

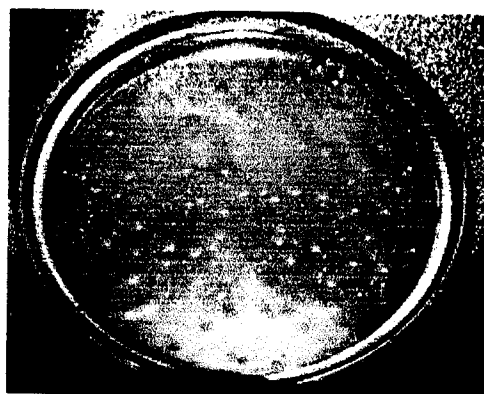
V. HASIL DAN PEMBAHASAN

Purifikasi dan Platting Koloni Sel tunggal

Isolat *Pseudomonas* sp dipurifikasi dengan teknik koloni sel tunggal. Koloni bakteri yang tumbuh tampak seragam berwarna putih kekuningan, sirkuler dengan diameter koloni sekitar 1,5 – 5 mm. Sel berbentuk batang dan bersifat gram negatif.

Tabel 1. Ciri morfologi dan sifat fisiologis *Pseudomonas* sp

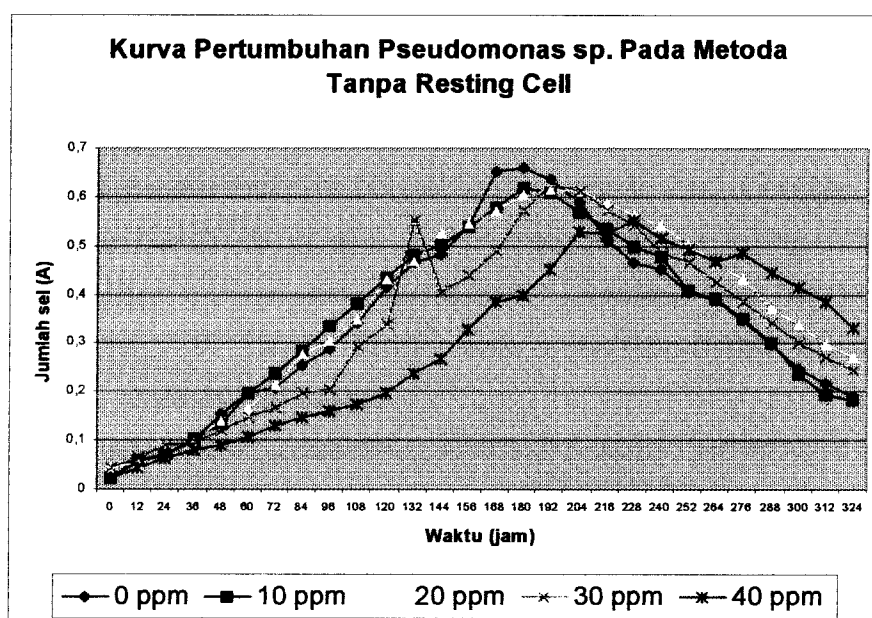
Ciri karakteristik	Isolat <i>Pseudomonas</i> sp
1. Morfologi koloni a. Warna b. Bentuk c. Elevasi d. Tepi e. Struktur dalam	Krem Sirkuler Konveks Rata Transculent
2. Morfologi a. Bentuk b. Diameter (μm) c. Sifat gram d. Gerakan	Batang 0,2 - 0,4 Negatif Motil
3. Sifat Biokimia a. Keperluan O ₂ b. Fermentasi Alkohol c. Hidrolisis Pati d. Pelarutan Gelatin e. Reduksi Nitrat f. Katalase	Aerob + - + + +



