector* (Agilent Technologies 5973), kolom HP 5 MS (60 m x 0,32 mm x 0,25 μ m; J&W Scientific), pH meter (Schoot instrument), spektrofotometer (Thermo scientific), *sentrifuge* (K3 series), *freezer*, *syringe*, ice box, blue ice, timbangan analitik, tabung reaksi, bunsen, pipet mikro (Thermo scientific), incubator (Mettler), *autoclave* (Hirayama), *laminar flow* (Kojair), *waterbath shaker* (Mettler), *magnetic stirrer* (SSM 79-1 + Hot Plate), *hot plate* (Mini Portabel 500W 220V), lemari pendingin (LG GN-B285SQBB), dan *vortex* (MX-FS, Continuous Operation).

Pembuatan Media Petumbuhan

Pembuatan media pertumbuhan MSSF (*Mineral Salt Sulfur Free*)-CA cair untuk media pertumbuhan mikroba yang mengandung senyawa sulfur aromatik terkonsentrasi (CA) yaitu dengan melarutkan 11,4 g KH_2PO_4 , 28,85 g Na_2HPO_4 , 10 g NH_4Cl , 0,375 g NaCl , 10,165 g $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 3,6746 g CaCl_2 , 1,351 g FeCl_3 , 0,0085 g $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,0495 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 1% glukosa, 0,1% senyawa sulfur aromatik terkonsentrasi (CA). Untuk pembuatan media uji degradasi *dibenzothiophene* MSSF-DBT cair sama dengan pembuatan media MSSF-CA cair, namun tidak menggunakan CA melainkan menggunakan *dibenzothiophene* yang dilarutkan dalam *tetradekana* (Gunam *et al.*, 2013).

Persiapan Kultur

Kultur kerja dipersiapkan dengan menginokulasi strain bakteri yang telah diremajakan (dari kultur stok) sebanyak 0,5 ml ke dalam tabung reaksi yang masing-masing berisi 5 ml media MSSF-CA dan 5 μ l sulfur aromatik (CA), diinkubasi pada suhu ruang selama 96 jam dengan kecepatan putaran *shaker* 150 rpm. Setelah masa inkubasi, tabung reaksi yang berisi suspensi sel ditumbuhkan lagi pada media MSSF-CA dalam Erlenmeyer 250 ml yang berisi 200 ml media MSSF untuk dilakukan perbanyakan sel strain bakteri dan penambahan 1 ml CA, diinkubasi pada suhu ruang selama 96 jam dan digojog dengan *shaker* pada kecepatan 150 rpm hingga didapat kultur kerja.

Immobilisasi Menggunakan Na-Alginat

Sebanyak 3%, 4%, & 5% Na-Alginat masing-masing dilarutkan pada 100 ml aquades steril dan di aduk menggunakan *magnetic stirrer* sampai terlarut. Setelah itu disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah dingin, 6 ml larutan Na-alginat dicampurkan dengan 3 ml suspensi sel yang telah ditentukan OD_{660} . Kemudian di *vortex* untuk mencampur bahan dengan suspensi sel. Setelah itu campuran diinjeksikan pada larutan CaCl_2 4% (b/v) pada suhu ruang untuk pembentukan *beads* alginat dengan ukuran berbeda yaitu 2mm, 3mm, dan 4mm, untuk mendapatkan ukuran *beads* tersebut sudah dilakukan pra penelitian sebelumnya yaitu dengan cara menyesuaikan lubang dari spuit yang akan digunakan. Sehingga mendapatkan ukuran *beads* yang diinginkan dan untuk mengeraskan butiran tersebut diperlukan waktu selama 6 jam pada suhu 4°C. Sel imobil yang telah mengeras kemudian dicuci dengan menggunakan larutan garam dan kemudian disimpan pada *freezer* pada suhu 4°C hingga digunakan (Gunam *et al.*, 2013).

Biodesulfurisasi dengan Imobilisasi Sel

Biodesulfurisasi dilakukan pada Erlenmeyer 100 ml yang berisi 17,5 ml larutan garam (NaCl 0,85%) dan 1,25 ml tetradekana yang mengandung 200 ppm DBT dengan suhu inkubasi

37°C pada *waterbath shaker* dan digojog dengan kecepatan 150 rpm. Sebelum sel imobil digunakan terlebih dahulu dilakukan aktivasi selama 20 jam pada media larutan garam 0,85% sebanyak 17,5 ml dan 1 ml glukosa dengan konsentrasi 1% sambil digojog dengan kecepatan 150 rpm (Hou *et al.*, 2005).

