

BIODEGRADASI SIFAT TOKSIK LOGAM BERAT KROM DALAM LIMBAH CAIR INDUSTRI

Oleh :

Nahadi, Hernani, Fitri Khoirunnisa

Jurusan Pendidikan Kimia
FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian degradasi sifat toksik logam berat krom oleh bakteri melalui rekasi enzimatik yang mengubah krom(VI) toksik menjadi krom(III) yang kurang toksik. Penelitian dilakukan dengan memvariasikan pengaruh beberapa parameter terhadap reaksi enzimatik ini yaitu; jumlah bakteri, tingkat keasaman dan konsentrasi krom(VI).

Untuk menentukan konsentrasi krom(VI) yang tereduksi menjadi krom(III) digunakan teknik spektrofotometri UV-Vis. Jumlah krom(VI) yang tereduksi menjadi krom(III) ditentukan dengan menghitung selisih antara jumlah krom(VI) sebelum dan sesudah proses transformasi.

Hasil analisis menunjukkan bahwa efektivitas transformasi krom(VI) menjadi krom(III) dipengaruhi oleh parameter-parameter di atas. Transformasi krom(VI) menjadi krom(III) sangat dipengaruhi oleh pH larutan. Kondisi keasaman optimum untuk terjadinya transformasi krom(VI) menjadi krom(III) adalah pada $\text{pH} = 7$. Proses transformasi ini meningkat secara linear sebagai fungsi konsentrasi awal, dengan konsentrasi maksimum 30 ppm. Transformasi ini juga berlangsung efektif pada jumlah bakteri satu ose. Tingkat transformasi pada kondisi optimum mencapai 88,4%

Kata Kunci; *Biodegradasi, krom, limbah cair*

PENDAHULUAN

Diantara berbagai limbah industri yang dapat menyebabkan pencemaran sangat berbahaya adalah logam berat. Pencemaran logam berat seperti timbal, krom, kadmium, raksa dan arsen umumnya disebabkan oleh beberapa industri yang dalam proses produksinya menggunakan bahan-bahan yang mengandung logam berat tersebut (Haryadi, 1996).

Krom adalah merupakan salah satu bahan pencemar logam berat yang berbahaya di alam. Meskipun belum banyak peristiwa berskala besar yang diakibatkan oleh pencemaran krom, hal ini bukan berarti bebas permasalahan. Banyak kasus keracunan krom secara insidental yang cukup berbahaya bagi manusia, yakni mengakibatkan kanker paru-paru, luka bernanah yang kronis dan merusak selaput tipis hidung (Klaasen dkk, 1986).

Sumber pencemaran krom di lingkungan dapat dilacak dari air buangan industri-industri pelapisan krom, pabrik tekstil, pabrik cat, penyamakan kulit, pabrik tinta dan pengilangan minyak. Hal tersebut berasal dari natrium kromat dan natrium dikromat yang merupakan spesies krom(VI) bersifat toksik sebagai bahan pokok untuk memproduksi bahan kimia krom, seperti bahan pewarna krom, garam-garam krom yang dipergunakan penyamakan kulit, pengawetan kayu, bahan anti korosif pada peralatan otomotif, ketel dan pengeboran minyak. Keterangan ini menunjukkan perlu adanya upaya mengurangi sifat toksisitas krom(VI) tersebut dengan cara mengadsorpsi atau mendegradasinya.

Beberapa literatur hasil penelitian menunjukkan bahwa sifat toksik logam berat krom(VI) jauh lebih toksik dibandingkan krom(III). Dalam SK Menteri Negara LH yang bernomor Kep 03/MENKLH//11/1991 disebutkan bahwa kadar maksimum krom total yang diperbolehkan dalam perairan adalah 0,1 ppm sedang kadar krom(VI) 0,05 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa dalam jumlah yang lebih sedikit keberadaan krom(VI) telah dapat menyebabkan masalah bagi lingkungan.

