

Imobilisasi Bakteri pada Kitosan-Alginat dan Kitin-Alginat

Immobilization of Bacteria on Chitosan-Alginate and Chitin-Alginate

Eva Oktarina¹⁾, Rizki Adrianto²⁾, dan Ira Setiawati²⁾

1) Balai Besar Kimia Kemasan Jakarta

2) Balai Riset dan Standardisasi Industri Bandar Lampung
eva.oktarina@gmail.com

Abstrak

Imobilisasi bakteri merupakan pelapisan atau penangkapan bakteri dengan senyawa organik atau anorganik, dengan cara pengikatan pada matriks melalui pengikatan kimia atau menahannya secara fisik pada rongga bahan pendukung, yang bertujuan untuk penangkapan bakteri, sehingga bakteri dapat lebih bertahan pada kondisi lingkungan yang kurang adaptif dan tetap dapat menjalankan metabolismenya. Imobilisasi dilakukan dengan *entrapment* pada alginat, kitosan dan kitin. Tulisan ini bertujuan untuk membahas imobilisasi bakteri (*Serratia* sp., *Pseudomonas* sp., dan *Enterobacter* sp.) pada kitosan-alginat dan kitin-alginat serta penggunaannya pada penurunan kadar sianida pada limbah cair tapioka (skala laboratorium). Pengukuran sianida dilakukan dengan spektrofotometer. Pada skala laboratorium, hasil menunjukkan keenam bakteri terimobilisasi, yaitu : *Serratia* 1-kitosan-alginat, *Serratia* 1-kitin-alginat, *Serratia* 2-kitosan-alginat, *Serratia* 1-kitin-alginat, *Pseudomonas*-kitosan-alginat, *Pseudomonas*-kitin-alginat, *Enterobacter*-kitosan-alginat, dan *Enterobacter*-kitin-alginat dapat menurunkan kadar sianida pada limbah cair tapioka.

Kata kunci: imobilisasi, bakteri, alginate, kitosan, kitin

Abstract

Immobilization bacteria are technique for coating and entrapment bacteria with organic or anorganic substance, by chemically binding with matrix or physically binding in cavity of supportive compound, to trap the bacteria, so it can handle on non-adaptive or harsh environment, and still can do its metabolism. Immobilization was done with entrapment the bacteria to alginate, chitosan and chitin. This mini review explain the bacteria immobilization (Serratia sp., Pseudomonas sp., and Enterobacter sp.) on chitosan-alginate and chitin-alginate and its application on cyanide concentration declines' from tapioca waste water on laboratory scale. Cyanide was tested by spectrophotometer. Result show the six combination of immobilization which is Serratia 1-chitosan-alginate, Serratia 1-chitin-alginate, Serratia 2-chitosan-alginate, Serratia 2-chitin-alginate, Pseudomonas-chitosan-alginate, Pseudomonas-chitin-alginate, Enterobacter-chitosan-alginate, dan Enterobacter-chitin-alginate can decline cyanide concentration of tapioca waste water on laboratory scale.

Keywords: immobilization, bacteria, alginate, chitosan, chitin

Pendahuluan

Imobilisasi atau penangkapan mikroorganisme pada reaktor memiliki beberapa keuntungan, yaitu (1) melindungi mikroorganisme dari kondisi lingkungan yang memiliki tingkat polutan yang tinggi, (2) mudah menjadi cair kembali, (3) memiliki densitas sel yang tinggi untuk meningkatkan konversi substrat, (4) mengurangi volume reaktor (Kampf, 2002). Beberapa teknik

imobilisasi yaitu *attachment* (penempelan), *containment* (kurungan), *entrapment* (penangkapan), *carrier binding*, *adsorption technique*, *encapsulation*, *cell coating* dan *self aggregation* (Chen *et al.* 2007). Imobilisasi mikroorganisme dengan *entrapment* manik gel merupakan metode yang baik untuk mempertahankan viabilitas mikroorganisme, sebagai pelindung sehingga memperpanjang usia

mikroorganisme dan juga sebagai nutrisi bagi mikroorganisme (Le-Tien *et al.*, 2004).