Setelah 20 jam *bead* dicuci dengan larutan garam 0,85%, kemudian ditambahkan dengan 17,5 ml larutan garam 0,85% dan 1,25 ml DBT 200 ppm dalam tetradekana, dan diinkubasi pada *waterbath shaker* dan digojog dengan suhu 37°C dengan lama 24 jam sampai 72 jam untuk tiap sampel. Setelah waktu inkubasi berakhir *bead* dipisahkan dari media dengan memindahkan fase air dan fase minyak, sementara *beads* dilakukan pencucian dengan menggunakan larutan garam 0,85%. *Beads* tersebut dapat digunakan kembali setelah aktivasi dengan menggunakan media larutan garam 0,85% yang mengandung glukosa. Fase air dilakukan analisis pH dan tingkat kekeruhan (OD), sedangkan fase minyaknya dianalisis residu DBT dalam tetradekana dengan GC-MS (Gunam *et al.*, 2013).

Pengujian Stabilitas Bahan Imobilisasi

Pengujian stabilitas bahan imobilisasi dilakukan dengan cara melakukan biodesulfurisasi secara berulang – ulang dengan menggunakan *bead* yang sama dan dengan ukuran *beads* yang berbeda. Pengujian dilakukan dengan masa inkubasi 24 jam dan aktivasi 20 jam, setelah penggunaan selama 24 jam sel imobil diaktifkan kembali dengan larutan garam 0,85% yang mengandung 1 ml glukosa 1% selama 20 jam lalu sel imobil siap digunakan kembali. Kedua proses tersebut terus dilanjutkan hingga *bead* ada yang mengalami kerusakan.

Variabel yang Diamati

Variabel yang diamati meliputi tingkat kekeruhan (OD₆₆₀) dengan spektrofotometer dan derajat keasaman (pH) menggunakan pH meter dari fase air, kemudian kadar residu DBT pada fase minyak dianalisis menggunakan GC-MS (*Gas chromatography - Mass Spectrometry*), serta pengujian stabilitas *beads* dengan tiga ukuran berbeda dari bahan imobilisasi Na-alginat dengan konsentrasi berbeda.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis ragam (Tabel 1), menunjukkan bahwa perlakuan ukuran *beads* dan konsentrasi Na-alginat berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$). Nilai rata-rata derajat keasaman (pH) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. pH setelah inkubasi imobilisasi sel selama 24 jam pada DBT 200 ppm dalam tetradekana menggunakan bakteri *Agrobacterium Tumefaciens* pada bahan imobilisasi Na-alginat.

Ukuran <i>Beads</i> (mm)	Konsentrasi Na-alginat		
	3%	4%	5%
2	6,65 ± 0,14 a	6,65 ± 0,07 ab	6,80 ± 0,07 ab
3	6,30 ± 0,07 ab	6,25 ± 0,21 bc	6,55 ± 0,28 bc
4	6,00 ± 0,21 bc	6,25 ± 0,07 bc	6,25 ± 0,00 c

Keterangan: Pengujian aktivitas biodesulfurisasi pada media NaCl 0,85% dan tetradekana. Diinkubasi pada *waterbath shaker* dengan suhu 37°C selama 24 jam dengan pH awal 7.

Tabel 1 menunjukkan bahwa semakin kecil ukuran *beads* dan semakin besar konsentrasi bahan maka pH akan semakin rendah. Hal tersebut dikarenakan semakin banyak *beads* yang dihasilkan maka aktivitas desulfurisasi sulfur juga akan semakin tinggi. Penurunan pH mengindikasikan adanya aktivitas biodesulfurisasi dibenzotiofena yang disebabkan oleh mikroorganisme (Aditiawati *et al.*, 2013). Semakin tinggi aktivitas biodesulfurisasinya maka akan menyebabkan penurunan pH. Senyawa sulfur yang terdegradasi dalam bentuk SO_3^{2-} dan SO_4^{2-} tersebut akan larut pada fase air sehingga akan terbentuk asam yang dapat menyebabkan pH mengalami penurunan (Monticello, 2000). Semakin tinggi tingkat aktivitas mikroorganisme dalam mendegradasi dibenzotiofena juga dapat menyebabkan penurunan pH. Senyawa sulfur yang terdegradasi tersebut akan larut pada fase air sehingga akan terbentuk asam yang dapat menyebabkan pH mengalami penurunan (Monticello, 2000).

