

KARAKTERISASI FENOTIPIK ISOLAT BAKTERI TOLERAN URANIUM

Heni Mutmainnah¹, Serli Yanti Binti Madu²
^{1,2}Dosen Jurusan Pendidikan Biologi IAIN Ambon
E-mail: henimutmainnah@gmail.com

Abstrak: Uranium merupakan unsur radioaktif berbahaya yang bersifat radiotoksik. Meningkatnya penggunaan uranium sebagai bahan bakar pembangkit listrik tenaga nuklir menyebabkan limbah uranium semakin meningkat. Oleh sebab itu diperlukan teknologi remediasi untuk mengolah limbah radioaktif dengan memanfaatkan mikroorganisme. Beberapa bakteri diketahui memiliki potensi untuk berinteraksi dengan uranium melalui transformasi redoks dan biopresipitasi dengan melepaskan fosfat anorganik untuk mengikat uranium dilingkungan. Fosfat anorganik dihasilkan dari degradasi polifosfat yang terakumulasi dalam sel. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi isolat bakteri potensial pengakumulasi polifosfat yang bersifat toleran terhadap uranium di Indonesia. Karakterisasi dilakukan secara fenotipik yang meliputi identifikasi morfologis, fisiologis, dan biokimiawi. Hasil uji beberapa karakter kunci pada level genus (*generic assignment*) menunjukkan bahwa seluruh karakter sesuai terhadap genus *Acinetobacter*. Bentuk sel isolat A671 yang diamati pada fase eksponensial yaitu *cocobacil* dengan ukuran panjang 1,8 μm dan diameter 1,0 μm , namun pada fase stasioner, bentuk sel berubah menjadi *spherical* (bulat). Isolat bersifat katalase positif, oksidase negatif, gram negatif, *nonmotil*, tidak membentuk kapsul dan spora, tidak dapat mengoksidasi 9 jenis sakarida, dan memiliki tingkat toleransi terhadap kadar garam yang tinggi.

Kata kunci: Bakteri, Uranium, Karakterisasi Fenotipik

Uranium merupakan unsur radioaktif yang saat ini banyak digunakan sebagai bahan bakar komersial pembangkit listrik tenaga nuklir yang mulai menggantikan penggunaan bahan bakar fosil (U.S. Environmental Protection Agency, 2015). Meningkatnya penggunaan energi nuklir berdampak langsung pada meningkatnya jumlah limbah radioaktif yang mencemari lingkungan. Menurut USEPA (2015) Uranium memiliki waktu paruh yang lama dan akan tetap berada dilingkungan dalam waktu yang lama. Uranium ini akan terus menerus mengeluarkan radiasi selama waktu peluruhannya sehingga berpotensi menimbulkan efek radiotoksik terhadap organisme dilingkungannya termasuk manusia. *Agency for Toxic Substances and Disease Registry* (2013) menjelaskan bahwa paparan uranium dapat menyebabkan rusaknya sel-sel tubular ginjal, merusak sistem pernafasan, sistem reproduksi dan mengganggu perkembangan organisme. Oleh karena itu diperlukan teknologi remediasi untuk mengolah limbah radioaktif antara lain dengan memanfaatkan mikroorganisme (Li & Zhang, 2012; Badan Tenaga Nuklir Nasional, 2015).

Beberapa bakteri diketahui memiliki potensi untuk berinteraksi dengan uranium antara lain pengikatan spesies uranil kationik pada membran dan dinding sel melalui ligan anion, akumulasi intraselular dan ekstraseluler melalui transformasi redoks dan biopresipitasi uranium melalui pengikatan dengan gugus fosforil pada dinding sel bakteri (Renninger *et al.*, 2004; Martins *et al.*, 2010; Choudhary & Sar 2011). *Bacillus sphaericus* dan *Spingomonas* sp. diketahui mampu menghasilkan spesies fosfat anorganik dalam kuantitas yang cukup untuk menghilangkan 70% U dari larutan melalui metode presipitasi (Merroun *et al.*, 2011). Spesies fosfat anorganik ini dihasilkan dari proses degradasi polifosfat yang telah diakumulasi oleh sel bakteri. *Acinetobacter* spp. diketahui dapat mengakumulasi polifosfat lebih banyak dari pada yang dibutuhkan untuk sintesis sel (Sidat *et al.*, 1999).

