

**Pengaruh Suhu dan pH terhadap Laju pertumbuhan Lima Isolat Bakteri
Anggota Genus *Pseudomonas* yang diisolasi dari Ekosistem Sungai
Tercemar Deterjen di sekitar Kampus Universitas Brawijaya**

***Effect of temperature and pH on the growth rate of Five Bacterial
Isolates Members of the *Pseudomonas* isolated from the Detergents
Contaminated River Ecosystem around the UB Campus.***

Sanita Suriani¹, Soemarno^{1,2}, Suharjono^{1,3}

¹ Program Magister Pengelolaan Sumberdaya Lingkungan, Universitas Brawijaya, Malang

² Jurusan Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya

³ Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui dampak temperature dan pH pada polulasi *Pseudomonas* pendegradasi limbah LAS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolate bakteri P2.1 dapat tumbuh maksimal pada pH 8; isolate P3.2 dan C2.1 dapat tumbuh optimal pada pH 7, sedangkan isolate C2.2 dan C2.3 dapat tumbuh optimal pada pH 5, dan isolate P3.2 dapat tumbuh optimal pada suhu 40°C, isolate C2.1 C2.2 dan C2.3 dapat tumbuh optimal pada temperature 30°C. Pada penelitian ini juga terdapat isolate yang tidak terpengaruh oleh perlakuan suhu. Hal ini dimungkinkan karena variasi suhu yang digunakan masih kisaran suhu optimum untuk pertumbuhan isolate, sedangkan isolate lain menunjukkan respon pertumbuhan akibat perlakuan suhu. Beberapa isolate menunjukkan pertumbuhan yang lambat, hal ini karena suhu yang digunakan untuk perlakuan dibawah suhu minimum atau diatas suhu maksimum untuk pertumbuhan bakteri.

Kata Kunci : *Pseudomonas*, LAS, temperatur

Abstract

This study aimed to determine effects of temperature and pH on the population dynamics of Pseudomonas LAS degrading waste. Results showed that bacterial isolates P2.1 able to grow optimally at pH 8; isolates P3.2 and C2.1 able to grow optimally at pH 7, while the C2.2 and C2.3 isolates able to grow optimally at pH 5, and P3.2 isolate grows optimally at a temperature of 40o C; isolates C2.1, C2.2 and C2.3 able to grow optimally at a temperature of 30o C. There is a isolate which is no responses to the temperature treatment. This is presumably due to temperature variations are still in the optimum temperature range for its growth, whereas other isolates showed a growth response to temperature treatment. Some isolates showed a slow growth, it due to the given temperature is below the minimum temperature or above the maximum temperature for their growth.

Keywords: *Pseudomonas*, LAS, temperature.

PENDAHULUAN

Linear Alkilbenzena Sulfonat (LAS) adalah surfaktan anionik yang digunakan secara luas untuk menggantikan golongan Alkil Benzena Sulfonat (ABS) sebagai bahan pembersih (detergen). Produksi dunia tahunan untuk surfaktan tidak termasuk sabun, dalam tahun 1990 diperkirakan mencapai 7 juta ton. Pada tahun 1997 produksi surfaktan meningkat mencapai 18 juta ton. Sejak tahun 1990, LAS menjadi perhatian peneliti karena terbukti residu LAS ditemukan pada limbah lumpur yang

digunakan untuk lahan pertanian. Hasil penelitian menunjukkan bahwa LAS terdistribusi predominan dalam air (97,5 %), tanah (0,5 %) dan sedimen (2 %). Surfaktan LAS memasuki tanah pertanian melalui beberapa jalur: (a) penggunaan limbah padat sebagai pupuk tanah pertanian, (b) penggunaan air limbah untuk irigasi, (c) infiltrasi tanah oleh air limbah atau air sungai yang tercemar LAS, dan (d) penggunaan formulasi pestisida mengandung LAS sebagai zat pengemulsi atau pendispersi. Adanya LAS dalam tanah memiliki dampak merugikan terhadap pertumbuhan bakteri aerobik tertentu, yang dapat mengganggu fungsi tanah pertanian (Brandt *et al.*, 2001; Kristiansen *et al.*, 2003;

Nielsen et al., 2004, Sanchez-Peinado et al., 2008).

Surfaktan LAS bersifat mudah dibiodegradasi terutama dalam kondisi aerobik (Prats et al., 2006). Surfaktan LAS mampu dibiodegradasi di bawah kondisi aerobik dalam media mengandung air, dan sebagian besar dapat dihilangkan dengan pengelolaan limbah cair, namun sejumlah fraksi penting (sebanyak 20-25 %) terimobilisasi dalam limbah padat dan persisten dalam kondisi anaerobik (Jacobsen, Mortensen dan Hansen. 2004; Sanchez-Penaído et al., 2009).