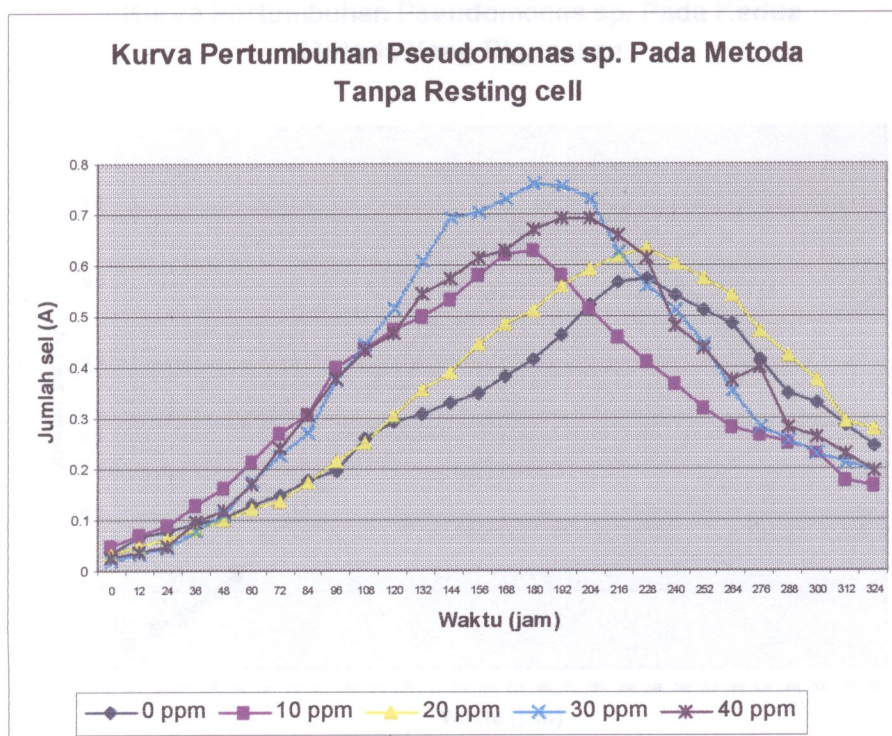
Gambar 1. Koloni Isolat *Pseudomonas* sp pada medium NA

Kemampuan Tumbuh Isolat pada medium cair yang mengandung 4-Klorofenol

Isolat *Pseudomonas* sp mampu tumbuh dalam medium SBS yang mengandung 4-Klorofenol pada konsentrasi 0, 10,20,30 dan 40 ppm, baik dengan metode *resting cell* maupun tanpa *resting cell*. Menurut Reineke & Knackmus (1998) Penggunaan senyawa terklorinasi oleh bakteri diawali dengan pelepasan gugus klor (dehalogenasi) oleh enzim dehalogenase kemudian diikuti pemecahan cincin aromatik dan selanjutnya digunakan sebagai sumber karbon dan energi untuk pertumbuhannya. Pelepasan cincin aromatik baru terjadi setelah gugus Cl terlepas dan digantikan oleh atom hidrogen atau menjadi ikatan rangkap tergantung bakterinya. Pola pertumbuhan bakteri *Pseudomonas* sp dapat dilihat pada kurva pertumbuhan bakteri (Gambar 2 dan 3). Sel-sel bakteri terlebih dulu menyesuaikan diri terhadap kondisi pertumbuhan yang baru. Jika sumber energi dan sumber karbon dalam medium yang baru berbeda dari medium awal maka adaptasi dari sel bakteri akan lama (Schlegel & Karin, 1994). Pada kurva pertumbuhan *Pseudomonas* sp dengan metode tanpa *resting cell* (gambar 2) menunjukkan bahwa fase lag untuk semua konsentrasi 4-Klorofenol yang ditambahkan secara umum sama yaitu antara 0 - 24 jam, Sedangkan untuk kurva pertumbuhan dengan metode *resting cell* fase lag lebih cepat yaitu antara 0 – 12 jam. Hal ini menunjukkan bahwa dengan teknik membiarkan sel dalam keadaan istirahat (*resting cell*) dapat menginduksi pertumbuhan. Teknik *resting cell* ini pada prinsipnya membuat bakteri dalam keadaan lapar sehingga mempercepat fase adaptasi.