METODE PENELITIAN

1. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri A671 toleran uranium pada konsentrasi 0,4 mM yang bersifat fakultatif anaerob dan potensial pengakumulasi polifosfat. Sampel penelitian diisolasi dari limbah yang mengandung uranium dari Pusat Sains dan Teknologi Akselerator (PSTA) BATAN Yogyakarta.

2. Identifikasi Secara Fenotipik

Setelah dilakukan pemurnian isolat bakteri, selanjutnya dilakukan identifikasi secara konvensional berdasarkan karakteristik fenotipik yang terdiri dari uji morfologis, fisiologis, dan biokimia. Identifikasi morfologis dan biokimiawi dilakukan berdasarkan atas beberapa parameter seperti dijelaskan dalam Brown & Smith (2015). Selanjutnya, isolat juga diidentifikasi secara fisiologis mengikuti metode (Jutono *et al.*, 1973). Data hasil identifikasi dibandingkan dengan sifat-sifat bakteri *Acinetobacter radioresistens* yang diisolasi dari kapas yang telah disterilisasi dengan sinar gamma oleh Nishimura *et al.* (1981, 1988).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Identifikasi Fenotipik

Hasil karakterisasi fenotipik isolat A671 terpilih, diidentifikasi dengan menggunakan metode *profile matching* pada level genus (*generic assignment*) yang mengacu pada Bergey's manual of Systematics Bacteriology (Sneath *et al.*, 1987). Karakterisasi konvensional isolat A671 dilakukan dengan menyamakan karakter kunci pada *Acinetobacter* yang meliputi bentuk sel, ukuran sel, bentuk sel pada fase stasioner, reaksi katalase, dan reaksi oksidase (Tabel 1).

Tabel 1. Identifikasi Level Genus (*Generic Assignment*) isolat A671 Terpilih Berdasarkan Metode *Profile Matching*

No	Karakter Kunci	Isolat A671	<i>Acinetobacter</i>
1	Bentuk sel	<i>Coccobacil</i>	Rod (batang)
2	Ukuran sel pada fase Ekspansional	Diameter 1.0 Panjang 1.8	diameter 0.9-1.6 µm Panjang 1.5-2.5 µm
3	Bentuk sel pada fase stasioner	spherical (bola)	Spherical (bola)
4	reaksi katalase	Positif	Positif
5	reaksi oksidase	Negative	Negative

Hasil uji beberapa karakter kunci pada level genus menunjukkan bahwa seluruh karakter sesuai dengan genus *Acinetobacter*. Bentuk sel isolat A671 yang diamati pada fase ekspansional yaitu *cocobacil* dengan ukuran panjang 1,8 µm dan diameter 1,0 µm, namun pada fase stasioner, bentuk sel berubah menjadi *spherical* (bulat). Selain itu, isolat A671 bersifat katalase positif dan bereaksi negatif pada uji oksidase. Uji oksidase merupakan salah satu karakter kunci *Acinetobacter* karena seluruh spesies *Acinetobacter* bersifat oksidase negatif (Sneath *et al.*, 1987), gram negatif, berlendir pada uji KOH 30%, berbentuk *coccobasil*, nonmotil, bereaksi negatif terhadap uji oksidase, tidak membentuk spora, dan kapsul. Hasil ini sesuai dengan karakteristik genus *Acinetobacter* yang terdapat dalam Bergey’s Manual (Sneath *et al.*, 1987). Isolat A671 memiliki bentuk koloni bundar (*round*), permukaan cembung (*drop-like*), tepi bergelombang (*wavy*), berlendir, permukaan koloni halus dan mengkilap (*Smooth an Glistening*) dan koloni berwarna krem. Karakteristik koloni isolat A671 sangat sesuai dengan *A. radioresistens* yang dideskripsikan oleh Nishimura *et al.* (1988) yaitu *smooth*, bulat, cembung, *glistening*, *opaque*, dan berwarna kuning pucat.