Bakteri perairan air tawar khususnya *Escherichia coli* dan *Pseudomonas* dalam keadaan tertentu dapat melakukan reaksi enzimatik yang dapat mengkatalisis terjadinya transformasi krom(VI) yang bersifat toksik menjadi krom(III) yang kurang toksik (Shen dan Wang, 1993, Ishibashi, 1990). Berdasarkan hal tersebut, dalam tulisan ini dikaji pengaruh mikroorganisme khususnya bakteri *eschericia coli* dalam mengurangi sifat toksik krom(VI) melalui mekanisme transformasi atau perubahan krom(VI) menjadi krom(III).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah berbagai alat gelas laboratorium, seperangkat alat Spektrofotometer UV-Vis buatan Shimadzu UV-1601, Incubator shaker buatan Lab-line Instruments Inc, Autoclave buatan ST 19, Oven buatan Heraeus, Inokulator buatan Gelman Sciences, Sentrifugator buatan Heraeus, pH-meter buatan TOA model HM-5B, Lemari kultur bakteri, Botol sampel, Mikropipet, Pengaduk magnet, Ruang dingin, Neraca analitis buatan Mettler model AE 200, Stopwatch, Kawat Ose dan lampu spiritus. Sedangkan bahan yang digunakan meliputi; Kalium bikromat buatan Merck, Limbah cair yang mengandung krom(VI), 1,5-difenilkarbasid buatan Merck, Natrium Hidroksida buatan Merck, Asam Sulfat 98 % buatan Merck, Aseton buatan Merck, Buffer pH 4,0 : 7,0 dan 9,2 buatan Merck, Bakteri *Escherichia Coli*, Media *nutrien broth*, Aquades dan aquabides buatan Lab Kimia Analitik, Kapas, plastik, Alkohol 70%, spiritus bakar

Prosedur Penelitian

Sampel diperlakukan agar sesuai dengan kondisi pertumbuhan bakteri sehingga terjadi biodegradasi. Kultur murni dari bakteri *Escherichia coli* yang ditanam dalam media agar miring, diperbanyak dengan menanam dalam *nutrient broth* selama 48 jam. Selanjutnya disentrifugasi untuk mendapatkan ekstrak bakteri. Ekstrak bakteri kemudian ditimbang sebanyak 100 mg dalam ruang steril dan dilarutkan dalam aquabides yang telah disterilkan untuk memperoleh larutan ekstrak bakteri sebanyak 10 mL. Selanjutnya larutan ekstrak

bakteri diambil sebanyak jumlah yang divariasikan (0,5 ose, 1 ose, 1,5 ose, 2 ose) dan di tanam dalam media *nutrient broth* yang mengandung spesies krom(VI) sesuai dengan kondisi optimum. Perlakuan dibuat secara berulang-ulang dalam erlenmeyer ukuran 250 mL. Selanjutnya ditutup dengan kapas dan plastik untuk mencegah kontaminasi dari bakteri atau mikroorganisme yang lain kemudian diinkubasikan dalam inkubator pada suhu yang sesuai. Selanjutnya sampel diambil sebanyak masing-masing 10 ml pada setiap fase-fase pertumbuhan bakteri. Dari setiap fase sampel yang diambil kemudian dikomplekskan dengan difenil karbasid yang selanjutnya dilakukan analisis krom(VI) yang ada dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Cara yang sama juga dilakukan di dalam menentukan konsentrasi dan pH optimum.

Prosedur Pengumpulan Data

1. Data penelitian untuk penentuan kondisi optimum pertumbuhan bakteri diperoleh dari hasil pengukuran turbiditas dalam satuan Nefelometri Turbidi Unit (NTU).
2. Penentuan kondisi optimum perubahan Krom(VI) menjadi Krom(III) diperoleh dari pengukuran konsentrasinya menggunakan instrumen UV-Vis.
3. Penentuan randemen keberhasilan diperoleh dari data persentase perubahan Krom(VI) menjadi Krom(III).

