

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MIKROBA DALAM AIR TANGKI REAKTOR TRIGA MARK II BANDUNG

Lukman Umar, Z. Mukhri, Rosmiarty A.W, Irwansyah
Pusat Penelitian Teknik Nuklir - Badan Tenaga Atom Nasional

ABSTRAK

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MIKROBA DALAM AIR TANGKI REAKTOR TRIGA MARK II BANDUNG. Telah dilakukan isolasi dan identifikasi dari mikroba khususnya bakteri dan jamur yang terdapat dalam air tangki reaktor TRIGA MARK II, PPTN - BATAN, baik pada saat reaktor sedang beroperasi maupun pada saat istirahat (shutdown). Untuk isolasi dan pemeliharaan mikroba digunakan media agar nutrisi (untuk bakteri) dan agar glukosa dari Sabouraud (untuk jamur). Perhitungan populasi mikroba dilakukan berdasarkan metode *Agar Plate Count*. Identifikasi mikroba dilakukan secara sederhana berdasarkan bentuk dan warna koloni (makroskopis), dan secara mikroskopis. Khusus untuk bakteri dilakukan pewarnaan Gram. Hasil isolasi contoh air tangki pada saat reaktor sedang tidak beroperasi (shutdown) selalu memberikan hasil positif dengan jumlah populasi mikroba per ml air dan keanekaragaman jenis mikroba yang relatif rendah. Dari enam kali isolasi mikroba pada air tangki pada saat reaktor beroperasi, dua diantaranya memberikan hasil positif dan selebihnya selalu negatif. Identifikasi terhadap mikroba yang terisolasi menunjukkan bahwa sebagian besar bakteri yang dijumpai pada air tangki adalah dari kelompok gram negatif, berbentuk batang, bentuk koloni bulat, tipis, dan berwarna putih keruh. Jenis jamur yang terisolasi terutama dari kelompok *Penicillium*, *Aspergillus*, dan *Mucor*.

ABSTRACT

ISOLATIONS AND IDENTIFICATIONS OF MICROBES FROM THE REACTOR WATER TANK OF TRIGA MARK II BANDUNG. Isolations and identifications of microbes, especially bacteria and fungi that were found in the reactor tank water (primary water cooling of the reactor) of TRIGA MARK II at PPTN-BATAN has been conducted when the reactor was operating and shuttingdown as well. Nutrition Agar and Sabouraud Glucose Agar, were used to isolate and to grow the microbes. Population of microbes were calculated by using The Agar Plate Count method. Identification of microbes were done with microscopic and macroscopic (based on type and color of colonies) methods. In particular bacteria was determined by Gram staining method. The isolations of water sample from reactor tank during the shuttingdown period, consistently provided positive results which was accompanied by low population/ml of water sample and small variety of microbes type as well. From six consecutive microbe isolations carried out when the reactor was operating, two indicated positive outcomes whereas the rest remained negative. Identification result, showed that most bacteria encountered in the water tank reactor could be grouped into grams-negative bacillary form, the colonies was round in shape and milky in color. The fungi isolated were primarily from the genus of *Penicillium*, *Aspergillus* and *Mucor*.

PENDAHULUAN

Air yang digunakan sebagai pendingin pada Reaktor TRIGA MARK II, PPTN - BATAN, adalah air suling. Air tersebut terdapat pada suatu wadah (tangki reaktor), volume 50.000 liter. Untuk mempertahankan kemurnian air tersebut digunakan pembebas mineral (deminerализer) resin dalam sistem pendingin reaktor. Tujuannya antara lain untuk menghindari proses korosi terhadap komponen reaktor yang terletak di bawah permukaan air.

Pada saat reaktor beroperasi, air tangki didistribusikan melalui pipa-pipa aluminium.