Bioremediasi merupakan teknologi restorasi lingkungan tercemar untuk menurunkan toksisitas polutan dengan menggunakan mikrobia (Halden et al., 1999; Vidali, 2001). Komunitas mikrobia memainkan peran yang sangat penting dalam biodegradasi senyawa-senyawa pencemar alami maupun yang berasal dari aktivitas manusia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Amonia Oxidizing Bacteria* (AOB) dari Genus *Nitrosomonas* dan *Nitrospora* mampu menghambat efek toksifitas dari surfaktan LAS. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dua strain bakteri dari Genus *Nitrospora* lebih efektif untuk menghambat toksisitas LAS dibanding dengan Genus *Nitrosomonas* (Brandt et al., 2001). Hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa spesies bakteri diantaranya *Pseudomonas* sp. dan *Flavobacterium* sp. mampu mendegradasi LAS (Locher et al., 1991).

Isolat bakteri pendegradasi deterjen umumnya bakteri Gram negatif kecuali *Bacillus*. Bakteri *Bacillus cereus* dapat tumbuh baik pada kolam yang terkontaminasi deterjen. *Bacillus* dapat menggunakan SDS (*sodium dodecyl sulphate*) yang merupakan deterjen yang banyak digunakan. Strain ini menunjukkan kemampuan yang cukup besar (43 %) pada medium mineral yang diperkaya dengan SDS 10 mg/ml. Pertumbuhan akan terpacu jika dalam medium mengandung pula glukosa. Namun demikian, pertumbuhan menunjukkan fase lag yang cukup panjang jika konsentrasi SDS lebih dari 5 mg/ml (Singh et al., 1998).

Bakteri anggota Genus *Pseudomonas* dominan di sedimen ekosistem sungai yang tercemar deterjen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa strain bakteri anggota genus *Pseudomonas* yang diisolasi dari ekosistem sungai tercemar memiliki potensi yang baik dalam mendegradasi LAS (Suharjono et al., 2007). Namun belum ada peneliti yang mengamati dinamika komunitas bakteri tersebut di

ekosistem sungai, khususnya sungai di sekitar Kampus Universitas Brawijaya Malang. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh faktor lingkungan yaitu suhu dan pH terhadap dinamika populasi bakteri Genus *Pseudomonas* pendegradasi limbah LAS.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei 2012 di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Brawijaya Malang.

Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri dengan Parameter Suhu dan pH

Biakan isolat-isolat bakteri *Pseudomonas* sp. merupakan isolat dari ekosistem sekitar Kampus UB yang tercemar deterjen diremajakan dalam medium mineral sederhana dengan LAS sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi menurut He et al. (1998) dalam Suharjono (2007).. Konsentrasi LAS dalam medium mineral untuk *Pseudomonas* sp. adalah 15 mg/L, sebagai konsentrasi optimum untuk pertumbuhannya. Semua strain tersebut diinkubasikan secara aerobik dalam inkubator penggojog dengan kecepatan 120 rpm pada suhu 30° C selama 24 jam. Semua strain tersebut sebelumnya diadaptasikan dalam medium dengan LAS sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Percobaan ini dilakukan secara monokultur dalam sistem biakan tertutup (*batch culture*).

Setiap strain bakteri kemudian diberi perlakuan pH dan suhu yang berbeda, masing-masing strain diinkubasikan pada pH 5, pH 7 dan pH 8 untuk mempelajari apakah ada pengaruh pH terhadap laju pertumbuhan bakteri tersebut. Setiap strain juga diinkubasikan dengan perlakuan suhu yang berbeda yaitu suhu 20° C, 30° C, dan 40° C. Selanjutnya kita ukur laju pertumbuhan bakteri dihitung dengan rumus 1.

$$k = \frac{(\log N_t - \log N_0)}{0.301.t} \quad (1)$$

Pengamatan terhadap pengaruh pH dan suhu dilakukan setiap 2 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pengaruh pH terhadap Populasi Bakteri dalam Media Mineral Sederhana dengan LAS sebagai Satu-Satunya Sumber Karbon

Salah satu faktor penting dalam pertumbuhan bakteri adalah nilai pH. Bakteri memerlukan suatu pH optimum (6,5 - 7,5) untuk tumbuh optimal. Nilai pH minimum dan

maksimum untuk pertumbuhan kebanyakan spesies bakteri adalah 4 dan 9. Pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri ini berkaitan dengan aktivitas enzim. Enzim ini dibutuhkan oleh beberapa bakteri untuk mengkatalis reaksi-reaksi yang berhubungan dengan pertumbuhan bakteri. Apabila pH dalam suatu medium atau lingkungan tidak optimal maka akan mengganggu kerja enzim-enzim tersebut dan akhirnya mengganggu pertumbuhan bakteri itu sendiri (Pelczar dan Chan, 1986).

