



Kemampuan isolat bakteri *Haloferax spp* dalam meningkatkan kemurnian garam NaCl pada proses kristalisasi

The ability of Haloferax spp bacteria isolates to increase the purity of NaCl salt in the crystallization process

Nilawati, Marihati, Rizal Awaludin Malik

Balai Besar Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri, Jl. Ki Mangunsarkoro No 6 PO Box: 829, Semarang 50136, Indonesia

INFO ARTIKEL

Sejarah Artikel :

Diterima 20 September 2017

Direvisi 31 Oktober 2017

Disetujui 31 Oktober 2017

Dipublikasikan online

21 November 2017

Keywords :

Haloferax spp

Halophilic

NaCl salt

Environmental friendly

ABSTRAK

Selama ini garam rakyat yang diproduksi secara tradisional menghasilkan kemurnian NaCl yang masih rendah yaitu 84-90 %. Telah ada penelitian untuk meningkatkan kemurnian NaCl dengan menggunakan konsorsium bakteri halofilik berwarna merah dengan genus *Haloferax spp*, namun belum diketahui secara pasti mengenai peran dan kemampuan bakteri ini dalam proses kristalisasi garam. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri *Haloferax spp* dalam proses kristalisasi garam dan kualitas garam NaCl yang dihasilkan, sehingga bisa dihasilkan garam dengan kemurnian NaCl tinggi. Penelitian ini terbagi atas dua tahap yaitu penentuan jumlah starter untuk kristalisasi dan percobaan kristalisasi. Parameter yang diukur adalah absorbansi (OD 600), kemurnian NaCl hasil kristalisasi, konsentrasi larutan garam ($^{\circ}\text{Be}$), kekeruhan, warna kristal, dan pengamatan mikroskopis. Variabel yang digunakan pada penelitian pertama adalah komposisi inokulum yang akan digunakan sebagai starter, dan variabel pada penelitian kedua merupakan variabel pembanding yaitu air garam tua dengan penambahan konsorsium halofilik, penambahan nutrisi LB (*Luria berthani*) dan kontrol berupa air garam tua. Hasil penelitian menunjukkan bahwa komposisi terbaik untuk proses kristalisasi adalah konsentrasi isolat 10% dan penambahan pada proses kristalisasi sebanyak 1%. Pada penelitian kedua kenaikan konsentrasi larutan garam tercepat 7 hari diperoleh pada perlakuan *Haloferax spp* dan kontrol+LB, kekeruhan tertinggi didapatkan oleh perlakuan konsorsium halofilik, dan kekompakan kristal garam yang terbaik dihasilkan oleh perlakuan *Haloferax spp*. NaCl yang dihasilkan dari penambahan bakteri *Haloferax spp* memiliki nilai tertinggi yaitu 94,64%, sementara perlakuan dengan konsorsium bakteri halofilik sebesar 92,84%, kontrol dengan penambahan nutrisi LB 92,51% dan kontrol 91,0%.

ABSTRACT

Traditional salt consisted a low purity of NaCl of 84-90%. There has been researched to improve the purity of NaCl using red halophilic, *Haloferax spp*. However the role and capability of these bacteria in the salt crystallization process is still unclear. Therefore this study aims to determine the ability of *Haloferax spp* bacteria in the process of salt crystallization and the quality of resulted salt NaCl. This research was divided into two stages. First stage was to determine of the number of starters for crystallization and second stage focused on experiments of crystallization. The measured parameters were absorbance (OD 600), purity of crystallized NaCl, salt solution concentration ($^{\circ}\text{Be}$), turbidity, crystal color, and microscopic observation. The variable in the first stage were the composition of inoculum as starter. The variable in the second study was the comparison between old salt water with the addition of halophilic consortium, the addition of LB nutrition (*Luria berthani*) and old salt water only as a control. The results showed that the best composition for crystallization process was 10% isolate concentration and the addition of crystallization process was 1%. In the second study, the increasing of salt concentratio in 7 days

was obtained in *Haloferax* spp and LB + control treatment, the highest turbidity was obtained by the halophilic consortium treatment, and the best crystal synthesis of salt was achieved by *Haloferax* spp treatment. The resulted salt from the addition of *Haloferax* spp bacteria had the highest value of NaCl 94.64%, while the resulted NaCl from treatment with halophilic bacteria consortium, control with the addition of LB nutrient, and control were 92.84%, 92.51% and 91.0% respectively.

© 2017 BBT PPI. All rights reserved.

*Alamat korespondensi :

E-mail : nilawatibbtppi@yahoo.co.id (Nilawati)

Telp. +6282243313173

doi : <https://10.21771/jrtppi.2017.v8.no.2.p92-103>

2503-5010/2087-0965© 2017 Jurnal Riset Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri-BBT PPI (JRT PPI-BBT PPI).

This is an open access article under the CC BY-NC-SA license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).

Accreditation number : (LIPI) 756/Akred/P2MI-LIPI/08/2016

1. PENDAHULUAN

Proses peladangan garam di Indonesia umumnya masih dilakukan dengan metode tradisional dengan menguapkan air laut menggunakan bantuan sinar matahari. Hasil kristalisasi garam secara tradisional ini menghasilkan garam NaCl dengan kemurnian yang rendah (84-90%). Hal ini disebabkan oleh adanya zat pengotor seperti MgCl, CaSO₄, FeCl₃, dan KCl yang ikut terkristalisasi (Rocha dkk, 2012). Berdasarkan standar SNI 4435:2017, garam bahan baku untuk industri garam beryodium dipersyaratkan mempunyai kadar kemurnian NaCl sebesar 94, untuk kualitas K1, dan minimal 90% untuk kualitas K2. Keberadaan zat pengotor *impurities* ini sangat berpengaruh pada proses maupun aplikasi dari penggunaan NaCl baik untuk aplikasi pada industri bahan pangan maupun pada industri kimia (Sedivy, 2009). Untuk menghasilkan garam NaCl dengan kualitas yang sangat baik bisa dilakukan secara kimiawi dan secara mekanis (Götzfried dan Kondorosy, 2009). Selama ini untuk meningkatkan kemurnian NaCl garam bahan baku di industri garam beryodium masih menggunakan metode pencucian. Pencucian garam menggunakan air garam 22⁰Be sebagai bahan pencuci sehingga proses ini akan menghasilkan air limbah. Menurut Nilawati dan Marihati, (2017), limbah pencucian garam mempunyai density diatas 25⁰ Be dan dibuang ke lingkungan dengan rata-rata debit 1,5 m³ per-10 ton garam yang dicuci.

Salah satu usaha untuk mencegah adanya limbah cair di unit pencucian garam yaitu dengan tersedianya bahan baku dengan kandungan NaCl diatas 94%. Salah satu alternatif metode untuk meningkatkan kualitas garam NaCl dengan peladangan garam dilakukan secara bioteknologi dengan menggunakan jenis halobakteria/ haloarchaeobakteria.