Sebagian air dialirkan ke pipa pendingin dan sebagian lagi ke tabung pembebas mineral setelah melalui filter 10 mikron. Keduanya kemudian secara bersama-sama dialirkan kembali ke dalam tangki reaktor untuk didistribusikan kembali. Pengamatan kualitas fisik (konduktivitas, temperatur, pH), dan kimia (keberadaan logam-logam terlarut dan radionuklida) air tangki, dilakukan secara rutin. Namun sejauh ini pengamatan terhadap keberadaan mikroba pada air tangki tersebut masih jarang dilakukan.

Keberadaan mikroba pada air tangki reaktor, terutama bila populasinya cukup tinggi sangat tidak diharapkan. Karena selain dapat menyebabkan kekeruhan air, dikhawatirkan produk-produk dari mikroba tersebut dapat mempercepat proses korosi yang dapat berakibat fatal bagi keselamatan reaktor.

Mikroba yang masuk ke dalam tangki reaktor kemungkinan dapat berasal dari dua sumber yang berbeda, yaitu yang berasal dari udara dan dari air bebas mineral yang secara rutin ditambahkan ke dalam tangki reaktor. Telah diketahui bahwa pada umumnya mikroba mempunyai fleksibilitas genetik yang tinggi dibandingkan dengan organisme lain. Hal ini memungkinkan baginya untuk bertahan pada kondisi lingkungan yang kurang sesuai bagi pertumbuhan optimumnya. Lambat laun mikroba yang mampu bertahan pada kondisi lingkungan baru tersebut akan dapat berkembang secara normal dan kemungkinan dapat menimbulkan permasalahan baru.

Penelitian ini bertujuan untuk mengamati kemungkinan keberadaan mikroba khususnya bakteri dalam air tangki reaktor, jenis-jenis mikroba yang dapat bertahan pada air tangki reaktor khususnya pada saat reaktor beroperasi, dan mempelajari sifat-sifat biologis mikroba tersebut.

BAHAN DAN TATA KERJA

Bahan-bahan

Untuk isolasi dan pemeliharaan bakteri digunakan media padat yaitu agar kaldu nutrisi (NA). Untuk isolasi jamur digunakan agar glukosa dari Sabouroud (SGA) yang ditambah kloramfenikol untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Untuk pemeliharaan jamur digunakan agar dektrose kentang (PDA) dan SGA. Agar ekstrak ragi (YE), digunakan untuk pemeliharaan ragi. Bahan dan komposisi media tersebut tertera pada Tabel 1.

Bahan-bahan untuk identifikasi/pewarnaan Gram adalah sebagai berikut :

- Kristal violet
- Fuchsin dasar (BDII)
- Safranin O
- Kristal fenol
- Metil biru
- Alkohol 95 %
- Aseton
- Iodium (I)
- KI
- Akuades

Tabel 1. Komposisi media padat yang digunakan untuk isolasi dan pemeliharaan mikroba

| Bahan | Jenis media | | | |
|---------------------------------|-------------|---------|---------|---------|
| | NA | SGA | PDA | YE |
| Bacto beef extract | 3 g | - | - | - |
| Bacto pepton | 5 g | 10 g | - | 15 g |
| Kentang | - | - | 200 g | - |
| Yeast extract | - | - | - | 10 g |
| Dekstrose | - | - | 20 g | - |
| Glukosa | - | 40 g | - | 20 g |
| Bacto agar no. 1 | 15 g | 15 g | 15 g | 15 g |
| NaCl | 5 g | - | - | - |
| KH ₂ PO ₄ | - | - | - | 5 g |
| Akuades | 1000 ml | 1000 ml | 1000 ml | 1000 ml |
| Kloramfenikol | - | 500 g | - | - |

Metode Penelitian

Penelitian ini bersifat diskriptif. Isolasi mikroba dilakukan dari contoh air tangki reaktor yang diambil pada saat reaktor beroperasi, dan pada saat tidak beroperasi (shutdown). Parameter yang diamati adalah jumlah koloni dan jenis mikroba yang terisolasi. Isolasi mikroba juga dilakukan dari bak penampungan air bebas mineral sebelum dimasukkan ke dalam tangki reaktor, dan udara di sekitar tangki reaktor yang diduga merupakan sumber mikroba yang masuk ke dalam air tangki reaktor. Di samping itu dilakukan juga pengamatan terhadap kondisi air tangki reaktor pada saat pengambilan contoh air seperti temperatur permukaan, pH air dan paparan radiasi di sekitar daerah tangki reaktor.