Pada penelitian ini, digunakan tiga indikator pH untuk mengamati pertumbuhan lima isolat bakteri. Hasil penelitian menunjukkan kelima isolat bakteri P2.1, P3.2, C2.1, C2.2 dan C2.3 dapat tumbuh pada media mineral sederhana dengan pH antara 5-8. Hasil penelitian menunjukkan bahwa laju pertumbuhan kelima isolat bakteri berbeda-beda pada tiap perlakuan pH. Hasil penelitian ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan Laju pertumbuhan lima Isolat bakteri pada variasi pH yang berbeda

pH	Laju pertumbuhan isolat (generasi/jam)				
	P21	P32	C21	C22	C23
5	0,171 ± 0,02b	0,175 ± 0,05a	0,215 ± 0,006a	0,083 ± 0,007b	0,232 ± 0,004b
7	0,076 ± 0,03a	0,218 ± 0,012b	0,238 ± 0,009b	0,049 ± 0,01a	0,213 ± 0,006a
8	0,219 ± 0,02c	0,188 ± 0,008a	0,235 ± 0,013ab	0,065 ± 0,007ab	0,210 ± 0,006a

Hasil analisis menunjukkan bahwa laju pertumbuhan lima isolat bakteri mempunyai variasi yang nyata, dan ada pengaruh interaksi antara isolat bakteri dan pH terhadap laju pertumbuhan. Huruf yang berbeda pada setiap angka menunjukkan berbeda nyata laju pertumbuhan tiap isolat bakteri ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa laju pertumbuhan isolat bakteri dipengaruhi oleh pH dan jenis isolat yang berbeda. Isolat P2.1 memiliki beda nyata pada tiap perlakuan pH yang berbeda. Terlihat bahwa faktor pH sangat memengaruhi laju pertumbuhan isolat P2.1. Isolat ini mampu tumbuh lebih cepat pada media dengan pH 8, sedangkan pada empat isolat lainnya variasi yang diberikan tidak begitu besar. Untuk isolat P3.2 dan C2.1 tumbuh lebih cepat pada media dengan pH 7 sedangkan untuk isolat C2.2 dan C2.3 tumbuh lebih cepat pada media dengan pH 5. Perubahan kondisi lingkungan akan memengaruhi pertumbuhan dan kehidupan bakteri awal, sehingga bakteri yang tidak mampu beradaptasi pada kondisi tersebut akan

mengalami kematian karena kondisi lingkungan yang tidak mendukung proses metabolisme bakteri tersebut (Supriatin, 2008).

2. Pengaruh suhu terhadap Populasi Bakteri dalam Media Mineral Sederhana dengan LAS sebagai Satu-Satunya Sumber Karbon

Bakteri anggota Genus *Pseudomonas* umumnya tumbuh pada suhu optimal yaitu 37 – 40 °C. Namun ada beberapa bakteri anggota Genus *Pseudomonas* yang dapat hidup pada suhu di bawah suhu optimal tersebut. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua isolat bakteri dapat tumbuh pada rentang suhu 20°C sampai dengan 40 °C. tetapi ada beberapa isolat bakteri yang tumbuh lebih baik pada suhu 40°C seperti pada isolat P3.2 dan C2.3, ada juga yang tumbuh lebih baik pada suhu 20 °C seperti pada isolat C2.2 dan untuk isolat C21 dan P2.1 tumbuh lebih baik pada suhu 30°C. Perbedaan faktor suhu dapat terjadi karena bakteri anggota Genus *Pseudomonas* dapat hidup pada rentang suhu rendah.