Teknik Analisis Data

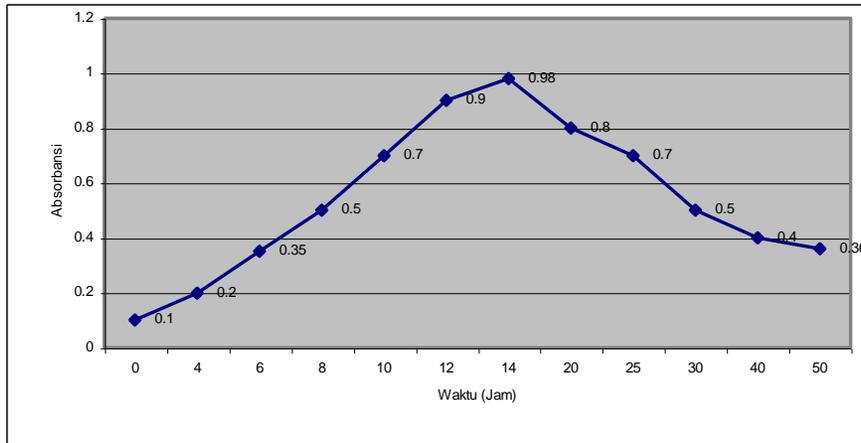
Untuk setiap penentuan kondisi optimum, minimal dilakukan replikasi sebanyak tiga kali. Dari data tersebut ditentukan rata-rata serta data yang secara signifikan tidak berbeda jauh satu sama lain. Untuk penentuan randemen keberhasilan ditentukan persentase rata-rata perubahan Krom(VI) menjadi Krom(III).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Untuk melihat pengaruh bakteri terhadap degradasi krom(VI), bakteri ditumbuhkan dalam media *nutrient broth* selama 48 jam sesuai dengan kondisi optimumnya, baru kemudian dikontakkan dengan larutan yang mengandung krom(VI) pada berbagai kondisi.

Optimasi Kondisi Pertumbuhan Bakteri

Bakteri adalah mikroorganisme yang tumbuh pada kondisi khusus. Kekhususan pertumbuhan bakteri ini antara lain dipengaruhi oleh suhu, tingkat keasaman dan jumlah nutrient. Dalam penelitian ini sebelum dilakukan pengontakan dengan larutan yang mengandung krom terlebih dahulu dicari kondisi optimum pertumbuhan bakteri. Hal ini dilakukan agar kondisi degradasi menjadi lebih optimum. Prosedur penentuan kondisi optimum pertumbuhan bakteri dilakukan dengan memvariasikan sejumlah suhu, tingkat keasaman dan jumlah nutrient yang digunakan. Hasil penelitian dalam upaya mencari kondisi optimum pertumbuhan bakteri untuk tingkat keasaman, suhu dan jumlah nutrient disajikan dalam gambar 1.

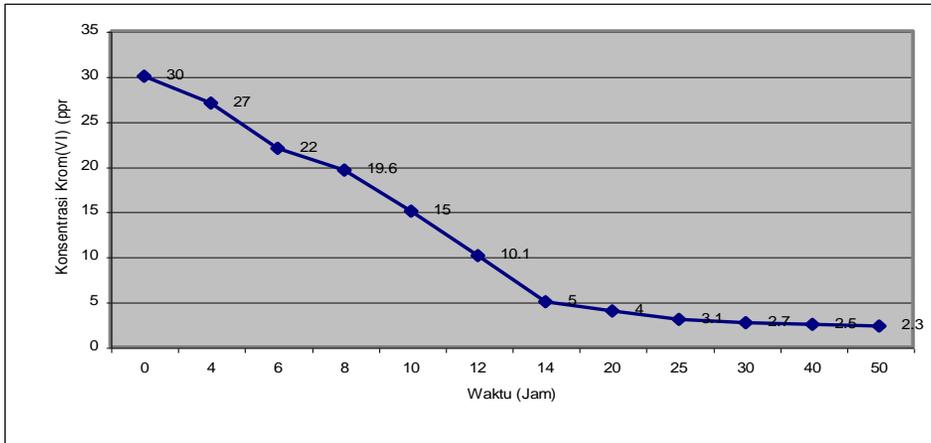


Gambar 1. Kurva Pertumbuhan Bakteri Pada Kondisi Optimum

Kondisi optimum di atas diperoleh pada suhu 28°C, pH= 7 dan jumlah nutrient sebanyak 0,28 gram untuk 1 ose bakteri. Dari gambar 1 tampak bahwa dalam kondisi optimum sebagaimana juga pada kondisi lainnya, pertumbuhan bakteri mengalami beberapa tahapan sebagaimana biasanya. Pertumbuhan awal bakteri adalah masa adaptasi yang ditandai dengan pertumbuhan lambat (lag phase) ini diperoleh pada jam ke 1 sampai ke 4. Setelah itu bakteri terus tumbuh dengan cepat (log phase) yang mencapai puncaknya pada jam ke 14. Pertumbuhan cepat ini lalu diikuti dengan penurunan jumlah bakteri (death phase) pada jam ke 15 sampai 24 yang terus diikuti sampai akhirnya mencapai titik tetap (stasioner phase) pada setelah jam ke 48. Kondisi optimum ini kemudian dijadikan acuan dalam proses biodegradasi krom.