Isolasi dan perhitungan jumlah mikroba dilakukan berdasarkan metode *Agar Plate Count*. Identifikasi mikroba dilakukan secara sederhana berdasarkan bentuk dan warna koloni (makroskopis), dan secara mikroskopis. Khusus untuk bakteri dilakukan berdasarkan pewarnaan Gram.

Tata Kerja.

Pengambilan contoh air

Reaktor TRIGA MARK II, PPTN dioperasikan empat hari dalam satu minggu (hari Rabu s/d Sabtu) dan tiga hari tidak dioperasikan (shutdown). Untuk pengamatan ini pengambilan contoh air tangki reaktor dilakukan satu hari sebelum reaktor beroperasi, dan dua kali pada

saat reaktor beroperasi (yaitu sekitar 6 dan 24 jam setelah reaktor dioperasikan). Setiap kali pengambilan contoh air digunakan empat tabung Erlenmayer suci hama yang berukuran 250 ml, dari empat buah titik di permukaan air tangki reaktor pada kedalaman sekitar 0 - 20 cm. Pengambilan contoh air dari bak penampungan air bebas mineral dilakukan sebelum air tersebut ditambahkan ke dalam tangki reaktor.

Isolasi dan identifikasi mikroba

Sebelum dilakukan isolasi, masing-masing contoh air diencerkan dengan air suling steril sampai dengan pengenceran 10^{-4} . Dari masing-masing pengenceran tersebut diambil 1 ml, dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril. Kemudian ke dalam cawan petri tersebut ditambahkan 15 ml media yang telah disiapkan sebelum media tersebut membeku (temperatur 45 - 50°C). Kemudian cawan petri ditutup dan digoyang perlahan-lahan agar contoh air menyebar merata, kemudian diinkubasikan pada suhu kamar selama 24 - 48 jam.

Untuk mengisolasi mikroba dari udara, media padat yang telah disiapkan dalam cawan petri, diletakkan di sekitar tangki reaktor dan dibiarkan dalam keadaan terbuka selama beberapa saat (15 - 30 menit). Semua pekerjaan ini dilakukan secara aseptik. Mikroba yang tumbuh pada cawan petri setelah masa inkubasi, kemudian dihitung dan dimurnikan. Identifikasi dilakukan secara sederhana/kasar berdasarkan bentuk dan warna koloni (makroskopis), dan secara mikroskopis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengamatan

Hasil isolasi mikroba dari air tangki reaktor baik pada saat reaktor beroperasi maupun dalam keadaan tidak beroperasi disajikan pada Tabel 2.

Pada Tabel 2 tersebut dapat dilihat bahwa isolasi mikroba dari air tangki reaktor pada saat reaktor tidak beroperasi selalu memberikan hasil positif, berarti bahwa pada air tangki reaktor terdapat mikroba (bakteri dan jamur). Sedangkan pada saat reaktor dioperasikan, dari enam kali isolasi, dua di antaranya memberikan hasil positif dan selebihnya negatif. Kedua hasil positif tersebut di peroleh dari contoh air tangki reaktor yang diambil sekitar 6 jam setelah reaktor dioperasikan. Sedangkan 24 jam setelah reaktor beroperasi, hasil isolasi selalu negatif. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada mikroba