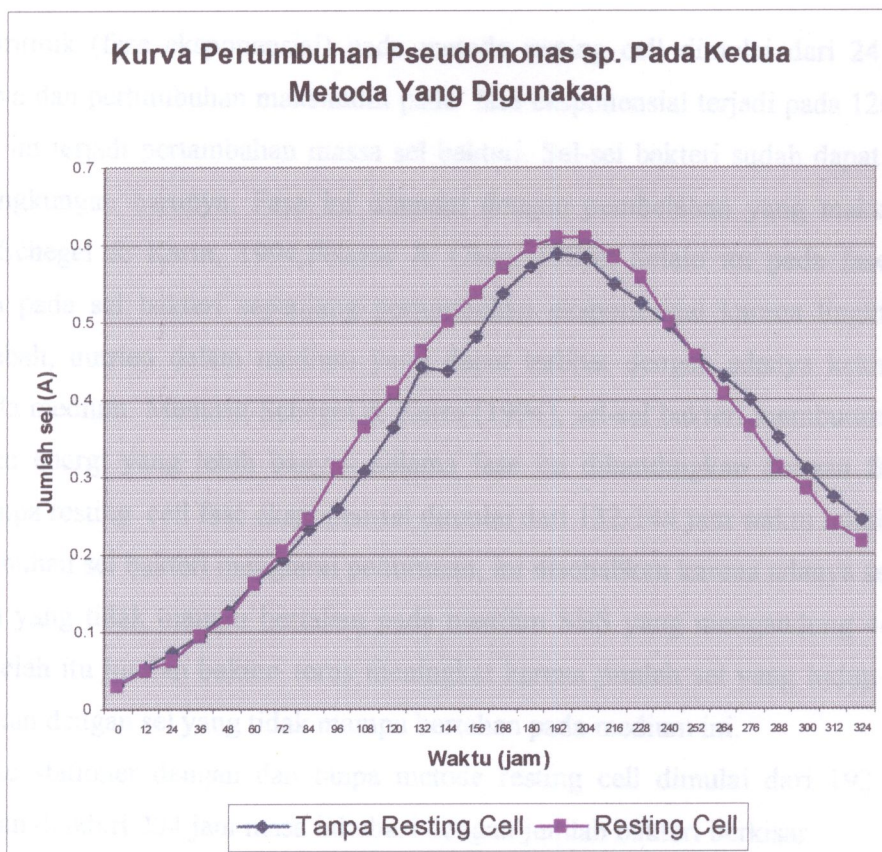
Gambar 2. Kurva pertumbuhan *Pseudomonas* sp dengan metode tanpa *Resting Cell* dalam medium SBS yang ditambah 4 - Klorofenol pada Konsentrasi 10,20,30 dan 40 ppm



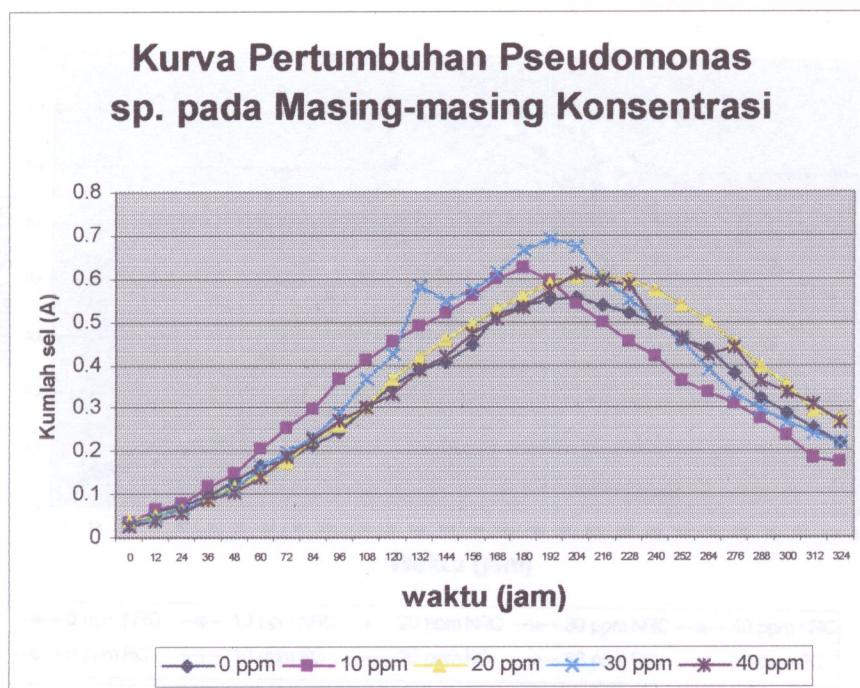
Gambar 3. Kurva pertumbuhan *Pseudomonas* sp dengan metode *Resting Cell* dalam medium SBS yang ditambah 4 - Klorofenol pada Konsentrasi 10,20,30 dan 40 ppm