Hasil analisis ragam (Tabel 2), menunjukkan bahwa perlakuan ukuran *beads* dan konsentrasi Na-alginat tidak berpengaruh sangat nyata ($P > 0,05$). Nilai rata-rata derajat keasaman (pH) dapat dilihat pada Tabel 2.

Tingkat kekeruhan menunjukkan semakin kecil konsentrasi Na-alginat maka tingkat kekeruhan cenderung meningkat (Tabel 2). Hal tersebut terjadi karena *beads* yang dihasilkan tidak terlalu keras sehingga pada pengujian mudah mengalami kebocoran pada *beads*. Selain dari adanya aktivitas dari mikroorganisme, peningkatan kekeruhan juga disebabkan karena adanya kebocoran dari bahan imobilisasi sehingga sel yang terperangkap di dalam bahan keluar dan membuat fase air menjadi keruh (Naito *et al.*, 2001).

Tabel 2. Perubahan tingkat kekeruhan pada biodesulfurisasi DBT menggunakan sel imobil *Agrobacterium tumefaciens* LSU20 dengan model minyak tetradekana pada $\lambda = 660$

Ukuran <i>Beads</i> (mm)	Konsentrasi Na-alginat		
	3%	4%	5%
2	0,091 ± 0,01 a	0,082 ± 0,00 a	0,081 ± 0,00 a
3	0,105 ± 0,02 a	0,083 ± 0,00 a	0,083 ± 0,00 a
4	0,113 ± 0,03 a	0,096 ± 0,01 a	0,093 ± 0,01 a

Keterangan : Pengujian aktivitas biodesulfurisasi pada media NaCl 0,85% dan tetradekana. Diinkubasi pada *waterbath shaker* dengan suhu 37°C selama 24 jam dengan pH awal 7.

Pada penelitian yang sudah dilakukan, Na-alginat dengan konsentrasi 5% memiliki ketahanan *beads* yang sangat bagus dan tidak mudah hancur, namun sangat sulit untuk dihomogenisasi dan dalam medegradasi dibenzotiofena agak kurang. Hal tersebut menunjukkan sedikitnya kebocoran dalam *beads* yang mengakibatkan peningkatan OD tidak terlalu tinggi. Sebaliknya Na-alginat dengan konsentrasi 3% mengalami peningkatan OD yang cukup tinggi, hal tersebut disebabkan karena ketahanan *beads* yang kurang bagus dan sangat mudah hancur. Na-alginat dengan konsentrasi 4% juga menunjukkan ketahanan *beads* yang cukup bagus, konsentrasi 4% memiliki tingkat degradasi yang paling tertinggi. Na-alginat dengan konsentrasi 4% juga lebih mudah untuk dihomogenisasi (Sitepu, 2011).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa residu DBT dari Na-alginat dengan konsentrasi 4% memiliki residu DBT yang terendah, dimana semakin rendah residu DBT yang dihasilkan maka aktivitas dari sampel menunjukkan hasil yang lebih bagus. Pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa DBT yang awalnya 200 ppm menjadi berkurang, residu atau sisa DBT dari Na-alginat 3%

sebesar 68,85 ppm, 76,64 ppm, dan 79,15 ppm dengan ukuran *beads* yang berbeda yaitu 2 mm, 3 mm, dan 4 mm. Na-alginat 5% sebesar 70,28 ppm, 77,99 ppm, dan 82,23 ppm dengan ukuran *beads* yang berbeda yaitu 2 mm, 3 mm, dan 4 mm. Sedangkan Na-alginat 4% menunjukkan hasil yang paling rendah yaitu 67,33 ppm, 74,03 ppm, dan 80,14 ppm dengan ukuran *beads* yang berbeda yaitu 2 mm, 3 mm, dan 4 mm.

Tabel 3. Residu DBT (ppm) pada biodesulfurisasi DBT menggunakan sel imobil *Agrobacterium tumefaciens* LSU20 dengan model minyak tetradekana.

