

BIOPRESIPITASI URANIL FOSFAT DAN KARAKTERISASI MOLEKULAR BAKTERI POLIFOSFAT TOLERAN URANIUM

Bernadetta Octavia
Program Studi Bioteknologi
Program Pascasarjana Universitas Gadjah mada
Yogyakarta

ABSTRAK

Biopresipitasi uranil fosfat merupakan salah satu mekanisme imobilisasi uranium yang mempunyai prospek untuk dikembangkan sebagai strategi bioremediasi uranium. Bakteri polifosfat toleran uranium mempunyai kemampuan untuk memanfaatkan aktivitas metabolisme polifosfat dalam lingkungan terkontaminasi uranium dengan melakukan hidrolisis cadangan polifosfat intraselular untuk sekuestrasi uranium dalam granula polifosfat sitoplasma. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri polifosfat toleran uranium dari limbah radioaktif cair aktivitas rendah yang dihasilkan oleh PSTA, BATAN, Yogyakarta dan memanfaatkannya dalam pengujian biopresipitasi uranium. Selanjutnya dilakukan karakterisasi molekular yang meliputi analisis sekuen gen 16S rRNA dan *Whole Genome Sequencing*. Skrining untuk menetapkan bakteri yang paling toleran uranium dilakukan dengan medium TGY cair yang mengandung uranium dengan konsentrasi bertingkat 0,4 mM; 0,8 mM; 1 mM; dan 2 mM. Setelah dilakukan pengelompokan isolat bakteri toleran uranium dengan teknik rep-PCR, selanjutnya penetapan bakteri polifosfat dilakukan dengan menumbuhkan secara berseri isolat bakteri toleran uranium dalam medium berturut-turut yaitu *P-uptake*, *P-limited*, dan *P-free*. Isolat bakteri yang bertahan hidup sampai pada medium *P-free* ditetapkan sebagai bakteri polifosfat. Isolat bakteri polifosfat yang mampu mengakumulasi polifosfat terbanyak dipilih untuk pengujian biopresipitasi uranium dengan teknik pelaparan fosfat. Karakterisasi molekular yang meliputi analisis sekuen gen 16S rRNA dan WGS juga dilakukan terhadap isolat bakteri polifosfat toleran uranium sehingga dapat digunakan sebagai *database* untuk kepentingan penelitian selanjutnya. Berdasarkan hasil skrining diperoleh 51 isolat bakteri toleran uranium dan 7 isolat diantaranya merupakan bakteri polifosfat yang diberi kode : A14, A35, A66, A67- I, O21, O27 dan O29. Identifikasi molekular analisis gen 16S rRNA mengungkapkan bahwa isolat bakteri dengan kode A35, A14, A66, O27, O21, dan O29 teridentifikasi sebagai anggota spesies *Bacillus cereus* ATCC14579^T, dan isolat bakteri dengan kode A67- I teridentifikasi sebagai anggota spesies *Acinetobacter radioresistens* DSM6979^T. Isolat bakteri A66 dipilih untuk biopresipitasi uranium. Hasilnya bakteri ini mengakumulasi fosfat 8 kali lebih banyak dan juga mengambil uranium 1,3 kali lebih banyak dari pada *B. cereus* A66 yang tidak mengalami pelaparan fosfat. Hasil WGS antara lain menunjukkan keberadaan gen *ppk* dan *ppx* yang mengindikasikan sebagai satu operon polifosfat. Strategi pelaparan fosfat ini diharapkan dapat diperbaiki dan dikembangkan untuk bioremediasi uranium.

Kata kunci : bakteri polifosfat toleran uranium , biopresipitasi uranium, gen *ppk* dan *ppx*

Bioprecipitation of Uranyl Phosphate and Molecular Characterisation of Uranium-tolerant Polyphosphate Bacteria

Bernadetta Octavia
Biotechnology Study Program
Postgraduate Program of Gadjah Mada University
Yogyakarta

ABSTRACT

Contamination of groundwater, soil and sediment by uranium is ongoing and threatening environmental problem (Spear *et al.*, 1999; Anderson *et al.*, 2003; Borch *et al.*, 2010). Bacteria found in nature play a role in immobilising radionuclides (uranium) and heavy metals through bioreduction, bioaccumulation, biosorption or bioprecipitation (Sivaswamy, 2011; Newsome *et al.*, 2014; Acharya, 2015). Among the mechanisms of immobilisation of radionuclides (uranium) by bacteria, the enzymatic uranium bioprecipitation as uranyl fosfat has advantages because uranium speciation in the form of uranyl fosfat is very insoluble and stable in a broad pH range (Mackaskie *et al.*, 1992; Newsome *et al.*, 2014). The aims of this study are to obtain uranium-tolerant polyphosphate bacteria isolates from low-activity liquid radioactive waste produced by PSTA, BATAN, Yogyakarta and to use them in uranium bioprecipitation . Molecular characterisation was carried out by sequencing the 16S rRNA genes and the whole genome. Screening to determine the most uranium-tolerant bacteria was carried out with liquid TGY medium containing uranium with a concentration of 0.4 mM; 0.8 mM; 1 mM; and 2 mM. Following grouping isolates of uranium tolerant bacteria with the rep-PCR method, the determination of polyphosphate bacteria was carried out by serially growing isolates of uranium-tolerant bacteria in successive phosphate media. Bacterial isolates able to survive in P-free medium were selected as polyphosphate bacteria. The polyphosphate bacterial isolate able to accumulate the most polyphosphates was used in uranium bioprecipitation. Molecular characterisation of the 16S rRNA genes and the whole genome was performed on isolates of uranium-tolerant polyphosphate bacteria. Following isolation and screening, 7 isolates of polyphosphate bacteria were obtained among 51 isolates of 2 mM uranium-tolerant bacteria. The isolates were A14, A35, A66, A67-I, O21, O27 and O29. They were known to be similar to *Bacillus cereus* ATCC14579^T, whereas bacterial isolate A67-I demonstrated similarities with *Acinetobacter radioresistens* DSM6979^T. The isolate of A66 bacteria were selected as bacteria for uranium bioprecipitation by carrying out phosphate starvation. As a result, these bacteria accumulate 8 times more phosphate and also take 1.3 times more uranium than *B. cereus* A66 which did not experience phosphate starvation. Whole genome analysis indicated the presence of the *ppk* and *ppx* genes that play a role in polyphosphate metabolism and indicated found in one polyphosphate operon. The strategy for phosphate starvation is expected to be improved and developed for uranium bioremediation.

Keywords : uranium -tolerant polyphosphate bacteria, uranium bioprecipitation, *ppk* and *ppx* genes