

PENENTUAN SUHU DAN SUMBER KARBON TERBAIK PADA PERTUMBUHAN ISOLAT SBJ8 DALAM BIODESULFURISASI DIBENZOTIOFENA

Gde Agung Bagus Surya Adnyana¹, Ida Bagus Wayan Gunam², A. A. Made Dewi Anggreni²

¹Mahasiswa Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Unud

²Dosen Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Unud

E-mail: suryaadnyana043@yahoo.co.id¹

E-mail koresponden: ibwgunam@unud.ac.id²

ABSTRACT

The determined of these research were to knowing optimal of temperature and carbon source of biodesulfurization isolate SBJ8. Isolate growth at Medium MSSF-TD with concentration of 200 ppm DBT in tetradecane which tested various temperature 37°C, 41°C, 45°C. The next step was to determine the best carbon source using glucose, sucrose and citric acid. The result of experiment showed isolate SBJ8 temprature at 37°C and pH 7 with carbon source glucose. In condition SBJ8 could growth (OD660) from 0,765, and 0,411 with DBT degradation rate in tetradecane each 76,7%, and 63,4%.

Keyword: biodesulfurization, SBJ8, dibenzothiophene, tetradecane.

PENDAHULUAN

Penggunaan energi fosil terutama minyak bumi mempunyai manfaat yang luas yaitu sebagai bahan bakar utama pada kehidupan manusia (Laras, 2006). Namun dalam pemanfaatannya dapat menyebabkan pencemaran karena adanya kandungan sulfur dan nitrogen. Pencemaran disebabkan oleh dua komponen gas, yaitu sulfur dioksida (SO₂) dan sulfur trioksida (SO₃) atau SO_x serta gas nitrogen oksida (NO_x) (Abinaya *et al.*, 2013). Emisi sulfur dioksida melalui pembakaran bahan bakar fosil adalah kontributor utama hujan asam dan polusi udara (Rashtchi *et al.*, 2005).

Salah satu usaha untuk mengatasi kandungan senyawa sulfur aromatik yang tinggi dalam minyak bumi adalah dengan proses biodesulfurisasi (Jasrizal, 2009). Biodesulfurisasi menggunakan mikroorganisme dipakai sebagai cara memisahkan sulfur secara spesifik dari fraksi hidrokarbon tanpa mengubah struktur karbon yang ramah lingkungan dengan kondisi tekanan suhu rendah (Monticello, 2000). Issassam, (2015) sebelumnya telah melakukan isolasi bakteri pendegradasi sulfur yang diambil dari tanah tercemar minyak bumi selama bertahun-tahun di daerah Samboja, Kutai, Kalimantan Timur yang mampu mendegradasi DBT. Penelitian ini menggunakan model minyak *n-tetradecane* dengan substrat dibenzotiofena.

Peneliti sebelumnya telah menemukan beberapa bakteri yang mempunyai potensi dalam mendegradasi sulfur, diantaranya *Rhodococcus rhodochorus* IGTS8, *Pseudomonas sp.*, *Desufovibrio desulfurican*, dan *Brevibacterium sp.* (Setti dan Lazarani, 1997). *S. subartica* T7b (Gunam *et al.*, 2006). spesies *Rhodococcus erythropolis* strain sp. IGTS8 (Watkins *et al.*, 2003), spesies *Encherichia coli* (Reichmuth *et al.*, 2000), dan spesies *Gordona* strain CYKS1 (Rhee *et al.*, 1998),

Suhu dan sumber karbon adalah salah satu komponen penting dalam pertumbuhan bakteri, khususnya bakteri pendegradasi sulfur (Gupta, 2004). Berdasarkan hal tersebut di atas maka perlu ditentukan

titik optimal bakteri dari isolat SBJ8 dalam mendegradasi sulfur dibenzotiofena untuk memaksimalkan potensi tersebut pada proses biodesulfurisasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan kondisi pertumbuhan terbaik pada suhu dan sumber karbon isolat SBJ 8 dalam mendegradasi DBT.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioindustri dan Lingkungan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana dan Laboratorium Forensik POLDA Bali dari September 2015 sampai Maret 2016.