Agen imobilisasi (*carier*) yang digunakan harus tidak toksik, tidak menyebabkan polusi, memiliki kualitas yang konstan dan ada dengan kisaran harga rendah seperti tercantum pada Tabel 1 (Leenen *et al.*, 1996). Pada proses bioremediasi di lingkungan, kerusakan material *carier* dapat terjadi saat dimasukkan ke dalam lingkungan. Oleh karena itu, material harus yang biodegradable (Pometto *et al.*, 1998). *Carier* dengan kisaran yang luas, disiapkan dari materi alam misalnya *peat*, *clay* dan *plant derived compounds* (kandungan turunan tanaman). Salah satu bakteri yang telah diuji dan digunakan pada industri yaitu *Rhizobium*, dengan material *carier* biodegradable untuk bioremediasi air laut. Pada permukaan yang ditemeli populasi bakteri, bakteri terlindungi dari tekanan lingkungan dan predator. Pembentukan biofilm merupakan proses yang penting agar mikroba tetap bertahan hidup di lingkungan (Davey and O'Toole, 2000).

Tabel 1. Karakteristik material yang digunakan sebagai agen imobilisasi.

Karakteristik	Kriteria
Kelarutan	Rendah
Biodegradabilitas	Rendah
Stabilitas	Tinggi
	Material tersebut harus memiliki karakteristik mekanik dan rheologik yang baik sehingga tidak tahan terhadap abrasi
Difusi	Tinggi
Pertumbuhan	Memungkinkan bakteri untuk tumbuh
	Mikroorganisme harus dapat bertahan dan tumbuh pada prosedur imobilisasi
Prosedur imobilisasi	Simpel
	Imobilisasi harus dapat mungkin dilakukan pada skala besar
Penempelan dari organisme heterotropik	Minimal
Harga	Rendah

(Sumber: Leenen *et al.* 1996)

Penggunaan material *carier* untuk pengantar sel mikroorganisme ke ekosistem natural, merupakan salah satu pilihan. Material pengantar pada

umumnya digunakan untuk menciptakan cangkang pelindung bagi inokulan mikroorganisme, baik secara fisik dengan adanya permukaan pelindung atau pori, atau dengan nutrisi melalui penyediaan substrat yang spesifik. Material *carier* yang dipilih harus dapat menyediakan kondisi yang bermacam-macam untuk inokulan agar inokulan dapat bertahan hidup dan berfungsi sebaik mungkin, sehingga memperpanjang masa hidup serta meningkatkan kemampuan hidup dan aktivitas inokulan (Le Tien *et al.* 2004; Leenen *et al.* 1996).

Contoh material *carier* yang dapat digunakan pada bakteri adalah *gellan*, *xanthan gum*, *cellulose acetate*, κ -*carrageenan* dan alginat. Kitosan merupakan kopolimer linear dari d-glukosamin and N-asetilid-Glukosamin yang diproduksi dari deasetilasi kitin. Kitosan merupakan biopolimer yang memiliki gugus amino grup (NH₂) dengan kadar nitrogen yang tinggi (Synowiecki and Al-Khateeb, 2003). Potensi aplikasi kitosan telah dikenal luas pada berbagai bidang seperti teknik biomedik, farmasi, kesehatan gigi, bioteknologi, kimia, kosmetik, tekstil, kesehatan mata, agrikultural, fotografi, dan pembuatan wine (Rinaudo 2006). Penggunaan kitosan sebagai adsorben/biosorben pada berbagai macam polutan air, telah menarik perhatian pada pengelolaan limbah di industri karena kandungan amino dan gugus fungsional hidroksil, yang membuatnya efektif dibandingkan karbon teraktifasi. Kitosan memiliki karakteristik fisika kimia, stabilitas kimia, reaktivitas yang tinggi, sifat *chelation* yang tinggi, dan selektivitas yang tinggi terhadap polutan. Kitosan menunjukkan potensi yang besar sebagai adsorpsi pewarna, logam, dan protein (Honarkar and Barikani, 2009). Aplikasi kitosan sebagai adsorben/biosorben telah umum digunakan untuk mengatasi berbagai macam limbah seperti limbah industri makanan, limbah pembuatan *wine*, limbah pembuatan pulp dan kertas, limbah hasil produksi *olive oil*, efluen limbah yang mengandung ion logam dan turunan fenol (Bhatnagar and Silanpaa, 2009; Thirugnanasambandham *et al.*, 2013).

Kitosan dapat digunakan secara luas pada proses penanganan limbah, karena bersifat ramah lingkungan, tidak toksik, biodegradable, sumber yang dapat terbarukan, dan mempunyai kemampuan untuk menghilangkan polutan dengan kapasitas ikat terhadap polutan yang tinggi (Le Tien *et al.* 2004). Kitosan juga memiliki sifat yang hidrofilik karena adanya gugus hidroksil dalam jumlah besar dari glukosa, adanya grup fungsional,

reaktivitas yang tinggi dari grup-grup tersebut, dan struktur fleksibel dari rantai polimer (Bhatnagar and Silanpaa 2009).