Menurut Davis, (1974) terdapat beberapa persyaratan pada proses peladangan garam untuk menghasilkan garam NaCl dengan kualitas yang tinggi diantaranya adalah air tua yang akan dikristalkan harus sudah terbebas dari materi organik berlebihan, salinitas air tua harus mendukung kehidupan dari bakteri halofilik berwarna merah karena kehadiran bakteri halofilik ini akan mengoksidasi materi organik yang berlebihan dimana kadar materi organik yang terlalu tinggi dapat menyebabkan gangguan pada pembentukan kristal NaCl. Pada kolam kristalisasi dan kolam penuaan terdapat banyak jenis mikroorganisme yang hidup dan berkembang, baik mikroorganisme halofilik maupun halotoleran. Beberapa jenis bakteri halotoleran seperti *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Staphylococcus captis* (Sundaresan dkk., 2006), dan beberapa jenis genus *Pseudomonas*, *Vibrio* dan *Aeromonas* (Mani dkk., 2012) seringkali ditemukan pada area kristalisasi garam. Selain jenis bakteri, terdapat jenis mikroorganisme lain yang umumnya hidup pada area kristalisasi garam yaitu *Artemia salina*, alga *Duniallella* spp dan jenis-jenis *phytoplankton* lainnya (Abid dkk., 2008).

Bakteri halofilik merupakan jenis mikroorganisme yang habitatnya berada pada perairan dengan kadar garam tinggi (Shivanand dan Mugeraya, 2011). Sebagian besar bakteri halofilik yang hidup pada kadar salinitas yang tinggi memiliki pigmen warna (Mani dkk, 2012). Pigmen warna yang dimiliki oleh bakteri halofilik umumnya merupakan golongan karotenoid dan bacterioruberin (Rodrigo-Baños dkk, 2015), pigmen warna ini berhubungan erat dengan kebutuhan akan sinar matahari untuk menghasilkan energi sekaligus untuk melindungi intraseluler bakteri halofilik dari oksidasi yang terjadi akibat terpapar oleh sinar UV (Waditee-Sirisattha dkk, 2016). Ventosa dan Oren, (2011) menyatakan bahwa organisme halofilik berwarna merah memiliki peran yang signifikan dalam peningkatan kualitas garam yang dihasilkan pada peladangan garam. Secara umum sebagian besar anggota famili bakteri halofilik memiliki kemampuan untuk mengakumulasi anion khususnya ion K^+ dalam tubuhnya (Empadinhas dan Costa, 2008). Penelitian yang dilakukan oleh Marihati dkk., (2014) menunjukkan bahwa proses peladangan garam dengan bio manajemen menggunakan *Artemia salina* dan konsorsium bakteri halofilik menghasilkan garam NaCl dengan kemurnian 98.48%, namun belum diketahui secara spesifik mengenai peran dan jenis dari bakteri halofilik berwarna merah pada proses kristalisasi garam.

Kehadiran mikroorganisme halofilik dalam proses kristalisasi garam telah terbukti secara praktikal berpengaruh signifikan pada garam NaCl yang dihasilkan namun belum ditemukan secara jelas faktor apa saja yang berpengaruh dalam sistem tersebut (Oren, 2010), sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Giordano dkk., (2012) menyatakan bahwa kehadiran alga *Dunaliella salina* tidak secara signifikan mempengaruhi kadar mikroelemen pada media tumbuhnya. Belum diketahui secara pasti mengenai peran dan kemampuan bakteri Halofilik berwarna merah khususnya genus *Haloferax spp* dalam proses kristalisasi garam, oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri halofilik berwarna merah dari genus *Haloferax spp* dalam proses kristalisasi garam dan kualitas garam NaCl yang dihasilkan. Dengan harapan bila dihasilkan kemurnian NaCl tinggi

sehingga garam bahan baku tidak diperlukan lagi pencucian bila akan diproses lebih lanjut. Dengan demikian akan mencegah menghasilkan limbah cair dari unit pencucian garam.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan meliputi bahan media halofilik artifisial yang digunakan dibuat berdasarkan modifikasi dari Schneegurt (2012), yeast ekstrak (sumber N dan vitamin B) 0,25 gr/L (Oxoid), trypton (sumber N) 0,5 gr/L (Oxoid), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 20 gr/L (99% Merck), KCl 2 gr/L (99% Merck), Trisodium sitrat (sumber C) 3 gr/L (99% Merck), NaCl 240 gr/L (99% Merck) dan $FeCl_3 \cdot 3H_2O$ 0,036 gr/L (99% Merck). Media halofilik alami merupakan air garam tua (22° be) yang ditambahkan dengan yeast ekstrak (0,25 gr/L) dan trypton (0,5 gr/L). Larutan garam yang digunakan untuk kristalisasi adalah larutan air garam tua (22° be) yang didapatkan dari peladangan garam di Sampang Madura.

Alat yang digunakan adalah spektrofotometer Agilent Cary 60 UV-Vis, Mikroskop *Hirox CCD KH-8700*, *beaker glass*, nampan plastik untuk kristalisasi, gelas ukur, *shaker incubator* Biosan Environmental Shaker incubator ES-20/60 dan baume meter.

2.2 Prosedur

2.2.1 Penyiapan Isolat Bakteri

Isolat bakteri *Haloferax spp* yang digunakan pada penelitian ini didapatkan dari hasil isolasi dan identifikasi bakteri yang berasal dari peladangan garam di Sampang Madura (Marihati, dkk., 2016). Kemudian isolat *Haloferax spp* dan konsorsium halofilik diperbanyak pada media cair halofilik berdasarkan (Schneegurt, 2012) yang telah di modifikasi.

2.2.2 Variasi Jumlah Starter Isolat *Haloferax Spp* pada Kristalisasi Garam NaCl

Dalam menentukan jumlah starter terbaik dilakukan percobaan kristalisasi dengan menggunakan

isolat *Haloferax spp* dan konsorsium bakteri halofilik dengan menggunakan 2 variabel. Variabel pertama adalah penggunaan isolat bakteri sebagai starter awal untuk pengkayaan dengan konsentrasi isolat 2,5%, 5% dan 10% dan kemudian diinkubasi dalam shaker incubator selama 7 hari pada suhu 39°C dengan putaran 150 rpm dan dilakukan pengamatan berupa pengukuran absorbansi/optical density (OD₆₀₀) setiap hari (interval 24 jam) menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600nm untuk mengetahui perkembangannya, lalu variabel selanjutnya adalah penggunaan isolat bakteri sebanyak 0,5%, 1% dan 1,5% lalu dilanjutkan dengan proses kristalisasi untuk mengetahui pengaruh variasi pemberian isolat pada kualitas garam NaCl yg dihasilkan.