Tabel 2. Rata-rata populasi bakteri dan jamur per ml. air tangki reaktor

| No. | Keadaan reaktor ** | Populasi mikroba [@] pada media [*] | | | |
|-------|--------------------|---|---|-----|---|
| | | NA | | SGA | |
| | | B | J | B | J |
| I-1 | tidak beroperasi | 21 | 4 | 5 | 7 |
| I-2 | operasi (6jam) | 14 | 8 | 7 | 6 |
| I-3 | operasi (24 jam) | - | - | - | - |
| II-1 | tidak beroperasi | 34 | 6 | 10 | 7 |
| II-2 | operasi (6jam) | - | - | - | - |
| II-3 | operasi (24 jam) | - | - | - | - |
| III-1 | tidak beroperasi | 19 | 4 | 14 | 8 |
| III-2 | operasi (6jam) | 5 | 6 | 7 | 3 |
| III-3 | operasi (24 jam) | - | - | - | - |

@ B = Bakteri, dan J = jamur

*) NA = agar kaldu nutrisi; SGA = agar glukosa dari Sabouroud.

***) 1 = contoh air diambil tiga hari setelah reaktor tidak dioperasikan (sebelum reaktor dioperasikan kembali)

2 = contoh air diambil setelah 6 jam reaktor dioperasikan

3 = contoh air diambil setelah 24 jam reaktor dioperasikan

yang mampu bertahan hidup pada air tangki reaktor setelah reaktor beroperasi 24 jam atau lebih.

Kondisi kimia fisik air tangki reaktor pada saat pengamatan dilakukan disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata temperatur, pH dan paparan radiasi di sekitar tangki reaktor pada saat pengambilan contoh air.

| Keadaan reaktor | Temperatur ⁽¹⁾ (°C) | pH ⁽²⁾ | Paparan iradiasi ⁽³⁾ mrad/jam |
|------------------|--------------------------------|-------------------|--|
| tidak beroperasi | 27,5 | 5,7 | 0,60 (bg) |
| operasi (6jam) | 41,5 | 6,4 | 80,4 |
| operasi (24 jam) | 42,3 | 6,1 | 90,0 |

(1) rata-rata suhu permukaan air tangki reaktor

(2) rata-rata pH contoh air tangki reaktor

(3) rata-rata paparan radiasi disekitar daerah tangki reaktor; bg = background

Tabel 4 memberikan gambaran tentang kepadatan populasi mikroba yang terisolasi dari udara di sekitar ruang reaktor dan dari bak

Hasil identifikasi secara makroskopis berdasarkan bentuk, warna, dan ukuran koloni, dan juga secara mikroskopis dari mikroba yang

Tabel 4. Jumlah mikroba yang terisolasi dari udara di ruang reaktor dan dari bak penampungan air bebas mineral*

| Objek | Media | | | |
|--------------------------------------|------------|-----------|-----------|------------|
| | NA | | SGA | |
| | bakteri | jamur | bakteri | jamur |
| Udara ** | 80 ± 17 | 32 ± 6 | 53 ± 14 | 47 ± 12 |
| Bak penampungan air bebas mineral*** | 4700 ± 498 | 500 ± 104 | 900 ± 139 | 2400 ± 434 |

*) ± simpangan baku

***) jumlah mikroba dari udara yang terisolasi pada cawan petri Ø 9 cm, (rata-rata dari tiga ulangan)

****) jumlah mikroba per ml air bebas mineral (rata-rata dari 3 ulangan).

penampungan air bebas mineral sebelum ditambahkan ke dalam tangki reaktor, yang diduga merupakan sumber mikroba yang dijumpai pada air tangki reaktor.

terisolasi, dapat dilihat pada Tabel 5.