Tabel 2. Perbandingan Laju pertumbuhan lima Isolat bakteri pada variasi suhu yang berbeda

Suhu	Laju pertumbuhan isolat (generasi/jam)				
	P21	P32	C21	C22	C23
20 °C	0,047 ± 0,008a	0,025 ± 0,004a	0,076 ± 0,015a	0,033 ± 0,006ab	0,085 ± 0,004b
30 °C	0,076 ± 0,005a	0,218 ± 0,006b	0,238 ± 0,009b	0,049 ± 0,007b	0,213 ± 0,009c
40 °C	0,047 ± 0,008a	0,236 ± 0,012c	0,079 ± 0,024a	0,030 ± 0,007a	0,108 ± 0,008a

Hasil analisis menunjukkan bahwa laju pertumbuhan lima isolat bakteri mempunyai variasi yang nyata, dan ada pengaruh interaksi antara isolat bakteri dan suhu terhadap laju pertumbuhan. Pada tabel 5.4, huruf yang berbeda pada setiap angka menunjukan beda nyata ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa laju pertumbuhan isolat bakteri dipengaruhi oleh suhu dan isolat yang berbeda. Pada Tabel 5.4 dapat dilihat bahwa isolat P3.2 dan C2.3, memiliki variasi yang nyata pada laju pertumbuhannya, artinya suhu memberikan pengaruh yang sangat nyata pada kedua isolat ini. Sementara itu dua isolat lain yaitu C2.1 dan C2.2 memiliki variasi laju pertumbuhan yang tidak begitu besar. Untuk isolat C2.1 variasi yang ada pada suhu 30° C sedangkan pada isolat C2.2 variasi ada pada suhu 40° C, sedangkan untuk isolat P2.1 tidak berbeda nyata pada tiap variasi suhu yang ada ($p > 0,05$). Kelima isolat memiliki laju pertumbuhan optimum yang berbeda, isolat P3.2 memiliki laju pertumbuhan

terbaik pada suhu 40° C, sedangkan isolat C2.1, C2.2 dan C2.3 mempunyai laju pertumbuhan yang baik pada suhu 30° C.

Suhu sangat memengaruhi kecepatan pertumbuhan mikrobial, kecepatan sintesis enzim dan kecepatan inaktivasi enzim (Knob dan Carmona, 2008). Pada penelitian ini terlihat pada isolat P3.2 dimana laju pertumbuhannya meningkat seiring dengan peningkatan suhu. Setiap mikrobial termasuk bakteri mempunyai suhu optimum, maksimum dan minimum untuk pertumbuhannya. Jika suhu lingkungan lebih kecil dari suhu minimum atau lebih besar dari suhu maksimum pertumbuhannya maka aktivitas enzim akan terhenti bahkan pada suhu yang terlalu tinggi akan terjadi denaturasi enzim (Sari, 2012). Pada penelitian ini, ada isolat yang tidak memberikan variasi pada tiap perlakuan suhu yang diberikan. Hal ini diduga terjadi karena suhu yang diberikan masih tergolong dalam rentang suhu optimum dari pertumbuhannya, sedangkan beberapa isolat memiliki variasi laju pertumbuhan pada perlakuan suhu yang diberikan. Isolat-isolat yang pertumbuhannya lambat diduga karena faktor suhu yang diberikan lebih kecil dari suhu minimum atau lebih besar dari suhu maksimum pertumbuhannya. Menurut Sari (2012) pertumbuhan mikrobial terjadi pada suhu dengan kisaran kira-kira 30° C. Kecepatan pertumbuhan mikrobial meningkat lambat dengan naiknya suhu mencapai kecepatan pertumbuhan maksimum. Di atas suhu maksimum kecepatan pertumbuhan mikrobial menurun dengan cepat dengan naiknya suhu.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Bakteri isolat P2.1 mampu tumbuh optimal pada pH 8; Isolat P3.2 dan C2.1 mampu tumbuh optimal pada pH 7; sedangkan isolat C2.2 dan C2.3 mampu tumbuh optimal pada pH 5 dan isolat P3.2 tumbuh optimal pada suhu 40° C; Isolat C2.1, C2.2 dan C2.3 mampu tumbuh optimal pada suhu 30° C. Pada penelitian ini, ada isolat yang tidak memberikan variasi pada tiap perlakuan suhu yang diberikan. Hal ini diduga terjadi karena suhu yang diberikan masih tergolong dalam rentang suhu optimum dari pertumbuhannya, sedangkan beberapa isolat memiliki variasi laju pertumbuhan pada perlakuan suhu yang diberikan. Isolat-isolat yang pertumbuhannya lambat diduga karena faktor suhu yang diberikan lebih kecil dari suhu minimum atau lebih besar dari suhu maksimum pertumbuhannya.

Saran

Penelitian lebih lanjut adalah penelitian terhadap faktor-faktor eksternal yang memengaruhi pertumbuhan bakteri anggota Genus *Pseudomonas* dalam mendegradasi LAS.