Gambar 1. Starter inokulum *Haloferax spp* berwarna oranye tua kemerahan (kiri) dan starter inokulum konsorsium halofilik berwarna oranye-abu (kanan)

2.2.3 Kristalisasi

Percobaan kristalisasi menggunakan *Haloferax spp* dilakukan dengan menambahkan isolat bakteri *Haloferax spp* dengan menggunakan kombinasi variasi terbaik dari percobaan sebelumnya dan konsorsium halofilik masing-masing sebanyak 1% kedalam air garam tua yang (22° be) yang akan di kristalkan. Sebagai kontrol pertama digunakan air garam tua dengan penambahan yeast ekstrak (0,25 gr/L) dan trypton (0,5 gr/L). Kontrol kedua berupa air garam tua yang tidak diberikan penambahan apapun. Seluruh perlakuan diaerasi selama 14 hari hingga konsentrasi larutan mencapai 25° Be (Marihati, dkk., 2014), kemudian dilakukan kristalisasi dengan menempatkan seluruh sampel

kedalam nampan plastik dengan volume masing-masing 2 liter. Proses kristalisasi dilakukan dengan menggunakan bantuan panas matahari. Selama proses kristalisasi dilakukan pengamatan konsentrasi larutan garam dengan menggunakan baume meter dan pengamatan *absorbansi* menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Setelah proses kristalisasi selesai sampel garam ditempatkan pada tampah kayu untuk ditiriskan selama 3 hari hingga larutan *bittern* telah tiris seluruhnya. Kristal garam yang telah didapatkan dari proses kristalisasi kemudian dilakukan pengamatan meliputi warna, tekstur dan morfologi kristal garam dengan menggunakan mikroskop *Hirox CCD Microscope KH-8700*. Setelah itu diuji kadar NaCl dan kadar air sesuai dengan SNI 01-3556-1994.

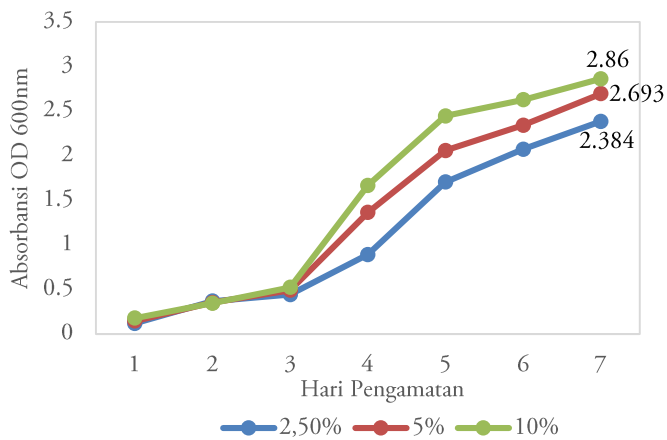
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Penelitian tahap pertama untuk mengetahui pengaruh konsentrasi dan jumlah starter bakteri *Haloferax spp* yang digunakan saat kristalisasi garam terhadap kadar NaCl

Sebagian besar jenis bakteri halofilik khususnya halofilik ekstrim yang memiliki pigmen warna membutuhkan waktu inkubasi yang relatif cukup lama dibandingkan dengan bakteri golongan non halofilik (Kushner, 1966), seperti spesies *Halorubrum spp* yang memiliki waktu inkubasi 7 hari (Naziri dkk, 2014), bakteri *Haloferax* dengan masa inkubasi 7-10 hari (Enache dkk, 2006), bakteri *Haloarcula amylolytica* di inkubasi selama 6-10 hari (Yang dkk, 2007).

Dari hasil pengamatan Gambar 2 didapatkan hasil bahwa ketiga variasi inokulum menunjukkan bentuk kurva yang relatif sama yaitu memasuki fase peak pada hari ke-7, hal ini sesuai dengan Yeannes dkk., (2011) yang melakukan percobaan menggunakan bakteri *Haloferax spp* dengan masa inkubasi 5-7 hari. Nilai absorbansi tertinggi didapatkan pada variasi inokulum 10% yaitu 2,86 namun apabila dibandingkan dengan kedua variasi lainnya nilai tersebut tidak secara signifikan berbeda. Nilai absorbansi merupakan analogi dari jumlah sel bakteri dalam larutan yang diujikan,

semakin tinggi nilai absorbansi maka semakin tinggi pula jumlah sel bakteri dalam larutan tersebut.



Gambar 2. Pengaruh variasi jumlah inokulum dan lama pengamatan terhadap nilai absorbansi starter bakteri *Haloferax spp*

Tabel 1. Hasil analisis kimia garam hasil kristalisasi dengan menggunakan bakteri *Haloferax spp*

Perlakuan	Air, %	Cl %	Rata-rata Kadar NaCl (%)
S ₁ P ₁	3,81	55,21	93,36
S ₂ P ₁	4,64	54,72	93,03
S ₃ P ₁	5,85	53,68	92,37
S ₀	5,55	53,74	92,53
S ₁ P ₂	3,71	55,75	93,73
S ₂ P ₂	4,25	55,04	93,86
S ₃ P ₂	4,40	55,59	94,93
S ₁ P ₃	3,56	55,40	93,76
S ₂ P ₃	2,02	56,30	93,54
S ₃ P ₃	5,61	53,81	92,90

Keterangan :

- S₁ : Konsentrasi isolat pada saat pembuatan starter (2,5 %)
- S₂ : Konestrasi isolat pada saat pembuatan starter (5 %)
- S₃ : Konsentrasi isolat pada saat pembuatan starter (10 %)
- P₁ : Perlakuan penambahan starter pada saat kristalisasi (0,5 %)
- P₂ : Perlakuan penambahan starter pada saat kristalisasi (1%)
- P₃ : Perlakuan penambahan starter pada saat kristalisasi (1,5 %)
- S₀ : Kontrol tanpa penambahan starter

Tabel 1 menunjukkan bahwa kombinasi terbaik untuk menghasilkan NaCl adalah variasi dengan

konsentrasi isolat S₃P₂ dengan kemurnian NaCl 94,93%. Nilai kemurnian terendah didapatkan pada variasi S₀ (air garam tua) sebagai kontrol. Penambahan starter bakteri pada kristalisasi menunjukkan adanya peningkatan kualitas kemurnian NaCl yang dihasilkan. Dilihat dari data pada Tabel 1 seharusnya perlakuan S₃P₃ memiliki hasil yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya mengingat bahwa pada perlakuan tersebut secara kuantitas bakteri yang terkandung pada starter akan lebih banyak, namun hasil percobaan justru menunjukkan hasil yang sebaliknya, hal ini terjadi karena tingginya kuantitas bakteri yang diberikan pada awal proses tidak sebanding dengan jumlah materi organik yang terkandung dalam air garam tua yang digunakan sehingga bakteri akan cepat tumbuh dan juga cepat mengalami kematian karena tidak adanya sumber makanan. Kematian dari sel sel bakteri ini berdampak pada peningkatan materi organik dalam larutan air garam tua, tingginya materi organik pada saat proses kristalisasi akan berdampak pada malformasi dan penghambatan pembentukan kristal-kristal garam (Davis dan Giordano, 1995). Untuk percobaan selanjutnya dipilih perlakuan konsentrasi isolat 10% dan penambahan isolat sebagai starter pada proses kristalisasi sebanyak 1%.