Bahan dan Alat

Bakteri isolat SBJ8 diperoleh dari kultur stock Laboratorium Bioindustri dan Lingkungan Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, yang sebelumnya telah diisolasi dari sampel tanah yang tercemar minyak bumi di sekitar sumur minyak bumi di Samboja, Kalimantan Timur dari penelitian sebelumnya oleh (Issasam, 2015). Komposisi dari media adalah: KH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , NH_4Cl , NaCl , $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, CaCl_2 , FeCl_3 , $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Bahan-bahan lainya seperti glukosa, sukrosa, gliserol, asam sitrat, HCL, NaOH, senyawa sulfur aromatik, dibenzotiofena, dan model minyak tetradekana. Keseluruhan bahan kimia diperoleh dari Sigma, Wako, dan Aldrich.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya: timbangan analitik (Shimadzu), pipet mikro (Thermo scientific), inkubator (Mettler), *autoclave* (Hirayama), *laminar flow* (Kojair), *waterbath shaker* (Mettler), *sentrifuge* (K3 series), pH meter (Schott instruments), UV-Vis spektrofotometer (Thermo scientific), *gas chromatography* (Agilent Technologies 6890N), *mass selective detector* (Agilent Technologies), kolom HP 5 MS (30 m x 0,32 mm x 0,25 μm ; J&W Scientific).

Persiapan Media selektif non sulfur (MSSF-CA dan MSSF-TD)

Pembuatan media MSSF-CA cair yaitu dengan melarutkan, 28,85 g Na_2HPO_4 , 10 g NH_4Cl , 11,4 g KH_2PO_4 , 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, 0,005% senyawa sulfur aromatik yang telah terkonsentrasi (CA) dilarutkan dalam 1 liter aquades. pH media diatur pada kisaran pH 7 dan sterilisasi dengan suhu 121°C selama 15 menit. Untuk pembuatan media uji MSSF-DBT dibuat dengan cara yang sama seperti pembuatan MSSF-CA cair namun tidak ditambahkan CA melainkan ditambah dengan tetradekana yang mengandung 200 ppm dibenzotiofena (5 ml MSSF dan 1 ml TD) (Gunam *et al.*, 2006; 2013).

Penentuan Kondisi Optimal Biodesulfurisasi

Percobaan yang dilakukan adalah mencari kondisi pertumbuhan yang optimal dari bakteri isolat SBJ8 dengan 3 tahap percobaan. Pada tahapan pertama kultur kerja isolat SBJ8 diinkubasi pada variasi suhu 37°C, 41°C, dan 45°C dengan menggunakan pH 7 dan glukosa sebagai sumber karbon. Tahap selanjutnya sumber karbon menggunakan glukosa, sukrosa dan asam sitrat dengan suhu terbaik yang telah diperoleh dari

tahapan sebelumnya dan pH media awal 7, diinkubasi selama 96 jam dengan kecepatan *shaker* 150 rpm dengan menggunakan media uji MSSF-TD (5mL MSSF dan 1 mL TD mengandung 200 ppm DBT sebagai model minyak)

Variabel yang diamati

Variabel yang diamati antara lain, pertumbuhan mikroba sebelum dan sesudah proses desulfurisasi dengan mengukur absorbansinya dalam *optical density* (OD) pada panjang gelombang 660 nm (Guerinik dan Muttawah, 2003), menggunakan spektrofotometer, serta derajat keasaman (pH) (Gunam *et al*, 2006) menggunakan pH meter sebelum dan sesudah proses biodesulfurisasi pada fase air, sedangkan pada fase minyak sebelum dan sesudah proses biodesulfurisasi dianalisis residu DBT menggunakan GC-MS (Araujo, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Suhu Optimal Pertumbuhan isolat SBJ 8 Terhadap Degradasi DBT

Pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya adalah suhu dan sumber karbon. Bakteri psikrofil hidup pada kisaran suhu 0-20°C. Bakteri psikotrop dapat tumbuh pada suhu 0-35°C. Bakteri mesofil dapat tumbuh pada suhu 20-45°C dan bakteri termofil tumbuh pada suhu 45-65°C. Bakteri hipertermofil hidup pada suhu pada suhu di atas 90°C dan maksimal pada suhu 100°C, namun pada beberapa bakteri dapat hidup pada suhu 80-113°C (Black, 2008).

Perlakuan suhu terhadap aktivitas biodesulfurisasi (*growing cells*) oleh isolat SBJ 8, diamati dengan inkubasi selama 4 hari (96 jam). Perlakuan suhu untuk inkubasi selama proses desulfurisasi dilakukan dengan menggunakan suhu bervariasi yaitu 37°C, 41°C, 45°C. Data hasil pengamatan pengaruh perlakuan suhu pada pertumbuhan dan desulfurisasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh Perlakuan Suhu Pada Pertumbuhan Dan Degradasi DBT

Kode	Suhu	Residu	%Degradasi	OD H0	OD H4	pH H0	pH H4
SBJ8	37°C	468974963	76.7	0.154	0.765	6.73	5.06
	41°C	1118572137	44.1	0.033	0.468	6.70	5.89
	45°C	1723668049	13.8	0.071	0.282	6.58	6.12

Keterangan : Ditumbuhkan pada dua fase MSSF-DBT (1 mL TD model minyak n-tetradecane yang mengandung 200 ppm DBT dan 5 mL MSSF cair). Diinkubasi selama 96 jam di waterbath shaker pada suhu yang berbeda dengan pH awal media 7 menggunakan sumber karbon glukosa.