DAFTAR PUSTAKA

- Brandt K. K, Hessesloye M, Roslev P, Henriksen K., Soyrensen J., 2001. Toxic Effects of Linear Alkylbenzene Sulfonate on Metabolic Activity, Growth Rate, and Microcolony Formation of *Nitrosomonas* and *Nitrospira* Strains. *Appl. Environ. Microbiol* 67(6) : 2489–2498
- Brandt, K. K.; Nielsen, K. L.; Hesseløe, M.; Pedersen, A.; Henriksen, K. dan Sørensen, J. 2001. Toxicity effects of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) in Autotrophic ammonia-oxidizing bacteria from agricultural soil. Abstracts for the 11th Annual Meeting of SETAC-Europe, Madrid, Spain, May 6-10. 2001.
- Halden, R. U., S. M. Tepp, B. G. Halden & D. F. Dwyer. 1999. Degradation of 3-Phenoxybenzoic Acid in Soil by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* POB310 (pPOB) and Two Modified *Pseudomonas* Strains. *Appl. Environ. Microbiol.* **65**(8): 3354-3359.
- He, W., T. Weidong, Z. Guang, C. Gup-Qiang & Z. Zengming. 1998. Production of Novel Polyhydroxyalkanoates by *Pseudomonas stutzeri* 1317 from Glucose and Soybean Oil. *FEMS Microbiol. Lett.* **169**: 45-49.
- Jacobsen, A.M., G.K.Mortensen dan H.C.B. Hansen. 2004. Degradation and Mobility of Linear Alkylbenzene Sulfonate and Nonylphenol in Sludge-Amended Soil. *JEQ.* Vol. 33 No. 1, p. 232-240.
- Knob, A & Carmona, E.C. 2008. Xylanase production by *Penicillium sclerotiorum* and its characterization. *World Applied Sciences Journal* **4**(2): 277-283.
- Kristiansen, I.B., Hubert de Jonge, Per Nørnberg, Ole Mather-Christensen, dan Lars Elsgaard. 2003. Sorption of linear alkylbenzene sulfonate to soil components and effects on microbial iron reduction. *Environmental Toxicology and Chemistry.* Vol. 22, Issue 6, pages 1221–1228, June 2003.

- Locher H.H, C. Malli C, Hooper S, Vorherr T, Leisinger T, Cook A.M. 1991. Degradation of *p*-toluene sulphonic acid via oxygenation of methylsidechain is initiated by the same set of enzymes in *Commamonas testosteroni* T-2. J. Gen. Microbiol. 137 : 2201-2208.
- Nielsen, K.B., K.K. Brandt, Anne-Marie Jacobsen, G.K. Mortensen, dan J. Sørensen. 2004. Influence of soil moisture on linear alkylbenzene sulfonate-induced toxicity in ammonia-oxidizing bacteria. Environmental Toxicology and Chemistry. Vol. 23, Issue 2, pages 363–370, February 2004.
- Prats D, C. Lopez, D. Vallejo, P. Varo, V.M. Leon, 2006. Effect of temperature on the biodegradation of Linear Alkylbenzene Sulfonat and alcohol ethoxylate. J. Surfact. Det. 9 : 69–75.
- Sanchez-Peinado M, J.G. Lopez, B. Rodelas, V. Galera, C. Pozo, M.V. Martinez Toledo. (2008). Effect of Linear Alkylbenzene Sulfonates on the Growth of aerobic heterotrophic cultivable bacteria isolated from an agricultural soil. Ecotoxicology 17 (6): 549–557
- Sanchez-Peinado M, J.G. Lopez, B. Rodelas, V. Galera, C. Pozo, M.V. Martinez Toledo. (2009). Response of Soil Enzymes to Linear Alkylbenzene Sulfonat (LAS) addition in soil microcosms. Environ. Sci. Pollut. 41: 69-76
- Suharjono, J. Subagja, L. Sembiring, C. Retnaningdyah, IKJW Putra. 2007. Pengaruh konsentrasi Nitrogen dan Fosfor terhadap potensi Pseudomonas Pendegradasi Alkilbenzene Sulfonat Linier (LAS). Berk. Penel. Hayati. **12(107-113)**
- Supriatin, Yati. 2008. Kajian Produksi Biogas Skala Laboratorium dengan Inokulum Konsorsium Alami Metanogen dalam Substrat Bungkil Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L). Tesis Bioteknologi ITB.
- Vidali, M. 2001. Bioremediation. An Overview. *Pure Appl. Chem.* **73(7)**: 1163-1172.