3.2. Penelitian tahap kedua, Proses Kristalisasi dan Kualitas Garam NaCl yang Dihadirkan

Sebelum proses kristalisasi dilakukan, terlebih dahulu disiapkan starter bakteri *Haloferax spp* yang diperoleh dari variasi perlakuan terbaik pada penelitian tahap pertama yaitu variasi perlakuan S₃P₂. Bakteri *Haloferax spp* dan konsorsium Halofilik ditumbuhkan pada air garam 22° be pada wadah penampung dan ditambahkan ekstrak yeast dan trypton (Klykov dkk., 2012), lalu dilakukan aerasi menggunakan aerator dengan kecepatan aliran 14,54 ml/detik.

3.2.1 Pengaruh Penambahan Bakteri *Haloferax spp* dan Konsorsium Halofilik Terhadap Faktor Fisik Kristalisasi

Faktor fisik yang mempengaruhi proses kristalisasi garam adalah kedalaman/ketinggian air garam tua yang

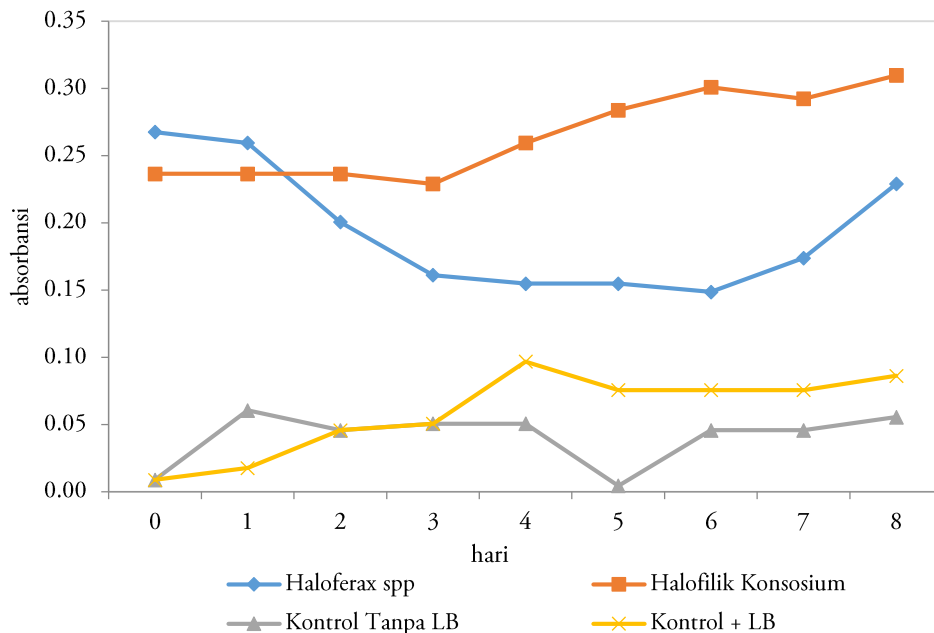
dikristalkan, kecepatan angin dan suhu (Coelho dkk, 2014). Pengaruh penambahan isolat bakteri baik isolat *Haloferox spp* maupun isolat konsorsium halofilik dapat mempengaruhi kemurnian dari kristal garam NaCl yang dihasilkan. Kehadiran adanya bakteri *Haloferox* maupun bakteri halofilik ini secara fisik dapat meningkatkan suhu air garam tua yang sedang dalam proses kristalisasi karena adanya pigmen berwarna oranye hingga merah yang dimiliki oleh bakteri-bakteri tersebut (Javor, 2002).

Peningkatan suhu air garam pada saat kristalisasi terjadi karena radiasi panas yang masuk kedalam air garam akan terperangkap sehingga akan menghasilkan efek rumah kaca pada air garam tersebut (Rocha dkk., 2012).

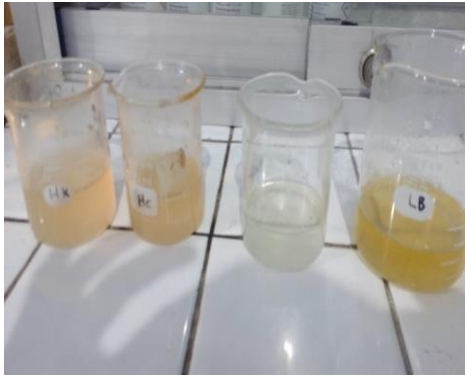
Jenis bakteri *Halobakterial/halofilik* yang hidup pada proses kristalisasi garam umumnya memiliki pigmen berwarna merah terang hingga ke oranye, pigmen warna ini merupakan senyawa *bakterioruberin/bakteriorhodopsin* (Naziri dkk., 2014) dan juga senyawa karotenoid dan turunannya (Jehlicka dkk., 2017). Pigmen warna yang berada pada dinding sel merupakan antioksidan dimana akan mengakibatkan bakteri-bakteri halofilik lebih tahan terhadap stress akibat terpapar UV dari radiasi sinar matahari (Klein, dkk, (2012). Gelombang sinar UV apabila

mempenetrasi kedalam sel bakteri maka dapat berdampak pada rusaknya sel bakteri dan kemudian akan menyebabkan kematian pada bakteri (Yatsunami dkk., 2014).