Optimasi Biodegradasi Krom pada Limbah Model

Agar diperoleh kondisi optimum bagi proses biodegradasi krom(VI) menjadi krom(III), maka dilakukan proses optimasi. Kondisi yang dioptimalkan adalah pengaruh konsentrasi krom (VI), tingkat keasaman dan jumlah bakteri. Dari hasil optimasi diperoleh hasil sebagaimana gambar dibawah ini;

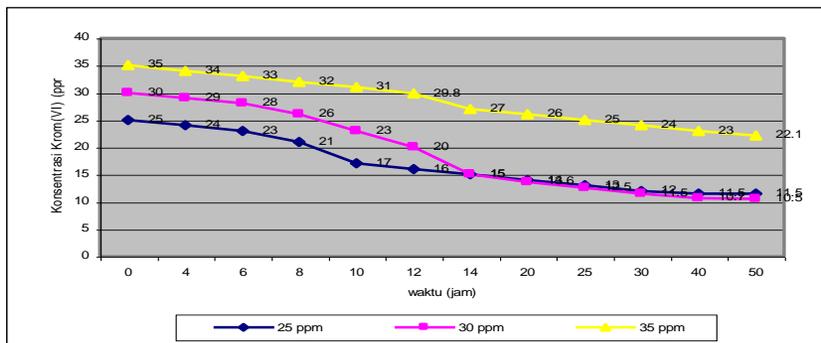


Gambar 2. Kondisi Optimum Biodegradasi Krom(VI) pada Limbah Model

Dari gambar 2 terlihat bahwa penurunan konsentrasi krom(VI) semakin bertambah dengan bertambahnya waktu. Kondisi optimum ini terjadi pada pH=7, jumlah bakteri 1 ose dan konsentrasi 30 ppm. Penurunan jumlah krom(VI) secara maksimal terjadi pada phase pertumbuhan cepat (log phase) dan akhirnya penurunan ini tidak lagi signifikan setelah 14 jam karena jumlah bakteri banyak yang mengalami kematian.

Biodegradasi Krom(VI) Toksik menjadi Krom(III) pada Limbah Cair

Untuk mengetahui sejauhmana tingkat degradasi atau pengubahan krom(VI) menjadi krom(III), maka dilakukan berbagai variasi konsentrasi limbah cair pada kondisi optimum. Hasil penelitian digambarkan sebagai berikut;



Gambar 3 Hubungan waktu dan tingkat degradasi krom(VI)

Dari hasil penelitian seperti disajikan pada gambar 3, terlihat bahwa dari segi interval waktu, untuk hampir semua konsentrasi pada fase awal penurunan krom(VI) relatif sangat sedikit. Hal ini disebabkan karena bakteri yang ditanam atau dikontakkan dalam suatu media, sebelum mengalami perkembangan sel, harus menyesuaikan dengan medianya. Tahap penyesuaian ini perkembangannya relatif sama, karena semua bakteri dikontakkan dalam media yang sama.

Dalam penelitian terdahulu tentang reduksi krom(VI) oleh bakteri *Escherichia coli*, baik yang dilakukan Shen dan Wing (1993), Ishibashi (1990), Baldi (1989) Lovley (1995) dan Llovera (1993) dinyatakan bahwa pada fase awal bakteri tidak banyak berbuat terhadap kultur yang ditempatinya. Bakteri tersebut harus melakukan adaptasi terhadap lingkungan yang baru. Pada kondisi tertentu jika kondisinya tidak melewati ambang batas maka secara perlahan tapi pasti bakteri tersebut akan tumbuh dan berkembang biak. Namun jika pada fase awal ini bakteri tidak mampu beradaptasi kemungkinan kematian akan dialaminya.

Untuk fase pertumbuhan cepat masing-masing larutan menampakkan hasil yang agak berbeda. Meskipun demikian secara umum terlihat bahwa pada fase ini hampir semua variasi menunjukkan gejala yang sama yaitu jumlah krom(VI) yang menurun cukup banyak. Dalam fase ini terjadi reduksi krom(VI) lebih banyak daripada fase awal, hal ini disebabkan karena pada fase pertumbuhan cepat terjadi peningkatan jumlah sel bakteri yang sangat tinggi, sehingga enzim spesifik untuk mereduksi krom(VI) juga semakin banyak.