Ukuran <i>Beads</i> (mm)	Konsentrasi Na-alginat		
	3%	4%	5%
2	68,85 ± 1,47 cd	67,33 ± 0,33 d	70,28 ± 0,72 cd
3	76,64 ± 1,56 ab	74,03 ± 1,10 bc	77,99 ± 0,78 ab
4	79,15 ± 2,27 ab	80,14 ± 1,80 a	82,23 ± 0,72 a

Keterangan : Pengujian aktivitas biodesulfurisasi pada media NaCl 0,85% dan tetradekana. Diinkubasi pada *waterbath shaker* dengan suhu 37°C selama 24 jam dengan pH awal 7.

Tingkat degradasi juga menunjukkan hal yang sama yaitu Na-alginat 4% memiliki aktivitas tertinggi dalam mendegradasi DBT. Pada Tabel 4 terlihat tingkat degradasi Na-alginat 4% mencapai 66,33%, 62,99%, dan 59,93% dengan ukuran *beads* yang berbeda yaitu 2 mm, 3 mm, dan 4 mm dan lama inkubasi selama 24 jam. Sedangkan Na-alginat 3% mendegradasi DBT sedikit lebih rendah dibandingkan Na-alginat 4%, yaitu 65,58%, 61,68%, dan 60,43% dengan waktu inkubasi yang sama yaitu 24 jam. Na-alginat 5% menunjukkan hasil degradasi paling rendah diantara 2 konsentrasi lainnya yaitu 64,86%, 61,01%, dan 58,89% dengan waktu inkubasi 24 jam. Menurut penelitian pendahulunya *free cell* digunakan sebagai pembanding. Hasil dari biodesulfurisasi menggunakan *free cell* tersebut ternyata memang lebih kecil, yaitu 52,30%, 54,81%, dan 55,95%. Hasil tersebut membuktikan bahwa dengan imobilisasi sel dapat menjaga atau melindungi sel dari efek fisiokimia seperti temperatur, pelarut, dan pH (Kourkoutas *et al.*, 2004). Karena sel yang diperangkap dalam bahan imobilisasi sudah terlindungi maka dapat meningkatkan aktivitas dan stabilitasnya dalam mendegradasi DBT menjadi lebih optimal (Tang *et al.*, 2012).

Tabel 4. Tingkat degradasi DBT (%) pada biodesulfurisasi DBT menggunakan sel imobil *Agrobacterium tumefaciens* LSU20 dengan model minyak tetradekana.

Ukuran <i>Beads</i> (mm)	Konsentrasi Na-alginat		
	3%	4%	5%
2	65,58 ± 0,73 ab	66,33 ± 0,16 a	64,86 ± 0,36 ab
3	61,68 ± 0,78 cd	62,99 ± 0,55 bc	61,01 ± 0,39 cd
4	60,43 ± 1,13 cd	59,93 ± 0,90 d	58,89 ± 0,36 d

Keterangan : Pengujian aktivitas biodesulfurisasi pada media NaCl 0,85% dan tetradekana. Diinkubasi pada *waterbath shaker* dengan suhu 37°C selama 24 jam dengan pH awal 7.

Stabilitas Bahan Imobilisasi Na-Alginat

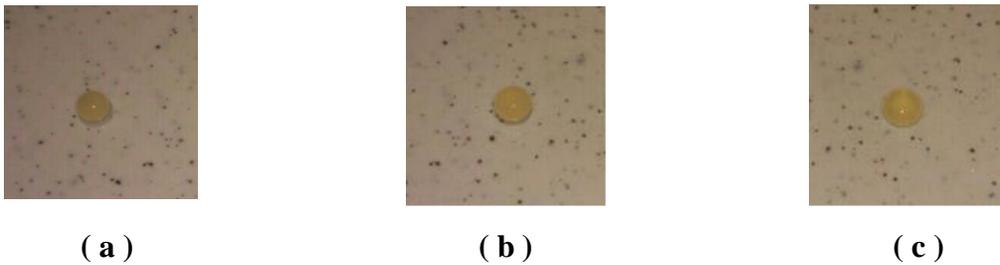
Berdasarkan dari hasil biodesulfurisasi dengan waktu inkubasi 24 jam didapatkan hasil bahwa bahan imobilisasi Na-alginat dengan konsentrasi bahan 4% dan dengan ukuran *beads* yaitu 2 mm mendapatkan hasil degradasi tertinggi dibandingkan dengan konsentrasi Na-alginat yang lainnya. Setelah didapatkan hasil tersebut kemudian Na-alginat dengan konsentrasi yang berbeda kembali diuji untuk tingkat stabilitas dan ketahanannya jika digunakan berulang – ulang.