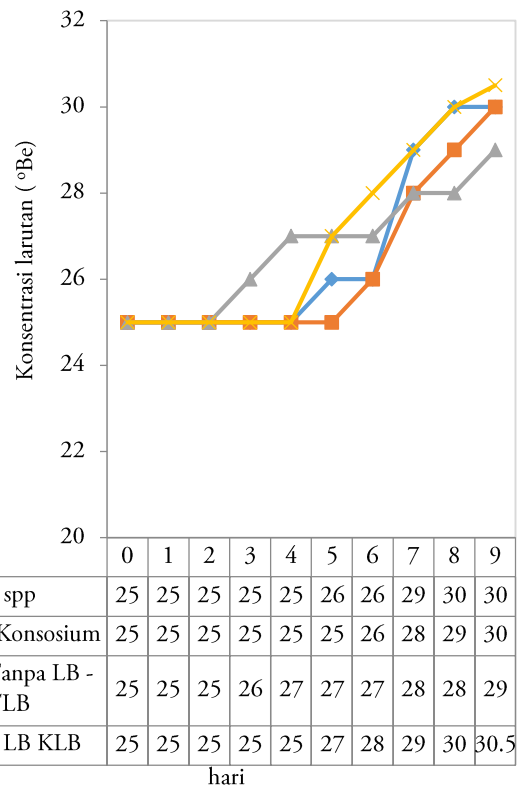
Pada Gambar 3 terlihat bahwa nilai absorbansi dengan perlakuan halofilik konsorsium memiliki nilai 0,3098, sedangkan perlakuan *Haloferox spp* memiliki nilai absorbansi 0,2291. Perbedaan nilai absorbansi antara isolat *Haloferox spp* dan konsorsium bakteri halofilik dikarenakan perlakuan dengan jenis *Haloferox spp* adalah jenis bakteri yang berwarna oranye tua kemerahan sedangkan konsorsium bakteri halofilik berwarna oranye abu-abu dan lebih keruh (krem) hal ini terjadi karena konsorsium merupakan campuran "raw" mikroorganisme halofilik maupun halotoleran. Adanya bermacam-macam jenis bakteri pada konsorsium bakteri halofilik menyebabkan warna yang dihasilkan adalah warna oranye abu-abu dan terlihat lebih keruh. Kekeruhan tersebut akan menyebabkan berkurangnya penyerapan radiasi matahari pada saat kristalisasi. Isolat bakteri *Haloferox spp* berwarna oranye tua kemerahan pekat sehingga dapat berfungsi secara optimal dalam menyerap radiasi matahari maupun menimbulkan efek rumah kaca pada area kristalisasi.



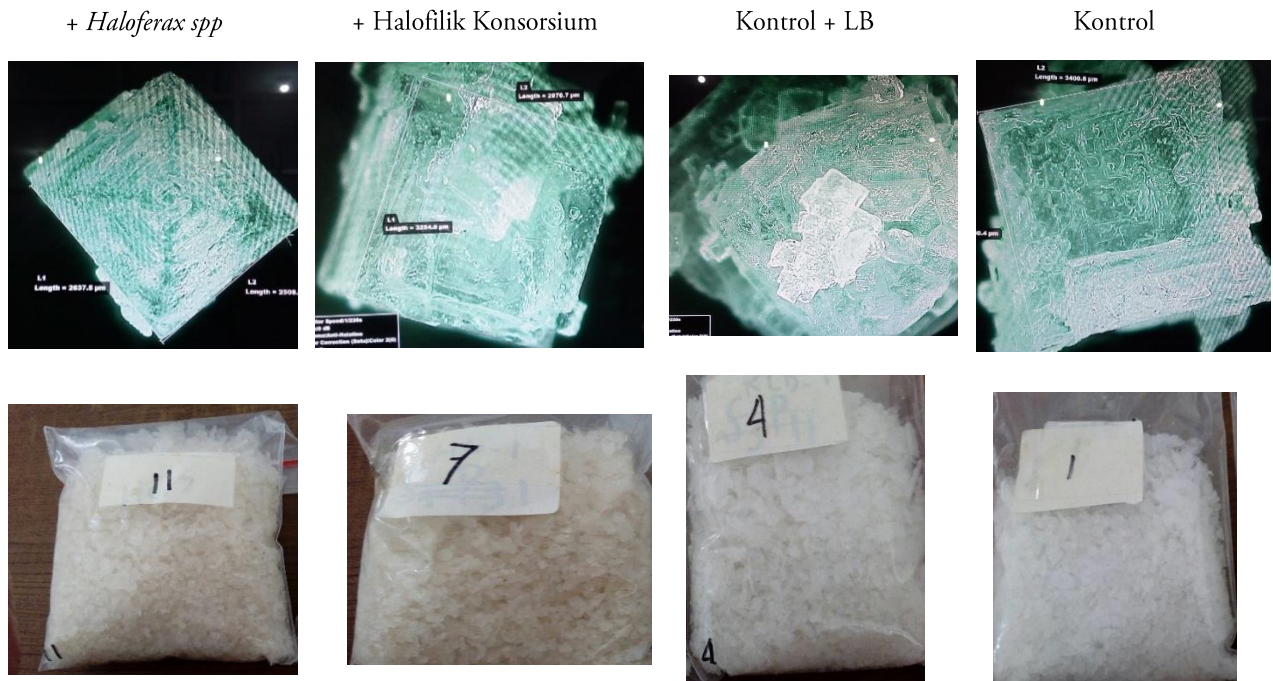
Gambar 3. Pengaruh penambahan bakteri *Haloferox spp*, konsorsium Halofilik, kontrol, kontrol+LB dan lama kristalisasi terhadap nilai absorbansi larutan kristalisasi garam



Gambar 4. Visualisasi warna larutan garam dengan perlakuan dari kiri ke kanan halofilik konsorsium, *haloferax spp*, kontrol, kontrol dengan penambahan LB



Gambar 5. Pengaruh penambahan bakteri *Haloferax spp*, konsorsium halofilik, kontrol, Kontrol+LB dan lama kristalisasi terhadap kenaikan konsentrasi larutan garam (°Be)



Gambar 6. Pengaruh penambahan bakteri *Haloferax spp*, konsorsium halofilik, kontrol, kontrol+LB dan lama kristalisasi terhadap bentuk kristal garam

3.2.2 Aktifitas Biokimia *Haloferax spp* terhadap proses kristalisasi garam NaCl

Selain berpengaruh terhadap faktor fisika, bakteri-bakteri *Haloferax spp* juga berpengaruh terhadap inisiasi pembentukan kristalisasi akibat adanya aktifitas biokimia bakteri *Haloferax spp*. Bakteri golongan halofilik berwarna merah hidup pada kondisi salinitas yang sangat tinggi (>200 g/L NaCl), pada bakteri non halofilik kondisi ini akan menyebabkan kematian sel akibat adanya gradien yang sangat ekstrim antara osmotik di dalam sel dan diluar sel (Kunte dkk, 2004). Bakteri *Haloferax spp* memiliki kemampuan untuk beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang salin, adaptasi tersebut meliputi produksi senyawa-senyawa osmolit seperti *glycine*, *betain*, *ectoine* dan beberapa jenis asam amino dan polisakarida (Roberts dkk, 2005), mempertahankan keseimbangan osmotik intraselluler dengan mekanisme regulasi dan akumulasi anion-kation (Gunde-Cimerman dkk., 2005). Regulasi dan akumulasi kation-anion dalam sel bakteri *Haloferax spp* terjadi karena adanya kebutuhan akan keseimbangan antara osmolaritas larutan dan osmolaritas intraselluler, sedangkan senyawa-senyawa osmolit tidak diakumulasi melainkan disekresikan (Dassarma, 2001). González-Hernández dkk., (2004), menyatakan bahwa bakteri halofilik dapat mengakumulasi ion Na⁺ dalam jumlah besar namun apabila terdapat ion K⁺ maka ion-ion Na⁺ yang terakumulasi dalam sel akan di tukar dengan ion K⁺ melalui pompa ion pada dinding sel.