Alginat sebagai matriks meningkatkan ketertarikan karena sifat *biocompatibility*-nya, tidak beracun dan mudah dibentuk menjadi manik oleh *ionotropic gelation*. Alginat diekstrak dari rumput laut, alginat merupakan kopolimer dengan urutan β -D-mannuronic dan α -L-guluronic acid residues, terkait 1,4-glycosidically. Karakteristik penting dari alginat adalah pembekuan ionotropik yang diinduksi oleh ion bivalen (Ca^{2+}) atau kation polyvalen, yang berikatan silang secara ion dengan *carboxylate groups* pada blok uronate atau alginate (Le-Tien *et al.*, 2004).

Klinkenberg *et al.* (2001) menyatakan untuk mengestimasi efek pelapisan manik yang berbeda pada pelepasan sel, manik alginat dilapisi dengan kitosan; alginat; kitosan-alginat (pelapisan secara berurutan); atau dengan kitosan-alginat-kitosan (pelapisan secara berurutan). Pelapisan kitosan dapat menurunkan tingkat pelepasan sel pada tahap awal fermentasi, sedangkan pelapisan dengan kitosan-alginat menunjukkan penurunan signifikan. Struktur kompak kitosan-alginat telah dilaporkan, yang merupakan jalan untuk menurunkan fenomena difusi dan memlimitasi akses asam ke dalam manik. Kitosan, poly-(2-amino-2-deoxy- β -D-glucopyranose) dilaporkan menghambat efek dari beberapa tipe sel, sehingga mempengaruhi viabilitas sel tersebut. Derivatisasi grup amino pada kitosan ditemukan untuk mengeliminasi efek yang tidak diinginkan dari grup amino, yang mengimprovisasi biokompatibilitasnya (Yeul and Rayalu, 2013).

Imobilisasi bakteri pada alginat, membuat bakteri dikelilingi oleh jaringan gel, yang membatasi gerak mereka. Saat pertumbuhan terjadi, bakteri menekan jaringan gel dan koloni bakteri terbentuk (Willaert dan Baron, 1993). Saat koloni berkembang, bakteri dapat mencapai permukaan manik alginat. Hal tersebut dapat menuju ke erupsi koloni, sehingga koloni dilepaskan ke lingkungan (Klinkenberg *et al.* 2001).

Kitosan dikenal sebagai agen anti bakteri, namun penelitian oleh (Klinkenberg *et al.* 2001) telah berhasil mengimobilisasi *Lactococcus lactis* ssp.*lactis*, bakteri Gram positif, pada kitosan-alginat. Serta, *Lactococcus lactis* yang diimobilisasi bekerja dengan baik yaitu sebagai alat penghantar listrik pada tes diabetes. Penelitian ini bertujuan

untuk mengimobilisasi bakteri (*Serratia*, *Pseudomonas* dan *Enterobacter*) dengan kitosan dan alginat, serta mengetesnya pada limbah cair tapioka.

Metodologi

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain isolat hasil isolasi dari limbah cair tapioka yaitu *Serratia sp.*, *Pseudomonas sp.*, dan *Enterobacter sp.*; kitin dan kitosan (DD 70%) [Biotech Surindo]; alginat [Bratachem], CaCl_2 [Merck], medium pengaktif [Merck dan Oxoid], dan limbah cair tapioka. Sedangkan alat-alat yang digunakan antara lain stirrer [Hach], *incubator shaker* [Memmert], inkubator [Memmert], spektrofotometer [Hach], pH meter [Martini] dan alat-alat gelas.

Metode Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penguji Baristand Industri Bandar Lampung. Tahapan penelitian terdiri dari imobilisasi kitosan-alginat dan kitin-alginat serta pengukuran pH dan kadar sianida setiap sampel.