Tabel 5. Biodesulfurisasi berulang – ulang dengan menggunakan sel imobil dari Na-alginat

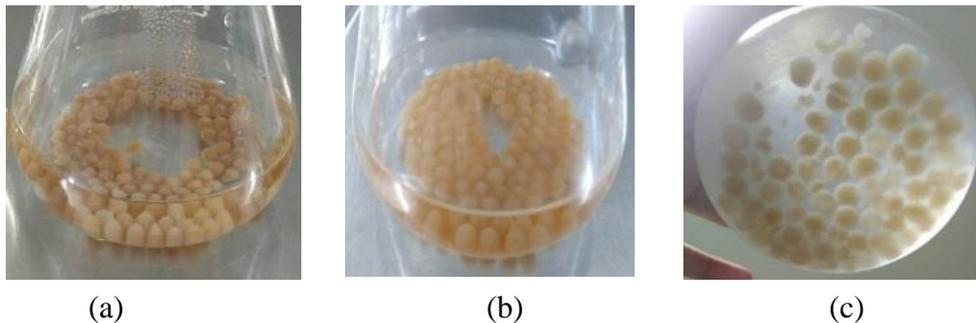
Ukuran <i>Beads</i> (mm)	Konsentrasi Na-Alginat		
	3%	4%	5%
2	65,58 ± 0,52 a	66,28 ± 0,15 a	64,81 ± 0,27 a
3	61,87 ± 0,64 bc	62,99 ± 0,39 b	61,10 ± 0,32 cd
4	60,33 ± 0,82 cde	60,09 ± 0,69 de	59,17 ± 0,55 e

Keterangan : Pengujian aktivitas biodesulfurisasi pada media NaCl 0,85% dan tetradekana. Diinkubasi dengan *waterbath shaker* pada suhu 37°C selama 24-72 jam dengan pH awal 7.

Na-alginat memiliki stabilitas dan ketahanan *beads* yang sangat baik, hal tersebut terlihat dari kemampuan Na-alginat mampu bertahan hingga ulangan ke-3. Na-alginat dengan konsentrasi 5% memiliki ketahanan *beads* yang paling bagus, hal tersebut terlihat dari keutuhan *beads* setelah pengujian ulangan ke-3. Namun Na-alginat dengan konsentrasi 4% tidak memperlihatkan perbedaan yang cukup jauh dari Na-alginat konsentrasi 5%. Sedangkan Na-alginat dengan konsentrasi 3% memperlihatkan ketahanan *beads* yang tidak terlalu bagus, hal itu terlihat dari lemahnya ketahanan *beads* pada saat dilakukan pengujian berulang-ulang.



Gambar 1. Ukuran *bead* Na-alginat dengan tiga ukuran berbeda. (a) *bead* 2 mm; (b) *bead* 3 mm; (c) *bead* 4 mm.



Gambar 2. Bentuk *bead* Na-alginat setelah dilakukan uji stabilitas biodesulfurisasi pada DBT 200 ppm dalam model minyak tetradekana. (a) Na-alginat 5%; (b) Na-alginat 4%; (c) Na-alginat 3%.

Na-alginat dengan konsentrasi 5% memiliki ketahanan *beads* yang paling bagus, akan tetapi dalam kemampuan mendegradasi DBT masih kurang dibandingkan dengan Na-alginat dengan konsentrasi 4% bahkan dengan Na-alginat 3% sekalipun. Hal tersebut terlihat dari hasil pengujian berulang-ulang yang dilakukan pada ketiga konsentrasi bahan yang sudah ditampilkan pada Tabel 5 di atas.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang sudah dilakukan diperoleh konsentrasi bahan dan ukuran *beads* terbaik, yaitu Na-alginat dengan konsentrasi 4% dan ukuran *beads* 2 mm atau dengan ukuran *beads* terkecil. Hasil pengujian yang dilakukan dapat diketahui bahwa konsentrasi Na-alginat 4% menunjukkan hasil degradasi DBT tertinggi dibandingkan dengan dua konsentrasi lainnya, yaitu 66,33% pada ukuran *beads* 2mm, 62,99% pada ukuran *beads* 3mm, dan 59,93% pada ukuran *beads* 4 mm. Dari hasil di atas juga dapat disimpulkan bahwa Na-alginat dengan konsentrasi 4% dan dengan ukuran *beads* terkecil (2 mm) memperlihatkan hasil paling bagus dan memiliki stabilitas dan ketahanan *beads* yang baik.