Konsentrasi larutan menunjukkan adanya peningkatan konsentrasi kation-anion dalam larutan garam, peningkatan ini terjadi karena air yang terkandung dalam larutan garam menguap pada proses kristalisasi. Hasil pengamatan konsentrasi larutan tersaji pada Gambar 5. Gambar 5 menunjukkan konsentrasi larutan pada perlakuan *Haloferax spp* dan kontrol dengan penambahan LB mulai meningkat pada hari ke-5, sedangkan pada perlakuan Halofilik konsorsium peningkatan konsentrasi larutan mulai terjadi pada hari ke 6, sedangkan kontrol mulai meningkat pada hari ke-4. Konsentrasi larutan pada seluruh perlakuan mencapai puncaknya (30° be) pada hari ke-8 sedangkan kontrol hanya mencapai 29° Be pada hari pengamatan terakhir, fenomena ini menunjukkan

pentingnya pengaruh warna terhadap evaporasi air pada larutan garam. Perbedaan-perbedaan konsentrasi pada larutan garam ini menunjukkan bahwa adanya variasi perlakuan tersebut memiliki dampak yang berbeda-beda pada saat proses kristalisasi. Semakin cepat proses peningkatan konsentrasi larutan garam maka semakin cepat proses kristalisasi berjalan sehingga akan meningkatkan kecepatan produksi dari garam tersebut.

3.2.3 Pengamatan Visual Kristal Garam

Kristal garam dari proses kristalisasi dengan berbagai perlakuan tersebut menghasilkan karakteristik bentuk dan warna kristal yang berbeda. Pengamatan kristal garam secara visual tersaji pada Gambar 6.

Dari Gambar 6 terlihat bahwa warna dari tiap perlakuan memiliki karakteristik bentuk kristal yang berbeda, perlakuan dengan *Haloferax spp* memiliki bentuk kristal kubik regular dengan ukuran 2,9-4 mm dan kristal garam yang dihasilkan bertekstur relatif lebih keras dan berwarna putih sedikit kemerahan. Salah satu karakteristik garam yang dikristalkan dengan bantuan bakteri halofilik adalah warna garam ketika dipanen akan berwarna sedikit kemerahan, hal ini disebabkan karena adanya komunitas bakteri halofilik yang terjebak dalam kristal garam.

Kemampuan bakteri halofilik dalam mengakumulasi ion-ion akan sangat membantu proses kristalisasi karena ketika terjadi proses pertukaran antara ion K⁺, Mg⁺ yang masuk kedalam sel bakteri halofilik dan ion Na⁺ yang dikeluarkan oleh bakteri maka akan terjadi pergeseran saturasi sehingga ion Na⁺ dan Cl⁻ disekitar sel bakteri akan lebih tinggi sehingga akan menginisiasi pembentukan kristal garam (Castanier dkk., (1992), pernyataan tersebut diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh (Lopez-Cortes & Ochoa, 1998) yang menyatakan bahwa bakteri halofilik berperan dalam pembentukan kristal garam NaCl karena sel bakteri halofilik dapat berperan sebagai *template* pembentukan kristal garam. Pengamatan menggunakan mikroskop pada perlakuan dengan halofilik konsorsium terlihat bentuk kristal garam berupa kubik dengan ukuran 2,7-3,3mm dan terlihat sedikit bertumpuk antara kubik-kubik kristal besar

yang terbentuk, tekstur kristal garam pada perlakuan ini relatif lebih keras dibanding kontrol dan berwarna putih-sedikit kecoklatan/merah. Kontrol dengan penambahan LB memiliki bentuk mikroskopis lebih irregular dimana satu kristal garam terbentuk dari tumpukan beberapa kristal kecil, warna pada perlakuan ini cenderung lebih putih dibanding perlakuan dengan *Haloferax spp* dan konsorsium halofilik. Variasi kontrol dengan penambahan LB memiliki tekstur yang lebih rapuh (*brittle*) karena kristal garam terbentuk dari kristal-kristal kecil dan terdapat bentuk kristal dendritik tipis. Kontrol pada penelitian ini memiliki warna kristal garam yang lebih putih bersih dibandingkan dengan perlakuan lainnya, secara mikroskopis kristal garam yang terbentuk berupa kubik dengan ditumbuhi kristal-kristal kecil disekeliling kubik kristal utama, dan tekstur dari kristal ini lebih getas/rapuh.

3.2.4. Kualitas Kristal NaCl yang Dihasilkan dari Seluruh Perlakuan

Hasil kristalisasi pada Tabel 2 menunjukkan, bahwa seluruh perlakuan menghasilkan kristal garam dengan kemurnian diatas 90 %, dimana hasil terbaik diperoleh dari perlakuan dengan menggunakan *Haloferax spp* dengan kemurnian rata-rata mencapai 94,64%, perlakuan menggunakan konsorsium halofilik menghasilkan garam NaCl dengan kemurnian 92,84%. Kontrol negatif berupa air garam tua yang tidak diberi perlakuan berupa penambahan bakteri maupun nutrisi memiliki kemurnian NaCl yang paling kecil yaitu 91%, sedangkan kontrol dengan pemberian nutrisi *Luria berthani* (yeast ekstrak dan trypton) memiliki kemurnian rata-rata 92,51%. Dengan diperolehnya kadar kemurnian yang tinggi diatas 94% yang akan digunakan sebagai bahan baku oleh industri garam beryodium maka tidak memerlukan pencucian lagi, dengan asumsi garam yang dihasilkan juga terbebas dari cemar fisik seperti kotoran-kotoran yang tak larut seperti pasir, kerikil, serpihan kayu. Dengan demikian akan diperoleh beberapa keuntungan bagi industri yaitu, akan menghemat air, tenaga, energi listrik dan yang terpenting tidak menghasilkan limbah cair. Menurut Nilawati dan Marihati,

(2017), jumlah limbah cair yang dibuang sebanyak 1,5 m³ per-hari setiap pencucian garam 10 ton.