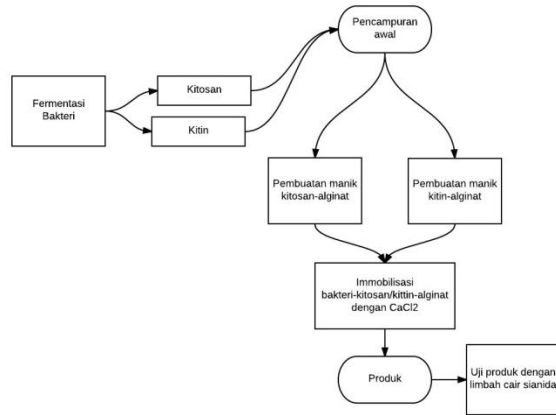
Metode imobilisasi kitosan-alginat dan kitin-alginat (modifikasi Suzuki *et al.*, 1998 dan Devanesan *et al.*, 2007)

Kitin yang digunakan adalah kitin bubuk dan kitosan yang digunakan adalah kitosan berbentuk kepingan serbuk. Imobilisasi dilakukan dengan memfermentasi satu ose masing-masing bakteri pada 20 mL medium pengaktif mikroorganisme dan di-*shaker* pada 150 rpm selama 12 jam. Setelah itu mikroorganisme dicampurkan dengan kitin atau kitosan 0,1% hingga terserap. Alginat konsentrasi 0,5-10% dilarutkan dengan air hingga membentuk seperti gel. Campuran mikroorganisme-kitin dan mikroorganisme-kitosan selanjutnya dicampurkan dengan alginat dan diaduk hingga tercampur. Selanjutnya, campuran dimasukkan pada buret dan diteteskan pada larutan CaCl_2 untuk dijadikan manik mikroorganisme-kitosan-alginat atau manik mikroorganisme-kitin-alginat, seperti pada Gambar 1.

Pengukuran pH dan Kadar Sianida

Limbah cair tapioka yang telah disiapkan pada tujuh tempat dan diukur pH awalnya. Setelah itu masing-masing bakteri yang telah diimobilisasi

dimasukkan pada masing-masing tempat dan diukur pH dan kadar sianidanya dengan metode spektrofotometri. pH dan kadar sianida yang terukur, diambil sebagai pH dan kadar sianida awal.



Gambar 1. Metode pembuatan manik immobilisasi

Hasil Dan Pembahasan

Immobilisasi bakteri pada kitosan/kitin-alginat

Immobilisasi umum dilakukan antara alginat dengan bakteri. Penggunaan kitin dan kitosan sebagai matriks dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu durasi immobilisasi, pretreatment pH, ukuran partikel imobilan, berat molekul dan derajat deasetilasi imobilan (Lertsutthiwong *et al.*, 2012). Kitosan memiliki grup kationik pada gugus utamanya, dan memiliki sifat antimikroba untuk bakteri, kapang dan khamir. Mekanisme tersebut melalui beberapa jalur yaitu (I) Sifat polikationik kitosan yang menginterferensi metabolisme bakteri dengan menggunakan muatan negatif (elektrostatik) pada permukaan sel, (II) Berat molekul kitosan yang rendah sehingga dapat memasuki nukleus sel (adsorpsi pada molekul DNA), sehingga mencegah terjadinya transkripsi RNA dari DNA, (III) Kitosan bersifat sebagai *chelating agent* dari material yang utama (Broek *et al.*, 2015; Le-Tien *et al.* 2004).

Penelitian oleh Le-Tien (2004) menunjukkan bahwa proses *succinylation* dapat menekan sifat antibakterial kitosan, meningkatkan viabilitas sel, dan meningkatkan kelarutan kitosan pada pH netral (saat kondisi proton di lingkungannya tinggi). Derivatisasi gugus amino pada kitosan juga dapat menghilangkan sifat dari gugus amino sehingga meningkatkan biokompabilitas kitosan terhadap bakteri serta meningkatkan viabilitas bakteri. Penghitungan bakteri yang diimmobilisasi

dengan alginat menghasilkan 22-26% *viable cell*. Sedangkan immobilisasi bakteri dengan alginat yang termodifikasi dan kitosan menghasilkan *viable cell* sebesar 60% dan 66%. Penelitian Purnawan *et al.* (2008) menunjukkan bahwa kitosan dan kitin, dapat berperan sebagai inhibitor (antibakteri) dan sumber makanan. Kitosan dan kitin memiliki gugus ammonium (atom nitrogen) yang dapat berfungsi sebagai sumber makanan bagi bakteri (Brooks *et al.* 1986). Beberapa bakteri dapat menghasilkan enzim kitosanolitik dan kitinolitik baik secara induksi maupun alami, sehingga dapat mendegradasi kitosan dan kitin (Shimosaka *et al.* 1995). Penelitian oleh Wang *et al.* (2008) menunjukkan bahwa *Pseudomonas* dapat menghasilkan enzim kitinase dan kitonase. Penelitian Purnawan *et al.* (2008) menunjukkan semakin besar konsentrasi kitosan, sifat kitosan sebagai sumber makanan semakin besar sehingga sifat kitosan sebagai inhibitor semakin turun. Penelitian oleh Gentilia *et al.* (2006) juga menunjukkan potensi immobilisasi bakteri pendegradasi hidrokarbon dengan kitin dan kitosan di air laut yang tercemar minyak mentah. Kitin dan kitosan sebagai material pembawa bakteri meningkatkan aktifitas dan daya hidup bakteri. Bakteri yang diimmobilisasi dengan kitin menunjukkan performa terbaik saat penyimpanan dan bioremediasi air laut. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri dapat diimmobilisasi dengan kitosan-alginat atau kitin-alginat, dengan tetap menunjukkan viabilitas dari bakteri tersebut.