Hasil pewarnaan Gram dari bakteri-bakteri yang terisolasi dari air tangki reaktor pada saat reaktor beroperasi yang dominan adalah

Tabel 5. Jenis/ciri mikroba yang terisolasi dari berbagai objek yang diamati*

| Jenis/ciri koloni | Objek** | | | |
|-------------------------------|---------|--------|---------|-------|
| | ATR/sd | ATR/op | Aqua DM | Udara |
| J a m u r*** | | | | |
| 1. Piniçillin sp1 | + | + | + | + |
| 2. Piniçillin sp2 | - | - | + | + |
| 3. Aspergillus niger | + | + | + | + |
| 4. Mucor sp. | + | + | + | + |
| 5. Belum teridentifikasi | - | - | +++ | +++ |
| B a k t e r i**** | | | | |
| 1. serupa titik, tipis, putih | + | + | + | + |
| 2. b1/pd/ | + | + | + | + |
| 3. b1/pc/ | + | + | + | + |
| 4. b2/pkr/c | + | - | + | + |
| 5. b2/kk/bn | - | - | + | + |
| 6. tidak beraturan/pkr | - | - | - | + |

(*) + dan - = dijumpai dan tidak dijumpai pada objek yang diamati

+++ = ada tiga jenis mikroba yang belum terdeteksi

(**) ATR/sd dan ATR/op=air tangki reaktor saat reaktor tidak dioperasikan dan saat operasi

(***) Identifikasi dilakukan 7 hari setelah penanaman pada medium SGA

(****) Identifikasi dilakukan 4 hari setelah penanaman pada medium NA

b1 = koloni bulat, Ø < 0,5 mm; b2 = koloni bulat, Ø > 0,5 mm

pd = warna putih, datar; pc = warna putih, cembung; pkr = warna

putih,keruh; kk = warna kekuning-kuningan; bn = bening

Gram negatif berbentuk batang. Sedang bakteri yang terisolasi dari objek yang lain didapatkan bentuk Gram positif maupun negatif dan bentuk batang maupun kokus.

Pembahasan

Keberadaan mikroba pada suatu sistem pendingin yang menggunakan air sebagai pendingin adalah hal yang wajar selama terjadi kontak antara wadah air tersebut dengan lingkungannya, terlebih lagi bila ditunjang oleh kondisi lingkungan mikro yang sesuai bagi pertumbuhan mikroba.

Pada saat reaktor dalam keadaan tidak beroperasi, temperatur dan pH air tangki reaktor (Tabel 3) berada pada kisaran optimum untuk kehidupan beberapa jenis bakteri dan jamur. Dengan demikian bakteri dan jamur dari udara dan dari air bebas mineral (Tabel 4) yang masuk ke dalam tangki reaktor mampu bertahan hidup. Hal ini terbukti dengan hasil isolasi mikroba yang selalu positif pada keadaan tersebut (Tabel 2). Akan tetapi karena air yang digunakan pada tangki reaktor adalah air murni yang selalu dipertahankan kemurniannya, maka keterbatasan nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan selanjutnya dari mikroba yang masuk ke dalam air tangki reaktor merupakan faktor utama yang membatasi perkembangan mikroba tersebut. Hal ini terbukti dengan rendahnya populasi mikroba pada hari ketiga setelah reaktor tidak beroperasi yaitu sekitar 10 - 40 mikroba per ml air tangki (Tabel 2), jika dibandingkan dengan populasi mikroba per ml air bebas mineral yang digunakan untuk menambah air tangki reaktor yang hilang karena penguapan dan yang berasal dari udara di sekitar tangki reaktor (Tabel 4). Juga keanekaragaman jenis mikroba yang dapat hidup di dalamnya sangat rendah (Tabel 5) yaitu 3 spesies jamur (*Penicillium* sp1., *Aspergillus niger*, dan *Mucor* sp.) dan 4 jenis bakteri yang dibedakan berdasarkan morfologi koloninya.