Tabel 2. Hasil uji garam hasil kristalisasi menggunakan bakteri *Haloferax spp*, konsorsium halofilik, kontrol dan kontrol+LB

Perlakuan	Ulangan	Air, %	Impuritas Kimia %	NaCl total
<i>Haloferax spp</i>	1	3,96	2,23	93,81
	2	5,04	0,1	94,86
	3	4,03	0,82	95,15
	Rata-rata	4,34	1,02	94,64
Halofilik Konsorsium	1	5,71	1,46	92,83
	2	6,32	1,34	92,34
	3	6,38	0,25	93,37
	Rata-rata	6,13	1,03	92,84
Kontrol	1	6,46	3	90,54
	2	5,69	4,37	89,94
	3	4,93	2,55	92,52
	Rata-rata	5,69	3,30	91,00
Kontrol + LB	1	5,98	2,75	91,27
	2	5,75	1,72	92,53
	3	4,84	1,43	93,73
	Rata-rata	5,52	1,966	92,51

Hasil kristalisasi garam NaCl dengan menggunakan bakteri *Haloferax spp* memiliki kemurnian rata-rata hingga 94,64% sedangkan kontrol tanpa menggunakan variasi hanya menghasilkan garam NaCl dengan kemurnian 91%. Peningkatan kadar kemurnian garam NaCl ini terkait dengan kemampuan bakteri *Haloferax spp* dalam meningkatkan laju kristalisasi secara fisik maupun kimiawi. Secara fisik laju kristalisasi meningkat karena adanya pigmen warna yang dimiliki oleh *Haloferax spp*, sedangkan secara kimiawi disebabkan karena adanya aktifitas biokimia, dimana bakteri ini mampu mendegradasi zat-zat impuritis pada proses kristalisasi. Hal ini didukung oleh data pada Tabel 3 terlihat bahwa jumlah zat impuritis paling rendah

pada perlakuan *Haloferax spp* dan Halofilik konsorsium dibandingkan dengan kontrol+LB dan kontrol.

Perlakuan menggunakan *Haloferax spp* memiliki nilai kemurnian lebih tinggi dari perlakuan menggunakan konsorsium halofilik yaitu NaCl 94,64% sementara perlakuan dengan isolat konsorsium bakteri halofilik hanya memiliki kemurnian 92,84%. Perlakuan dengan penambahan nutrisi *Luria Berthani* memiliki nilai kemurnian sebesar 92,51%, nilai ini hampir sama dengan perlakuan menggunakan konsorsium bakteri halofilik. Adanya kesamaan kemurnian ini disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya adalah warna air tua yang menjadi sedikit kecoklatan hal ini berpengaruh pada laju evaporasi ketika proses kristalisasi terjadi, selain itu adanya materi organik sederhana dalam air garam tua berperan juga dalam pencegahan terjadinya proses kopresipitasi NaCl (Oren, 1994). Kemurnian NaCl yang didapatkan tidak sebaik dengan penelitian (Marihati dkk., 2014), hal ini dikarenakan ketika dilakukan penelitian ini terhambat beberapa faktor seperti tidak adanya gradasi degradasi materi yang dilakukan oleh mikroorganisme non halofilik, dan kurangnya ketersediaan faktor-faktor pendukung utama seperti agitasi oleh adanya angin, dan panas dari sinar matahari. Pada penelitian ini panas matahari sangat terbatas dikarenakan keadaan cuaca yang tidak stabil dan agitasi oleh adanya angin sangat terbatas karena penelitian dilakukan di area laboratorium.

4. KESIMPULAN

Hasil penelitian diperoleh bahwa Isolat *Haloferax spp* mampu meningkatkan mutu kemurnian garam NaCl pada proses kristalisasi dengan sistem kristalisasi menggunakan panas matahari selama 7 hari. Kemurnian NaCl yang dihasilkan dari penambahan bakteri *Haloferax spp* memiliki nilai tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya yaitu 94,64%, sementara perlakuan dengan menggunakan konsorsium bakteri halofilik menghasilkan kemurnian NaCl sebesar 92,84%, kontrol dengan penambahan nutrisi LB 92,51% dan kontrol 91,0%.

Haloferax spp berperan dalam menstimulus faktor fisika-kimia pada proses kristalisasi garam, faktor-faktor yang terpengaruhi oleh adanya bakteri *Haloferax spp* adalah warna larutan (kekeruhan) yang menjadi merah, kecepatan evaporasi/peningkatan konsentrasi larutan (°Be) sehingga proses pemanenan garam dapat lebih cepat, dan bentuk kristal NaCl yang dihasilkan yang lebih kompak dan solid.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada PT Garam yang telah memfasilitasi pengambilan sampel untuk percobaan penelitian dan kepada rekan-rekan analis laboratorium BBTPI yang telah membantu dalam bidang analisis sampel hasil percobaan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abid, O., Sellami-Kammoun, A., Ayadi, H., Drira, Z., Bouain, A., & Aleya, L., 2008, Biochemical adaptation of phytoplankton to salinity and nutrient gradients in a coastal solar saltern, Tunisia, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 80 (3): 391–400.
- Castanier, S., Perthuisot, J. P., Rouchy, J. M., Maurin, A., & Guelorget, O., 1992, Halite ooids in Lake Asal, Djibouti: Biocrystalline build-UPS, *Geobios*, 25 (6): 811– 821.
- Coelho, Ricardo, J., Hillario, Mauro, R., & Duarte, Nuno, R., 2014, Solar salt works integrated management - SSWIM. In *Solar salt works & The Economic Value of Biodiversity*: 58–65.
- Das sarma, S., 2001, Halophiles, *Encyclopedia of Life Science* (1),1–9. Nature Publishing Group.
- Davis, J. S., 1974, Importance of microorganisms in solar salt production. *Symposium on salt* (1): 369–372.
- Davis, J. S. (2009). Management of Biological Systems for Continuously- Operated Solar Saltworks. *Global Nest Journal*, 11(1): 73–78.
- Davis, J. S., & Giordano, M, 1995, Biological and physical events involved in the origin, effects, and control of