Selain sebagai sumber makanan, kitosan juga berfungsi sebagai matriks. Odaci *et al.* (2008) menyatakan bahwa kitosan merupakan matriks yang dapat menjaga bakteri untuk hidup dan tidak terdenaturasi. Pelepasan sel bakteri (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*) pada immobilisasi kitosan-alginat telah dibuktikan oleh Klinkenberg *et al.* (2001). Klinkenberg menyatakan pelapisan bakteri dengan kitosan menunjukkan penurunan tingkat pelepasan sel pada tahap awal fermentasi, sedangkan pelapisan dengan kitosan dan alginat menunjukkan penurunan tingkat pelepasan sel pada seluruh tahap fermentasi. Immobilisasi *Pseudomonas* dengan kitosan telah dibuktikan oleh Chen *et al.* (2007) dengan mengaplikasikannya pada degradasi fenol dan *trichloroethene*. Krastanov dan Yoshida (2003) membuktikan bahwa *Serratia plymuthica* dapat diimmobilisasi pada kitosan dalam produksi palatinose.

Tabel 2. Penurunan konsentrasi pada sianida oleh imobilisasi bakteri.

No.	Isolat	CN Awal (ppm)	CN Akhir (ppm)	Efisiensi (%)
1	Serratia 1 alginat kitosan	0,09	0,05	44,444
2	Serratia 1 alginat kitin	0,24	0,05	79,167
3	Pseudomonas alginat kitosan	0,15	0,01	93,333
4	Pseudomonas alginat kitin	0,15	0,10	33,333
5	Enterobacter alginat kitosan	0,24	0,002	99,167
6	Enterobacter alginat kitin	0,15	0,03	80,000
7	Serratia 2 alginat kitosan	0,15	0,05	66,667
8	Serratia 2 alginat kitin	0,15	0,03	80,000

Kitosan telah terbukti dapat me-removal beberapa logam, seperti kadmium (Cd), raksa (Hg), tembaga (Cu), nikel (Ni), mangan (Mn) dan timbal (Pb) dan seng (Zn). Kemampuan kitosan dalam menyerap ion tembaga (Cu) lebih kuat hingga empat-lima kali dibandingkan dengan kitin (Bhatnagar and Sillanpaa, 2009). Penelitian oleh Lertsutthiwong *et al.* (2012) menunjukkan kitosan yang telah diasetilasi akan memberikan efek penurunan kadar nitrit yang lebih baik dibandingkan dengan kitin.

Pada penelitian ini, saat bakteri diimobilisasi dengan kitosan-alginat atau kitin-alginat, menunjukkan bahwa pada keempat bakteri menghasilkan reaksi yang berbeda (Tabel 2). Kemampuan dalam menurunkan kadar logam sianida pada bakteri *Serratia* 1 dan 2 menunjukkan bahwa imobilisasi *Serratia* 1-kitin-alginat dan *Serratia* 1-kitin-alginat lebih efisien dibandingkan dengan *Serratia* 1-kitosan-alginat dan *Serratia* 1-kitosan-alginat. Sedangkan pada bakteri *Pseudomonas* kemampuannya dalam menurunkan kadar logam sianida menunjukkan bahwa imobilisasi *Pseudomonas*-kitosan-alginat lebih efisien dibandingkan dengan *Pseudomonas*-kitin-alginat. Hal tersebut juga terdapat pada *Enterobacter*. Hasil tersebut menunjukkan bahwa efisiensi penurunan kadar sianida menggunakan bakteri terimobilisasi juga dipengaruhi oleh jenis bakteri yang digunakan untuk proses imobilisasi. Hal tersebut didukung oleh penelitian Pramanik *et al.* (2011) yang menunjukkan *entrapment* atau

imobilisasi bakteri dipengaruhi oleh tipe imobilan yang digunakan, kultur bakteri yang digunakan dan durasi proses.