Tabel 1 menunjukkan bahwa tingkat degradasi DBT terbesar pada suhu 37°C sebesar 76.7% sedangkan tingkat degradasi DBT terkecil terdapat pada suhu 45°C sebesar 13.8%. Pada suhu 37°C juga memiliki tingkat pertumbuhan sel tertinggi sebesar 0.765 dan tingkat pertumbuhan sel terkecil berada pada suhu 45°C sebesar 0.282. Setiap mikroorganisme memiliki batas suhu terendah, batas suhu tertinggi, dan suhu optimum untuk pertumbuhan dan reproduksinya (Irianto, 2006). Penelitian lainnya juga menggunakan

suhu 37°C pada proses biodesulfurisasi untuk pertumbuhan bakteri *B. subtilis* strain WU-S2B (Kirimura et al., 2004) dan isolat strain KWN5 (Supatha, 2010).

Pertumbuhan Isolat SBJ 8 pada Variasi Sumber Karbon Terhadap Degradasi DBT

Sumber karbon media pertumbuhan dari bakteri isolat SBJ 8 yaitu: glukosa, asam sitrat, sukrosa. Pada sumber karbon ditambahkan sebanyak 1% (w/v) dari volume media pertumbuhan dari bakteri pendegradasi sulfur. Waktu inkubasi selama 96 jam dan digojog dengan kecepatan 150 rpm pada *waterbath shaker*. Data hasil isolat SBJ8 pada variasi sumber karbon dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh variasi sumber karon terhadap pertumbuhan dan degradasi DBT isolate SBJ8

Kode	Sumber Karbon	Residu	%Degradasi	OD H0	OD H4	pH H0	pH H4
	Glukosa	7315377959	63.4	0.143	0.411	6.80	5.32
SBJ8	Sukrosa	1083999105	45.8	0.109	0.397	6.44	5.99
	Asam Sitrat	1657952803	17.4	0.115	0.335	6.81	5.87

Keterangan : Ditumbuhkan pada dua fase MSSF-DBT (1 mL TD model minyak n-tetradecane yang mengandung 200 ppm DBT dan 5 mL MSSF cair). Diinkubasi selama 96 jam di *waterbath shaker* pada suhu yang berbeda dengan pH awal media 7 menggunakan sumber karbon glukosa.

Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa dari tiga jenis sumber karbon berbeda yang digunakan pada media tumbuh pada bakteri pendegradasi sulfur minyak bumi isolat SBJ 8. Sumber karbon jenis glukosa memiliki tingkat pertumbuhan yang tertinggi berdasarkan nilai OD₆₆₀ yaitu 0,411, diikuti sukrosa 0,397, dan yang paling terkecil adalah asam sitrat yaitu hanya 0,335. Presentase degradasi DBT dari aktivitas desulfurisasi tertinggi juga dengan menggunakan sumber karbon glukosa sebesar 63,4 % dan yang terkecil adalah asam sitrat hanya 17,4 %. Deoxyribonucleic acid (DNA) terbentuk setelah karbohidrat terkonversi dari glukosa oleh bakteri dan juga berfungsi sebagai sumber energy bagi mikroba (Funke, 2013). *R. Globerulus* (Guerinik & Muttawah, 2003), dan *R. erythropolis* strain IAWQ (Xu et al., 2009). Bakteri tersebut telah ditentukan bahwa glukosa adalah sumber karbon optimal dalam mendegradasi sulfur khususnya sulfur aromatik jenis DBT.

PENUTUP

Kesimpulan

Hasil penentuan kondisi terbaik isolat SBJ 8 pada variasi suhu, pH dan sumber karbon yang ditumbuhkan pada media MSSF-TD yang mengandung 200 ppm dibenzotiofena yang dilarutkan dalam tetradekana, menunjukkan bahwa pada suhu 37°C dapat mendegradasi dibenzotiofena tertinggi sebesar 76,7% dengan tingkat pertumbuhan (OD₆₆₀) sebesar 0,765 dan pada glukosa sebagai sumber karbon dapat mendegradasi dibenzotiofena tertinggi sebesar 63,4% dengan tingkat pertumbuhan (OD₆₆₀) sebesar 0,411.