Untuk fase pertumbuhan lambat, masih terdapat penurunan jumlah krom(VI) meskipun tidak sebanyak pada fase pertumbuhan cepat. Hal ini disebabkan karena pada fase ini jumlah bakteri tidak bertambah lagi bahkan sudah mulai berkurang yang antara lain disebabkan karena mulai banyak bakteri yang mati. Hal ini juga sekaligus menjelaskan pada kondisi fase kematian di mana berkurangnya krom(VI) sangat sedikit.

Dari segi konsentrasi terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi krom(VI) yang dikontakkan dengan bakteri, semakin banyak pula krom(VI) yang direduksi oleh bakteri. Hubungan linear ini tidak berlaku, ketika memasuki konsentrasi 35 ppm. Pada konsentrasi ini, meskipun berada di fase pertumbuhan cepat kemampuan bakteri untuk mengubah krom(VI) tidak sebanyak seperti pada konsentrasi yang ada di bawahnya. Hal ini disebabkan karena kemampuan bakteri untuk beradaptasi dan berkembang dengan krom(VI) pada konsentrasi yang ada tidak mampu lagi. Ketidakmampuan ini dapat disebabkan baik karena kurangnya nutrisi, oksigen atau sifat toksik dari krom(VI) ambang batasnya sudah terlampaui. Hal ini sesuai dengan yang dipaparkan Manahan (1984), di mana terjadinya pertumbuhan bakteri sangat ditentukan oleh nutrisi, senyawa yang bersifat toksik atau kurangnya oksigen.

Sebagaimana yang dipaparkan Manahan, banyak ahli lain juga telah menjelaskan tentang proses yang terjadi ketika bakteri mengalami kontak dengan toksikan.

Gadd (1990), memaparkan bahwa bakteri dalam menanggapi kondisi lingkungan yang toksik seperti adanya ion-ion logam akan melakukan mekanisme pertahanan diri atau detoksifikasi agar tetap bertahan hidup. Mekanisme tersebut garis besarnya berupa pencegahan masuknya ion logam, mengeluarkan kembali ion logam serta mengasingkan

ion logam yang masuk ke dalam sel. Hal ini dapat dilakukan baik dengan sintesis protein (protein stress) atau pembentukan ekstrapolimer yang dapat mengikat ion logam tersebut.

Hochachka dan Somero (1973) menyatakan bahwa kondisi lingkungan yang toksik dapat mendorong bakteri untuk menyesuaikan kecepatan dan arah rangkaian reaksi metaboliknya. Pada dasarnya metabolisme tersebut berlangsung untuk menjamin berlangsungnya proses-proses penting dalam lingkungan yang toksik. Proses pengendalian metabolik itu dapat berupa peningkatan atau penurunan jumlah enzim, perubahan jenis enzim yang bekerja serta pengendalian fungsi enzim normal yang bekerja. Dalam hal ini Gadd (1990) menyatakan bahwa mikroorganisme akan merubah pola transkripsi gen dengan menurunkan sintesis protein normal dan mensintesis protein spesifik yang disebut protein stres (*heat shock protein*). Sintesis protein ini merupakan mekanisme yang dilakukan oleh mikroorganisme untuk mempertahankan diri pada lingkungan di luar kondisi persyaratan tumbuhnya. Sintesis protein stres ini diinduksi karena adanya logam-logam berat, infeksi virus, alkohol, fenol dan senyawa toksik lain yang menyebabkan kerusakan sel.

Bakteri dalam melakukan proses detoksifikasi lain dapat dengan pembentukan ekstrapolimer yang dapat mengikat logam, mengendapkan logam atau transformasi logam menjadi bentuk yang tidak toksik. Mekanisme detoksifikasi bakteriterhadap ion-ion logam berat (terutama berkonsentrasi tinggi) dengan cara pengikatan pada permukaan sel kemudian dilanjutkan dengan transfer logam ke ruang periplasmik dan diteruskan ke sitoplasma melalui transfer logam ke ruang periplasmik dan diteruskan ke sitoplasma melalui transfer aktif nonspesifik (Stranberg, 1981).

Pengikatan logam oleh bakteri ini melibatkan ikatan elektrostatik dari ion-ion logam bermuatan positif yang terikat pada sisi reaktif bermuatan negatif polimer ekstraseluler seperti RCOO^- dan PO_4^{3-} pada permukaan sel.