Interaksi alginat-kitosan dengan *Pseudomonas* dan *Enterobacter* lebih menunjukkan efisiensi jika dibandingkan dengan alginat-kitosan-*Serratia*. Untuk mengestimasi efek pelapisan manik yang berbeda pada pelepasan sel, Willaert and Baron (1993) melakukan penelitian dengan menggunakan manik alginat yang dilapisi dengan kitosan atau alginat, atau secara berurutan dengan kitosan/alginat atau kitosan/alginat/kitosan. Pelapisan kitosan itu sendiri dapat menurunkan tingkat pelepasan sel pada tahap awal fermentasi, sedangkan pelapisan dengan kitosan dan alginat menunjukkan penurunan signifikan. Imobilisasi bakteri pada gel seperti alginat, dikelilingi oleh kumpulan gel, yang membatasi gerak mereka. Saat pertumbuhan terjadi, bakteri menekan kumpulan gel dan koloni bakteri terbentuk. Saat koloni berkembang, bakteri dapat mencapai permukaan manik alginat. Hal tersebut dapat menuju ke erupsi koloni, dan konten dari koloni dilepaskan ke lingkungan (medium). Penelitian oleh Zhou *et al.* (1998) menunjukkan bahwa hasil final dari sel bebas berkurang dalam pengulangan 2 jam batch fermentasi dari susu dengan kitosan-manik alginat, dibandingkan dengan fermentasi dengan kitosan tanpa manik alginat. Kitosan merupakan kation polielektrolit yang berinteraksi dengan alginat polianionik, kitosan berfungsi sebagai *coating* bagi alginat, sehingga kitosan menurunkan *rate* pelepasan sel. Kitosan merupakan poliamin bermuatan positif yang membentuk membrane semi permeable disekitar polimer bermuatan negatif seperti alginat.

Kitosan pada umumnya menunjukkan efek bakterisidal yang kuat untuk bakteri gram positif (*Listeria monocytogenes*, *Bacillus megaterium*, *B. cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, dan *L. bulgaris*) daripada bakteri gram negatif (*E. coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella typhimurium*, dan *Vibrio parahaemolyticus*) pada kondisi kitosan 0,1% (Yeul and Rayalu, 2013). *Serratia* sp., *Pseudomonas* sp., dan *Enterobacter* sp. merupakan bakteri Gram negatif yang diisolasi dari limbah cair tapioka (Oktarina *et al.*, 2013). Oleh karena itu, kitosan dapat diaplikasikan dengan bakteri gram negatif yang merupakan mayoritas bakteri indigenous limbah cair. Penelitian sebelumnya (Husniati dan Oktarina, 2014) juga menunjukkan sifat

antibakteri kitosan juga dipengaruhi oleh konsentrasi kitosan.

Karakteristik Antimikroba pada kitosan dan kitin

Cuero (1998) dan Qi *et al.* (2004) menyatakan sifat antimikroba kitosan dipengaruhi oleh faktor intrinsik dan ekstrinsik seperti tipe atau jenis kitosan (murni atau turunan), derajat polimerisasi kitosan, sifat fisik-kimia kitosan, nutrisi induk, substrat bahan kimia, komposisi nutrisi, dan kondisi lingkungan. Aktivitas anti bakteri kitosan juga bergantung pada berat molekuler kitosan, pelarut yang digunakan, dan juga dipengaruhi oleh pH. Pada pH rendah, kitosan akan memiliki aktivitas yang tinggi. Kitosan memiliki aktivitas anti bakteri hanya pada kondisi medium asam, karena kelarutannya yang ada di bawah kisaran pH 6,5. Pada proses penelitian ini, pH berada dikisaran 6,49 – 7,58 (Tabel 3), sehingga diasumsikan sifat anti mikroba dari kitosan dan kitin tidak bekerja sepenuhnya.