Pada saat reaktor beroperasi, air tangki didistribusikan secara teratur dan berfungsi sebagai pendingin reaktor, kemudian secara berangsur-angsur akan terjadi perubahan kondisi

fisik air tangki. Temperatur air dan paparan radiasi pada permukaan air tangki meningkat (Tabel 3), dan makin ke dalam baik temperatur air maupun paparan radiasi akan makin tinggi lagi. Pada daerah di sekitar teras reaktor, temperatur air diperkirakan antara 50 - 60 °C (Efrison Umar, komunikasi pribadi) dan paparan radiasi dapat mencapai sekitar 6.000 rad per jam (Dudung, A.R., komunikasi pribadi). Kondisi yang demikian bukan saja akan menghambat pertumbuhan mikroba tetapi juga dapat mematikan kehidupan mikroba yang terdapat pada air tangki reaktor. Hal ini terbukti bahwa dari 3 kali isolasi mikroba pada saat reaktor beroperasi (24 jam operasi), tidak satupun yang menunjukkan adanya kehidupan mikroba pada air tangki tersebut. Tetapi hasil isolasi mikroba pada saat reaktor beroperasi 6 jam, masih dijumpai adanya kehidupan mikroba baik bakteri maupun jamur. Hasil yang positif tersebut mungkin berasal dari mikroba yang sudah ada pada air tangki tetapi belum mati pada saat reaktor baru beroperasi selama 6 jam, atau mungkin terjadi karena kontaminasi pada saat pengambilan contoh air, atau pada saat membawa contoh air dari ruang reaktor ke laboratorium.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil-hasil yang diperoleh selama pengamatan ini berlangsung dapat disimpulkan :

- Kehadiran mikroba pada air tangki reaktor sulit untuk di hindarkan.
- Mikroba-mikroba tersebut terutama berasal dari air bebas mineral yang secara rutin ditambahkan ke dalam tangki reaktor untuk mengganti air tangki yang hilang karena penguapan, dan dari udara di sekitar reaktor.
- Sejauh ini kehadiran mikroba pada air tangki reaktor belum sampai pada taraf yang mengkhawatirkan karena di samping perkembangannya sangat lambat (karena keterbatasan nutrisi), juga mikroba-mikroba tersebut akan segera musnah setelah sekitar 24 jam reaktor dioperasikan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Annual Book of ASTM Standards, Part 31 : Water. Am. Soc. For Testing and materials 1916, Race St Philadelphia (1980).
2. Difco, Difco Manual of Dehydrate Culture Media and Reagen for Microbiological and Clinical Laboratory Procedures. Difco Laboratories Incorporated, Detroit (1974).

3. Pelczar, M.J., Reid, R.D., and Chan, E.C.S., Microbiology, Tata, McGraw-Hill Publ.Co.Ltd. New Delhi (1977).
4. Hadioetomo dan R. Siri, Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek, Gramedia, Jakarta (1990).

DISKUSI

M. Darussalam:

1. Apakah inventarisasi mikroba dalam air tangki reaktor ini, nanti akan mengarah hanya kepada 1-2 mikroba yang bersifat merusak, seperti yang korosif terhadap metal atau komponen reaktor sendiri ?
2. Fluktuasi keberadaan mikroba tersebut, apakah akibat pengaruh peningkatan temperatur atau akibat efek paparan radiasi dan sebagainya ?

Lukman Umar :

1. Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk mencari jenis-jenis mikroba yang dapat bertahan hidup pada air tangki reaktor saat reaktor beroperasi kemudian akan diteliti lebih lanjut sifat-sifat biologisnya, apakah mikroba-mikroba tersebut bersifat korosif, atau apakah mikroba tersebut dapat digunakan sebagai bio indikator terhadap efek radiasi.
2. Keduanya (temperatur dan efek radiasi).

Sri Hariani S. :

Untuk penelitian selanjutnya sebaiknya ditekankan pada mikroba yang menyebabkan korosif terutama pada air pendingin reaktor pada saat tidak dioperasikan dan air demineralisasi sebagai penambah. Alasan, karena mikroba ini dapat mengubah pH air pendingin yang akan menyebabkan korosi.

Lukman Umar :

Terimakasih atas saran-sarannya.