Saran

Dalam peremajaan dan perbanyakan kultur perlu ketelitian sehingga nantinya sel yang terkumpul dapat mencukupi untuk penelitian imobilisasi sel ini. Karena pada penelitian ini menggunakan OD yang cukup tinggi, sehingga jumlah sel sangat penting untuk mendapat OD yang tinggi tersebut. Penelitian lebih lanjut juga diperlukan untuk mengetahui aktivitas desulfurisasinya pada minyak bumi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditiawati, P., Akhmaloka, D.I. Astuti, Sugilubin, and M.R. Pikoli. 2013. Biodesulfurization of subbituminous coal by mixed culture bacteria isolated from coal mine soil of south sumatera. *Biotechnology* 12 (1):46-53.
- Gunam, I.B.W., Y. Yaku, M. Hirano, K. Yamamura, F. Tomita, T. Sone, and K. Asano. 2006. Biodesulfurization of alkylated forms of dibenzothiophene and benzothiophene by *Sphingomonas subartica* T7b. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 101(4):322-327.
- Gunam, I.B.W., K. Yamamura, I.N. Sujaya, N.S. Antara, W.R. Aryanta, M. Tanaka, F. Tomita, T. Sone, and K. Asano. 2013. Biodesulfurization of dibenzothiophene and its derivatives using resting and immobilized cells of *Sphingomonas subartica* T7b. *J. Microbiol. Biotechnol.* 23(4):473 – 482.

- Gunam, I.B.W., M. Iqbal, I.W. Arnata, N.S. Antara, A.A.M. Dewi Anggreni, Y. Setiyo, I.B.P. Gunadnya. 2016. Biodesulfurization of dibenzothiophene by a newly isolated *Agrobacterium tumefaciens* LSU20. *Applied Mechanics and Materials*. 855:143–149.
- Hidayati, N. 2013. Studi Konversi Batubara Menjadi Fraksi Bahan Bakar Cair Melalui Pirolisis dan Hidrorengkah Katalitik Dengan CoMo/ZAA Sebagai Katalis. Skripsi. Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Hou, Y., Y. Kong, J. Yang, J. Zhang, D. Shi, and W. Xin. 2005. Biodesulfurization of dibenzothiophene by immobilized cells of *Pseudomonas stutzeri* UP-1. *Fuel* 84:1975-1979.
- Kourkoutas, Y., A. Bekatorou, I. Banat. 2004. Immobilization technologies and support materials suitable in alcohol beverages production: a review. *Food Microbiology*. 21(4):377–397.
- Monticello, D.J. 2000. Biodesulfurization and the upgrading of petroleum distillates. *current opinion in biotechnology*. 11:540 – 546.
- Naito, M., T. Kawamoto, K. Fujino, M. Kobayashi, K. Maruhashi, A. Tanaka. 2001. Long-term repeated biodesulfurization by immobilized *Rhodococcus erythropolis* KA2-5-1 cells. *J. Microbiol. Biotechnol.* 55:374–378.
- Park, S.J., I.S. Lee, Y.K. Chang, and S.Y. Lee. 2003. Desulfurization of dibenzothiophene and diesel oil by metabolically engineered *Eschericia coli*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 13(4):578 – 583.
- Sitepu, A. 2011. Biodesulfurisasi Dibenzothiophene dalam Tetradecane Menggunakan Isolat KWN5 yang Terimmobilisasi. Skripsi. Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Udayana. Bali.
- Sohrabi, M., H. Kamyab, N. Janalizadeh, and F.Z. Huyop. 2012. Bacterial desulfurization of organic sulfur compound exist in fossil fuels. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 6(2):717 – 729.
- Tang, H., Q. Li, W. Zelong, D. Yan, and J. Xing. 2012. Simultaneous removal of thiophene and dibenzothiophene by immobilized *Pseudomonas delafieldii* R-8 cells. *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 20(1):47-51.