Tabel 3. Kondisi pH saat awal dan akhir proses

No.	Isolat	pH	
		Awal	Akhir
1.	<i>Serratia</i> 1 alginat kitosan	6,49	6,61
2.	<i>Serratia</i> 1 alginat kitin	6,50	6,634
3.	<i>Pseudomonas</i> alginat kitosan	7,30	6,987
4.	<i>Pseudomonas</i> alginat kitin	7,30	6,836
5.	<i>Enterobacter</i> alginat kitosan	6,50	6,58
6.	<i>Enterobacter</i> alginat kitin	7,30	7,377
7.	<i>Serratia</i> 2 alginat kitosan	7,30	7,45
8.	<i>Serratia</i> 2 alginat kitin	7,30	7,58

Tsai and Su (1999) mempelajari bahwa aktivitas antimikroba pada kitosan naik pada suhu tinggi dan pH asam. Mekanisme aksi antibakteri kitosan melalui *cross-linkage* antara sifat polikation kitosan dan sifat anion pada permukaan bakteri yang mengubah permeabilitas membran. Berat molekul kitosan yang rendah memiliki efek pelambatan yang lebih besar dalam melawan fitopatogen dibandingkan kitosan dengan berat molekul tinggi.

Kitosan yang termodifikasi menunjukkan banyak keuntungan, baik kepingan kitosan maupun bubuk kitosan, yaitu memperluas permukaan, ikatan silang dari manik yang membuatnya tidak larut pada pH rendah, yang menunjukkan kemampuan mereka beradaptasi pada range pH yang luas (Bhatnagar and Silanpaa, 2009).

Kesimpulan

Bakteri *Serratia sp.*, *Pseudomonas sp.*, dan *Enterobacter sp.* dapat diimmobilisasi dengan kitosan-alginat atau kitin-alginat. Komposisi immobilisasi yang dibuat adalah *Serratia*-kitosan-alginat, *Serratia*-kitin-alginat, *Pseudomonas*-kitosan-alginat, *Pseudomonas*-kitin-alginat, *Enterobacter*-kitosan-alginat, dan *Enterobacter*-kitin-alginat. Immobilisasi tersebut dapat menurunkan kadar sianida limbah cair tapioka pada skala laboratorium. Immobilisasi dipengaruhi oleh jenis bakteri yang digunakan pada proses immobilisasi.

Daftar Pustaka

- Bhatnagar, A. And M. Sillanpää. 2009. Applications of chitin- and chitosan-derivatives for the detoxification of water and wastewater - A short review. *Advances in Colloid and Interface Science*. 152: 26-38.
- Broek, LAM van den., R.J.I. Knoop, F.H.J. Kappen, and C.G. Boeriu. 2015. Chitosan film and blends for packaging material. *Carbohydrate Polymers*, 116: 237-242.
- Brooks, G.F., Butel, J.S., Orrston, N., Jawetsz, E., Melnick, J.L., and Adelberg, E. A. 1986. *Medical Microbiology*.
- Chen, J.P. and Y.S. Lin. 2007. Decolorization of azo dye by immobilized *Pseudomonas luteola* entrapped in alginate-silicate sol-gel beads. *Process Biochemistry*. 42: 934-942.
- Chen, Y.M., T.F. Lin, C. Huang, J.C. Lin and F. M. Hsieh. 2007. Degradation of phenol and TCE using suspended and chitosan-bead immobilized *Pseudomonas putida*. *Journal of Hazardous Materials*, 148: 660-670.
- Cuero, R. G. 1998. Antimicrobial action of exogenous chitosan. *Exs*, 87: 315-333.
- Davey, M.E., O'Toole, G.A., 2000. Microbial Biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64: 847-867.
- Devanesan, M.G., T. Viruthagiri, and N. Sugumar. 2007. Transesterification of Jatropha oil using