Tabel 2. Perbandingan Karakter Biokimia Isolat

Radioresistens yang dipilih berdasarkan filogeni

No	Karakter	Isolat A671	<i>A. radioresistens</i>
1	Katalase	+	+
2	TSIA	-	-
3	SIM	-	-
4	Simon sitrat	-	-
5	Pembentukan gas dari gula	-	-
Fermentasi gula			
6	D-arabinosa	-	-
7	D-galactose	-	-
8	D-fructose	-	-
9	D-mannose	-	-
10	D-Saccharose	-	-
11	D-maltose	-	-

12	D-glucosa	-	-
13	Dextrose	-	-
14	Lactosa	-	-

Hasil uji biokimia (Tabel 2) menunjukkan bahwa isolat A671 bersifat aerob, katalase positif dan bereaksi negatif terhadap uji oksidase, SIM, TSIA, simon sitrat, dan pembentukan gas. Uji fermentatif dengan menggunakan 9 jenis karbon menunjukkan bahwa isolat A671 bersifat nonfermentatif. Karakteristik isolat A671 berdasarkan hasil uji biokimia mirip dengan bakteri *A. radioresistens* yang diisolasi dan dikarakterisasi oleh Nishimura et al. (1988) diantaranya ketidakmampuan strain *A. radioresistens* dalam mengoksidasi 15 jenis sakarida sehingga tidak terbentuk asam pada medium pertumbuhan. Menurut Shegro et al. (2013), semakin tinggi nilai koefisien kemiripan maka hubungan individu-individu dalam satu populasi semakin dekat.

Hasil identifikasi secara fisiologis menunjukkan bahwa isolat A671 memiliki toleransi yang besar terhadap suhu, pH dan kadar NaCl. Isolat ini mampu tumbuh pada pH 4, 7, dan 9. Akan tetapi paling optimal pertumbuhan isolat pada pH 7. *Acinetobacter* umumnya memiliki toleransi terhadap kadar garam yang rendah, spesies ini tidak dapat tumbuh pada medium yang ditambahkan sodium klorida sebanyak 6,5% (Ito et al., 1976), akan tetapi isolat A671 mampu tumbuh pada medium yang mengandung kadar garam 10% dan 15%, namun pertumbuhannya kurang maksimal. Salah satu sifat yang membedakan *A. radioresistens* dengan spesies *Acinetobacter* lainnya adalah toleransinya terhadap kadar garam yang tinggi pada medium uji (Nishimura et al, 1988). Pada uji toleransi pertumbuhan terhadap suhu didapatkan hasil bahwa isolat A671 tidak dapat tumbuh pada suhu 15°C dan 50°C dan hanya tumbuh optimal pada suhu 30°C. Menurut Nishimura et al, (1988), pertumbuhan optimal *A. radioresistens* yaitu pada suhu 27°C sampai dengan 31°C.

Identifikasi spesies yang dilakukan berdasarkan metode profile matching dengan mengacu karakter kunci pada Bergey's manual yang meliputi uji morfologi, biokimia, dan fisiologis menunjukkan bahwa isolat A671 terpilih memiliki kesamaan karakter dengan strain *A. radioresistens*. Oleh karena itu, isolat A671 potensial pengakumulasi polifosfat yang bersifat toleran terhadap uranium diduga merupakan bakteri kelompok genus *Acinetobacter* dan termasuk spesies *A. radioresistens*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa isolat A671 potensial pengakumulasi polifosfat yang bersifat toleran terhadap uranium memiliki kesamaan karakter dengan strain *A. radioresistens*. Bentuk sel isolat A671 yang diamati pada fase eksponensial yaitu *cocobacil* dengan ukuran panjang 1,8 µm dan diameter 1,0 µm, namun pada fase stasioner, bentuk sel berubah menjadi *spherical* (bulat). Isolat bersifat

katalase positif, oksidase negatif, gram negatif, *nonmotil*, tidak membentuk kapsul dan spora, tidak dapat mengoksidasi 9 jenis sakarida, dan memiliki tingkat toleransi terhadap kadar garam yang tinggi. Karakterisasi secara fenotipik menunjukkan hasil yang sesuai dengan karakteristik genus *Acinetobacter*.