- organic matter in solar saltworks. *International Journal of Salt Lake Research* 4 (4): 335–347.
- Empadinhas, N., & Costa, M. S., 2008, Osmoadaptation mechanisms in prokaryotes: distribution of compatible solutes. *International Microbiology (11)*:151–161.
- Enache, M., Itoh, T., Kamekura, M., Popescu, G., & Dumitru, L., 2006, Halophilic Archaea of Haloferax Genus Isolated from Anthropogenic Telega (Palada) Salt Lake. *Proceedings of the Romanian Academy. Series B, 1(2)*: 11–16.
- Giordano, M., Bargnesi, F., & Ratti, S., 2012, The Presence of the Green Algae *Dunaliella salina* in Crystallizer Ponds of Salinas can Appreciably Affect the Quality of NaCl Crystal. In N. Korovessis, S. Lauret, & W. Lox (Eds.), *International Conference On Biodiversity, Sustainability & Solar Salt* (pp. 2–8). Sevilla.
- González-Hernández, J. C., Cárdenas-Monroy, C. A., & Peña, A., 2004, Sodium and potassium transport in the halophilic yeast *Debaryomyces hansenii*. *Yeast*, 21 (5): 403–412.
- Götzfried, F., & Kondorosy, E., 2009. Recrystallization Process for the Upgrading of Rock And Solar Salts. In *9th International Symposium on Salt* (pp. 1–17).
- Gunde-Cimerman, N., Oren, A., & Plemenitas, A., 2005, *Adaptation to Life at High Salt Concentrations*. N. Gunde-Cimerman, A. Oren, & A. Plemenitas, Eds 9th ed. Springer Heidelberg.
- Indonesia, S. N., & Nasional, B. S. (2017). Garam bahan baku untuk industri garam beryodium.
- Javor, B. J., 2002, Industrial microbiology of solar salt production, *J. of Industrial Microbiology & Biotechnology* 28(1): 42–47.
- Jehlicka, J., Edwards, H. G. M., Osterrothova, K., Novotna, J., Nedbalova, L., Kopecky, J., Oren, A., 2017, Potential and limits of Raman spectroscopy for Carotenoid detection in microorganisms: implications for astrobiology, *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 372(2030): 20140199–20140199.
- Klein, B. C., Walter, C., Lange, H. A., & Buchholz, R., 2012, Microalgae as natural sources for antioxidative compounds, *J. of Applied Phycology* 24(5):1133–1139.
- Klykov, S. P., Skladnev, A. D., & Kurakov, V. V., 2012, A model of energy limitation and population structuring to estimate phototrophic growth of industrially significant *Halobacterium salinarum* strains, *International Research Journal of Biochemistry and Bioinformatics* 2(5): 109–121.
- Kunte, H. J., Trüper, H. G., & Stan-lotter, H., 2004, Halophilic Microorganisms, *Water*, (7): 185–199.
- Kushner, D. J ,1966, Mass Culture of Red Halophilic Bacteria, *Biotechnology and Bioengineering* 245 (8981): 237–245.
- Lopez-Cortes, A., & Ochoa, J, L., 1998, The biological significance of Halobacteria on nucleation and sodium chloride crystal growth, *Surface Science and Catalysis (120)*: 903–923.
- Mani, K., Salgaonkar, B. B., & Braganca, J. M., 2012, Culturable halophilic archaea at the initial and crystallization stages of salt production in a natural solar saltern of Goa , India, *Aquatic Biosystems* 8(15):1–8.
- Mani, K., Salgaonkar, B. B., Das, D., & Bragança, J. M., 2012, Community solar salt production in Goa, India. *Aquatic Biosystems*, 8(1): 30.
- Marihati, Harihastuti, N., Muryati, Nilawati, Eddy, S., & Hermawan, Danny, W., 2014, Penggunaan bakteri Halofilik sebagai biokatalisator untuk meningkatkan kualitas dan produktifitas garam NaCl di meja kristalisasi, *J. Riset Industri*, 8(3): 191–196.
- Marihati, Nilawati, Malik, R. A., & Basir, 2016, Penyediaan isolat dan identifikasi bakteri halofilik dari bittern untuk starter proses pembuatan garam rakyat, Laporan Teknis. Balai Besar Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri. Kementerian Perindustrian. Semarang.

- Naziri, D., Hamidi, M., Hassanzadeh, S., Tarhriz, V., & Zanjani, B. M., 2014, Analysis of Carotenoid production by *Halorubrum* sp . TBZ126; an extremely Halophilic Archeon from Urmia lake. *Advanced Pharmaceutical Bulletin* 4(1): 61–67.
- Nilawati dan Marihati, 2017, Daur ulang limbah cair Ikm garam beryodium di unit pencucian garam bahan baku. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Industri Hijau 2. Peran Teknologi Ramah Lingkungan untuk Mendukung Industri Hijau*. Vol. 1 No. 1, Agustus 2017. ISSN : 2549-9432. Balai Besar Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri. Kemenperin RI.
- Oren, A., 1994, The ecology of the extremely halophilic archaea, *FEMS Microbiology Reviews* 13: 415–439.
- Oren, A., 2010, Thoughts on the “Missing Link” Between Saltworks Biology and Solar Salt Quality, *Global Nest Journal* 12(4): 417–425.
- Roberts, M. F., Galinski, E., Martin, D., Ciulla, R., Roberts, M., Roberts, M., Brown, A. , 2005, Organic compatible solutes of halotolerant and halophilic microorganisms, *Saline Systems* 1(1):5.
- Rocha, R. D. M., Costa, D. F. S., Lucena-filho, M. A., Bezerra, R. M., Medeiros, D. H. M., Azevedo-silva, A. M., Xavier-filho, L., 2012, Brazilian solar saltworks - ancient uses and future possibilities, *Aquatic Biosystems* 8(8):1–6.
- Rodrigo-Baños, M., Garbayo, I., Vílchez, C., Bonete, M. J., & Martínez-Espinosa, R. M., 2015, Carotenoids from Haloarchaea and their potential in biotechnology. *Marine Drugs* 13(9): 5508–5532.
- Schneegurt, M. A., 2012, Advances in understanding the biology of Halophilic microorganisms in *advances in understanding the biology of Halophilic microorganism* (pp. 35–58)
- Sedivy, V. M., 2009, Environmental Balance of Salt Production speaks in favour of Solar Saltworks, *Global NEST Journal* 11(1): 41–48.
- Shivanand, P., & Mugeraya, G., 2011, Halophilic bacteria and their compatible solutes -osmoregulation and potential applications, *Current Science* 100(10): 1516–1521.
- Sundaresan, S., Ponnuchamy, K., & Abdul, R., 2006, Biological management of sambhar lake saltworks (rajasthan, india), *Managing* (October):20–22.
- Ventosa, A., & Oren, A., 2011, *Halophiles and Hypersaline Environments*. (Y. Ma, Ed.). Springer Heidelberg.
- Waditee-Sirisattha, R., Kageyama, H., & Takabe, T., 2016, Halophilic microorganism resources and their applications in industrial and environmental biotechnology, *AIMS Microbiology* 2(1):42–54.
- Yang, Y., Cui, H. L., Zhou, P. J., & Liu, S. J., 2007, *Haloarcula amylolytica* sp. nov., an extremely Halophilic Archaeon isolated from Aibi salt lake in Xin-Jiang, China, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 57(1): 103–106.
- Yatsunami, R., Ando, A., Yang, Y., Takaichi, S., Kohno, M., Matsumura, Y, Nakamura, S., 2014, Identification of carotenoids from the extremely Halophilic Archaeon *Haloarcula Japonica*, *Frontiers in Microbiology* (5): 1–5.
- Yeannes, Miaria, I., Ameztoy, Irene, M., Ramirez, Elida, E., & Felix, Monica, M. (2011). Culture alternative medium for the growth of extreme halophilic bacteria in fish products, *Food Science* 31(3): 561–566.