- immobilized *Pseudomonas fluorescens*. *African Journal of Biotechnology*, 6(21): 2497-2501.
- Gentilia, A.R., M. A. Cubitto, M. Ferrerob, and M.S. Rodrigue'z. 2006. Bioremediation of crude oil polluted seawater by a hydrocarbon degrading bacterial strain immobilized on chitin and chitosan flakes. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 57: 222-228.
- Honarkar, H. and M. Barikani. 2009. Applications of biopolymers I: chitosan. *Monatsh Chem*. 140: 1403-1420.
- Husniati dan E. Oktarina. 2014. Sintesis nano partikel kitosan dan pengaruhnya terhadap inhibisi bakteri pembusuk jus nenas. *Jurnal Dinamika Penelitian Industri*, 25(2): 89-95.
- Kampf, N. 2002. The use of polymers for coating of cells. *Polymers advanced technologies*, 13: 10-12.
- Klienkenberg, G., K.Q. Lystad, D.W. Levine, and N. Dyrset. 2001. Cell Release from Alginate Immobilized *Lactococcus lactis ssp. Lactis* in Chitosan and Alginate Coated Beads. American Dairy Science Association. *J. Dairy Sci*. 84: 1118-1127.
- Krastanov A. And T. Yoshida. 2003. Production of palatinose using *Serratia plymuthica* cells immobilized in chitosan. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 30: 593-598.
- Leenen, E.J.T.M., V.A.P. Dos Santos, K.C.F. Grolle, J. Tramper and R.H. Wijffels. 1996. Characteristics of and selection criteria for support materials for cell immobilization in wastewater treatment. *Wat. Res*. 30(12): 2985-2996.
- Lertsutthiwong, P., D. Boonpuak, W. Pungrasmi, S. Powtongsook. 2013. Immobilization of nitrite oxidizing bacteria using biopolymeric chitosan media. *Journal of Environmental Sciences*, 25(2): 262-267.
- Le-Tien, C., M. Millete, M.A. Mateescu, and M. Lacroix. 2004. Modified alginate and chitosan for lactic acid bacteria immobilization. *Biotechnol. Appl. Biochem*. 39: 347-354.
- Odaci, D., S. Timur, and A. Telefoncu. 2008. Bacterial sensors based on chitosan matrices. *Sensors and Actuators B*. 134: 89-94.
- Oktarina, E., I. Setiawati, dan R. Adrianto. 2013. Bioremediasi limbah cair tapioka dengan bakteri indigenous. *Majalah Tegi*, 5(2): 45-51.
- Ping, Y., W.K. Teo, and Y.P. Ting. 2006. Design and performance study of a novel immobilized hollow fiber membrane bioreactor. *Bioresource Technology*. 97: 39-46.
- Pometto, A., C.S. Oulman, A.A. Dispirito, K.E. Johnson, and S. Baranow. 1998. Potential of agricultural by-products in the bioremediation of fuel spill. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 20(6): 369-372.
- Pramanik, S., J. McEvoy, S. Siripattanakul, and E. Khan. 2011. Effects of cell entrapment on nucleic acid content and microbial diversity of mixed cultures in biological wastewater treatment. *Biosource Technology*, 102: 3176-3183.
- Purnawan, C., N. H. Aprilita, and E. Sugiharto. 2008. *The chitosan of shrimp's shell and its application as an antibacterial agent on cotton*. Program Pasca Sarjana Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Qi, L., Z. Xu, X. Jiang, C. Hu, and X. Zou. 2004. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. *Carbohydrate Research*, 339: 2693-2700.
- Rinaudo, M. 2006. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Prog. Polym. Sci.*, 31: 603-632.
- Shimosaka, M., M. Nogawa, X.Y. Wang, M. Kumehara and M. Okazaki. 1995. Production of two chitosanases from a chitosan-assimilating bacterium *Acinetobacter* sp. Strain CHB101. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(2): 438-442.
- Suzuki, T. T. Yamaguchi, and M. Ishida. 1998. Immobilization of *Prototheca zopfii* in calcium-alginate beads for the degradation of hydrocarbons. *Process Biochemistry*. 33(5): 541-546.
- Synowiecki, J. and N.A. Al-Khateeb. 2003. Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 43(2): 145-71.
- Thirugnanasambandham, K., V. Sivakumar, and J.P. Maran. 2013. Application of chitosan as an adsorbent to treat rice mill wastewater—Mechanism, modelling and optimization. *Carbohydrate Polymers*. 97: 451-457.
- Tsai, G.J. and W.H. Su. 1999. Antibacterial Activity of Shrimp Chitosan against *Escherichia coli*. *Journal of Food Protection*, 62(3): 239-243.
- Wang, S.L., S.J. Chen, and C.L. Wang. 2008. Purification and characterization of chitinases and chitosanases from a new species strain *Pseudomonas* sp. TKU015 using shrimp shells as a substrate. *Carbohydrate Research*, 343: 1171-1179.
- Willaert, R. and G. Baron. 1993. Growth kinetics of gel-immobilized yeast cells studied by on-line microscopy. *Appl Microbiol Biotechnol*. 39: 347-352.

Yeul, V.S. and S.S. Rayalu. 2013. Unprecedented Chitin and Chitosan: A Chemical Overview. *J. Polym Environ.* 21: 606–614.

Zhou, Y., Martins, E., Groboillot, A., Champagne, C. P., & Neufeld, R. J. 1998. Spectrophotometric

quantification of lactic bacteria in alginate and control of cell release with chitosan coating. *Journal of Applied Microbiology*, 84(3): 342-348.