Bakteri *Pseudomonas* sp menunjukkan aktifitasnya pada akhir fase eksponensial. Menurut Commandeur *et al* (1996) pada fase tersebut bakteri mensintesis dehalogenase untuk melepaskan gugus klor dan memecah rantai atau cincin aromatik. Hasil degradasi adalah asam organik yang tertimbun dalam medium. Dehalogenasi diikuti dengan penurunan pH medium karena kondisi yang asam sebagai akibat degradasi senyawa terklorinasi. Asam organik tersebut dapat menghambat sintesis dehalogenase (Matsumura, 1982, Leisinger, 1983, Slater, 1994). Pada gambar 4 lebih jelas ditunjukkan bahwa dengan metode *resting cell* pertumbuhan *Pseudomonas* sp dalam medium yang mengandung 4-Klorofenol lebih bagus dibandingkan metode tanpa *resting cell*. Hal ini berlaku pada semua konsentrasi 4-Klorofenol yang ditambahkan yaitu 10, 20, 30 dan 40 ppm.

Gambar 5 menunjukkan bahwa secara umum untuk kedua metode pertumbuhan *Pseudomonas* sp paling baik yaitu pada konsentrasi 30 ppm sedangkan pertumbuhan *Pseudomonas* sp pada konsentrasi 40 ppm paling rendah dibandingkan konsentrasi yang lain. *Pseudomonas* sp masih mampu menggunakan 4-Klorofenol sebagai sumber karbon dan energi untuk pertumbuhannya sampai konsentrasi 30 ppm, sedangkan diatas konsentrasi tersebut 4-Klorofenol sudah bersifat toksik bagi pertumbuhannya.



Gambar 4. Kurva pertumbuhan *Pseudomonas* sp dengan metode *Resting Cell* dan *Tanpa Resting Cell* medium SBS yang ditambah 4 Klorofenol

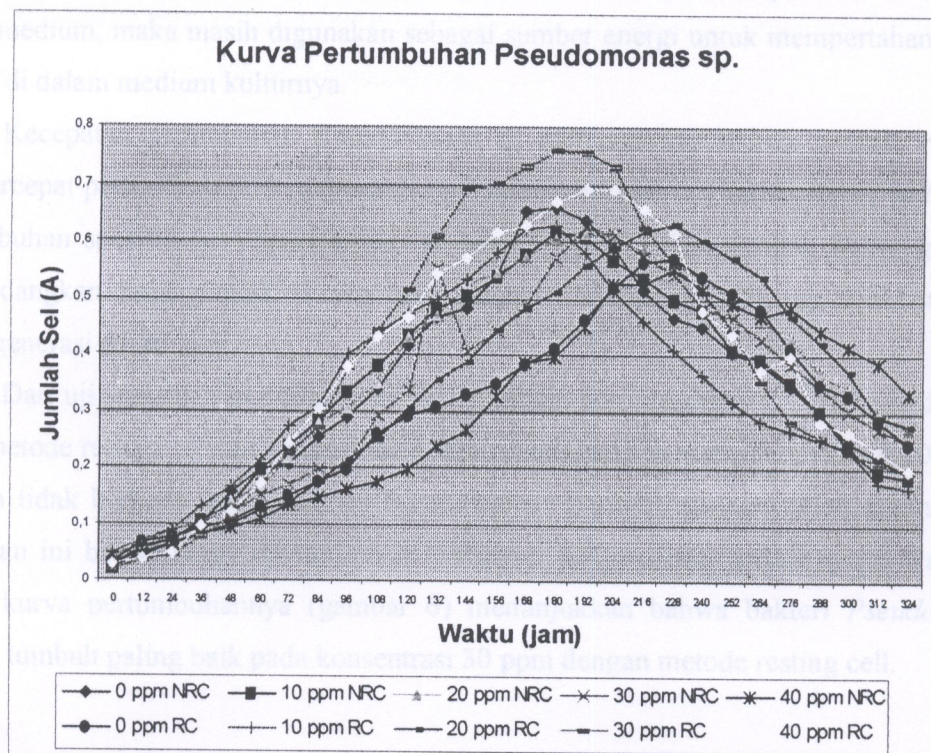


Gambar 5. Kurva pertumbuhan *Pseudomonas* sp dalam medium SBS yang ditambah 4 - Klorofenol pada Konsentrasi 10,20,30 dan 40 ppm