SARAN

Perlu dilakukan karakterisasi isolat secara molekular untuk mengetahui strain isolat A671 potensial pengakumulasi polifosfat yang bersifat toleran terhadap uranium.

DAFTAR PUSTAKA

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2013. Toxicological Profil for Uranium. Online di: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles>.
- Badan Tenaga Nuklir Nasional. 2015. Fasilitas Nuklir. Online di: <http://www.batan.go.id/index.php/id/ke deputian/fasilitas-nuklir>.
- Brown, A. dan Smith, H. 2015. Benson's Microbiological Applications, Laboratory Manual in General microbiology. 13 Ed. McGraw Hill International Ed. New York.
- Choudhary, S. and Sar. 2011. Uranium Biomineralization by a Metal Resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain Isolatd from Contaminated Mine Waste. *Journal of Hazardous Materials*. 186: 336-343.
- Ito, H., Sato, T. and Iizuka, H. 1976. Study of The Intermediate Type of *Moraxella* and *Acinetobacter* Occurring in Radurized Vienna Sausage. *Agr.Biol.Chem.* 40 (5): 867-873.
- Jutono, J., Soedarsono, Hartadi, S., Kabirun, S., Suhadi, D., dan Soesanto. 1973. Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum. Departemen Mikrobiologi, Fakultas Pertanian. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Li, J. and Zhang, Y. 2012. Remediation Contaminated Environment:Technology for A Review. *Procedia The Uranium Environmental Sciences* 13: 1609-1615.
- Martins, M., Falerio, M.L., Chaves, S., Tenreiro, R., Santos, E., and Costa, M.C. 2010. Anaerobic Bioremoval of Uranium (VI) dan Chromium(VI): Comparison of Microbial Community Structure. *Journal of Hazardous Materials* 176: 1065 – 1072.
- Merroun, M.L, Nedelkova, M., Ojeda, J.J., Reitz, T., Fernandez, M.L., Arias, J.M., Romero-Gonzalez, M., and Selenska-Pobel, S. 2011. Bio-precipitation of Uranium by Two Bacterial Isolats Recovered From Extreme Environments as Estimated by Potentiometric titration, TEM and X-ray Absorption Spectroscopic Analyses. *Journal of Hazardous Materials* 197: 1-10.
- Nishimura, Y., Kairiyama, E., Shimadzu, M., and Iizuka, H. 1981. Characterization of a Radiation-Resistant *Acinetobacter*. *Zeitschrift fur Allgemeine mikrobiologie*.21: 125-130.
- Nishimura, Y., Ino, T. and Iizuka, H. 1988. *Acinetobacter radioresistens* sp. nov. Isolatd from Cotton and Soil. *International Journal of systematic bacteriology*.38: p. 209-211.

- Renninger, N., Knopp, R., Nitsche, H., Clark, D.S., and Keasling, J.D. 2004. Uranyl Precipitation by *Pseudomonas aeruginosa* Via Controlled Polyphosphate Metabolism. *Applied and Environmental Microbiology* 70 (12): 7404-7412.
- Shegro, A., Labuschagne, M.T., Van Biljon, A., and Srhargie, N.G. 2013. Assessment of Genetic Diversity in Sorghum accessions using amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) analysis. *African Jour. Biotec.* 12(11): 1178-1188.
- Sidat, M., Bux, F. and Kasan, H.C. 1999. Polyphosphate Accumulation by Bacteria Isolatd From Activated Sludge. *Water SA.* 25 no. 2
- Sneath, D.H.A., Nicholas, S.M., Elisabeth, M., and Holt, J.G. 1987. *Bergey's Manual of Systematics Bacteriology* vol.2 Williams and Wilkins.USA.
- U.S. Environmental Protection Agency. 2015. Radiation Protection. *Online* di:<http://www.epa.gov/radiation/radionuclides/uranium.html>