Saran

Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui variasi pH media awal, ptimasi dan stabilitas serta pengaruh perlakuan dengan metode *resting cell* dan sel terimobilisasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abinaya, K., Sivalingam, A. and Kannadasan, T. 2013. Desulfurization of liquid fuels by selective extraction method. *International Journal of Scientific Reasearch*. 2: 172-175.
- Araujo, H.W. Casullo, Marta Cristina de Freitas Siva, dan Clarissa I Matos Lins. 2012. Oxidation of DBT by *Serratia marcescens* UCP 1549 formed biphenyl as final product. *Biotechnology for Biofuels* : 31-33.
- Black, J.G. 2008. *Microbiology*, 7th edition. John Wiley & Sons, Inc. Arlington.
- Funke, B. R.; Tortora, G. J; Case, and C L. 2013. *Microbiology : An Introduction*. Pearson Publish. USA
- Guerinik, K dan Q. Al-Mutawah. 2003. Isolation and Characterization of Oil-Desulphurizing Bacteria. Biotechnology Department, Kuwait Institute for Scientific Research.
- Gunam, I. B. W, Yaku, Y., Hirano, M., Yamamura, K., Tomita, F., Sone, T., and Asano, K. 2006. Biodesulfurization of Alkylated Forms of Dibenzothiophene and Benzothiophene by *Sphingomonas subarctica* T7b. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 101 : 322–327.
- Gunam, I.B.W., Kenta Yamamura, I N. Sujaya, N.S. Antara, W.R. Ayanta Michiko Tanaka, Fusao Tomika, T. sone, and Kozo Asanao. 2013. Biodesulfurization of Dibenzothiopena and Is Derivatives Using Resting and Imobilized Cells of *Sphingomonas Subarctica* T7b. *J. Microbiol. Biotechnol.* 23(4): 473-482.
- Irianto, K. 2006. *Mikrobiologi*. Yrama Widya : Bandung
- Issassam, B. 2016. Pengujian Bakteri Potensial Pendegradasi Dibenzothiophene (DBT) yang diisolasi dari Tanah yang Terkontaminasi Minyak Bumi di Samboja. Skripsi. Program Studi Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana. Bukit Jimbaran, Badung, Bali. Indonesia.
- Jasrizal, D. C. 2009. Deskripsi Dokumen : Biodesulfurisasi Minyak bumi Sebagai Upaya Pengurangan Pencemaran Lingkungan. Tesis S2. <http://www.digilib.ui.ac.id//opac/themes/libri2/detail.jsp?id=92772&lokasi=lokal>. Diakses Tanggal 21 September 2015.
- Kirimura, K, Furuya T, Sato R, dan Ishi Y. 2002. Biodesulfurization of Naphthothiophene and Benzothiophene through Selective Cleavage of Carbon-Sulfur Bonds. *Applied and Enviromental Microbiology*: 3867-3872.
- Matsui, T, Onaka T, and Maharuhasi K. 2001. Benzo[b]thiophene Desulfurization by *G.rubropertinctus* strain T08. *Appl Microbiol Biotechnol* 57: 212-215.
- Monticello, D. J. 2000. Biodesulfurization and the upgrading of petroleum distillates. Enchira Biotechnology Corporation.

- Rashtchi, M. 2005. Analysis of biodesulfurization of model oil system by the bacterium, strain RIPI-22. Tehran-South Islamic Azad University, Iran.
- Reichmuth, DS, Hittle JL, dan Blanch HW. 2000. Biodesulfurization of Dibenzothiopena in E.Coli is enhanced by expression of a Vibrio harveyi Oxidoreductase Gene. *Biotechnol. And Bioeng.* : 72-79.
- Rhee, SK, Chang JH, dan Chang KY. 1998. Deep Desulfurization of Dibenzothiopena and Diesel Oil by a Newly Isolated R.erythropolis Strain XP. *Applied and Enviromental Microbiology*: 2327-2331.
- Watkins, L. M. 2003. Purification and characterization of the aromatic desulfinate, 2-(20-hydroxyphenyl)benzenesulfinate desulfinate. Department of Chemistry and Biochemistry and Waste Management and Minimization Research Center, Southwest Texas State University.
- Xu, P., Jinhui F. and Bo Y. 2009. Recent Development in Biodesulfurization of Fossil Fuels. *Adv Biochem Engin/Biotechnol* 113:255-274.