Fase logaritmik (fase eksponensial) pada metode resting cell dimulai dari 24 jam waktu inkubasinya dan pertumbuhan maksimum pada fase eksponensial terjadi pada 120 - 192 jam. Pada fase ini terjadi pertambahan massa sel bakteri. Sel-sel bakteri sudah dapat beradaptasi dengan lingkungan barunya. Fase ini ditandai dengan pembelahan yang maksimum yang konstan (Schegel & Karin, 1994; Pelczar & Chan, 1986). Selain itu pada fase ini terjadi perubahan pada sel bakteri sepanjang pertumbuhan eksponensial karena lingkungan yang terus berubah, nutrisi dalam medium yang dapat terlihat dengan adanya kekeruhan yang terjadi pada medium. Menurut Schegel & Karin (1994), sel-sel bakteri membutuhkan sumber karbon dan energi yang lebih banyak selama fase ini dibandingkan dengan fase lainnya. Metoda tanpa resting cell fase eksponensial dimulai dari 132-144 jam waktu inkubasi, setelah itu pertumbuhan sel bakteri mengalami penurunan, ini disebabkan karena adanya sebagian dari sel bakteri yang tidak mampu bertahan pada medium SBS yang mengandung 4-klorofenol, namun setelah itu jumlah bakteri terus meningkat karena jumlah sel yang hidup lebih besar dibandingkan dengan sel yang tidak mampu bertahan pada medium ini.

Fase stationer dengan dan tanpa metode resting cell dimulai dari 192 jam waktu inkubasi dan diakhiri 204 jam masa inkubasi dengan jumlah bakteri berkisar

Fase ini dimulai jika sel-sel bakteri sudah tidak tumbuh lagi. Menurut Schlegel & Karin



Gambar 6. Kurva pertumbuhan *Pseudomonas* sp pada metode resting sel dan tanpa resting sel pada konsentrasi 0,10,20,30 dan 40 ppm.

(1994), kecepatan pertumbuhan tergantung dari kadar substrat, menurunnya kecepatan pertumbuhan sudah terjadi ketika kadar substrat berkurang sebelum substrat habis terpakai. Pengalihan dari fase eksponensial ke fase stationer terjadi secara berangsur-angsur selain karena keterbatasan substrat, kepadatan populasi, oksigen yang rendah dan sumber karbon yang berkurang. Selain itu dapat juga disebabkan karena adanya timbunan produk metabolisme berupa asam-asam organik yang menyebabkan perubahan warna medium (Gambar 7).



Gambar 7. Perubahan warna medium SBS pada percobaan pertumbuhan

Adanya produk metabolisme yang toksik dapat menurunkan kecepatan pertumbuhan dan mengintroduksi fase stasioner. Selama adanya sumber karbon, oksigen serta *trace element* dalam medium, maka masih digunakan sebagai sumber energi untuk mempertahankan sel-sel bakteri di dalam medium kulturnya.

Kecepatan pertumbuhan *Pseudomonas* sp menunjukkan bahwa metode *resting cell* mempercepat pertumbuhan *Pseudomonas* sp. Hal ini ditunjukkan tanpa *resting cell* kecepatan pertumbuhan spesifik (μ) *Pseudomonas* sp adalah $8,7 \cdot 10^{-3}$ /jam dengan waktu generasi 80 jam, sedangkan untuk metode *resting cell* kecepatan tumbuh spesifik (μ) 0,011/jam dengan waktu generasi 61,86 jam.

Dari uji statistik yang dilakukan menunjukkan bahwa pengaruh perlakuan dengan dan tanpa metode resting sel dan konsentrasi 4-Klorofenol yang ditambahkan yaitu 0,10,20,30 dan 40 ppm tidak berbeda nyata. Hal ini berarti bahwa konsentrasi yang telah digunakan pada penelitian ini belum dapat menunjukkan pengaruh 4-Klorofenol secara nyata. Namun, jika dilihat kurva pertumbuhannya (gambar 6) menunjukkan bahwa bakteri *Pseudomonas* sp mampu tumbuh paling baik pada konsentrasi 30 ppm dengan metode resting cell.