Shen dan Wang (1993) menyatakan bahwa proses reduksi krom(VI) yang lebih toksik menjadi krom(III) yang kurang toksik oleh bakteri merupakan sebuah proses detoksifikasi sebagai kemampuan untuk dapat bertahan hidup. Dalam hal ini Ishibashi (1990) menyatakan bahwa reduksi krom(VI) pada kondisi aerobik secara umum melibatkan adanya fraksi protein terlarut (enzim) di dalam bakteri tersebut sedangkan reduksi krom(VI) pada kondisi anaerobik terjadi karena adanya aktivitas dinding sel/membran sel. Shen dan Wang (1993) menambahkan bahwa reduksi krom (VI) oleh bakteri dapat terjadi dalam dua kondisi berbeda yakni kondisi aerobik dan anaerobik.

Menurut Ishibashi (1990) proses detoksifikasi bakteri *Escherichia coli* terhadap larutan krom(VI) dapat terjadi secara aerobik maupun secara anaerobik, namun demikian reduksi krom(VI) tersebut lebih dominan pada kondisi aerobik. Lingkungan yang mengandung ion logam krom(VI) membuat bakteri *Escherichia coli* secara aerobik mensintesis fraksi protein spesifik yakni enzim *Chromate reductase* untuk mempertahankan diri (Ishibashi :1990 dan Gadd:1990).

Aktivitas enzim *Chromate reductase* selalu memerlukan NADH (*Nicotinamide adenine dinucleotide hydrogen*) atau NADPH (*Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrogen*) yang digunakan sebagai donor elektron (Shen dan Wang; 1990).

NADH dan NADPH merupakan dua koenzim penting yang terdapat dalam sel, karena muatan positif yang terdapat pada atom nitrogen pada cincin piridin menjadikan NADH dan NADPH memberikan elektron dan teroksidasi menjadi NAD^+ dan NADP^+ . Reaksi oksidasi-reduksi tersebut ditulis sebagai berikut;



Ditambahkan oleh Shen dan Wang (1993), bahwa fungsi fisiologis elektron yang menuju krom(VI) akan diteruskan oleh aktivitas enzim *Chromate reductase*. Jika elektron tidak dapat diteruskan maka akan dilakukan respirasi bakteri yang memanfaatkan senyawa anorganik seperti O_2 , NO_2 , NO_3^- , SO_4^{2-} , Fe(III) dan Mn(IV) sebagai terminal akseptor elektron. Reduksi krom(VI) oleh bakteri *Escherichia Colli* mencapai aktivitas maksimum dengan menambahkan NADH atau NADPH dari luar sel bakteri. Reduksi krom(VI) pada kondisi ini tidak terhambat oleh aksi anion seperti SO_4^{2-} , MnO_4^{2-} , VO_4^{2-} dan NO_3^- serta ion logam krom(III). Ishibashi (1990) menyatakan bahwa aktivitas enzim Chromate reductase sangat labil terhadap panas yakni dengan pemanasan pada suhu 50°C selama 10 menit akan menurunkan aktivitas 40-50 % dari aktivitas semula. Sedangkan pH optimum terjadi pada pH 6,5-7,5.

KESIMPULAN

1. Transformasi krom(VI) menjadi krom(III) oleh bakteri *Escherichia coli* dapat dipengaruhi oleh variabel konsentrasi, pH dan jumlah bakteri.
2. Konsentrasi krom(VI) optimum dalam transformasi krom(VI) menjadi krom(III) oleh bakteri *Escherichia coli* adalah 30 ppm dan transformasi mencapai optimum pada pH 7 serta jumlah bakteri 1 ose.
3. Jumlah bakteri yang mentransformasi krom(VI) menjadi krom(III) menunjukkan hubungan yang linear dengan jumlah krom (VI) yang tereduksi.
4. Transformasi krom(VI) menjadi krom(III) pada berbagai kondisi optimum oleh bakteri *Escherichia coli* paling baik terjadi pada fase pertumbuhan cepat dalam pertumbuhan bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Baldi F., 1990, "Chromium (VI)-Resistant Yeast Isolated from a Sewage Treatment Plant Receiving Tannery Wastes", *Applied and Environmental Microbiology*, 60, 726-728.
- Gadd, G.M., 1990, "Metal Tolerance, in Microbiology of Extreme Environments",
- Edwards, C., ed, Open University Press, Milton Keynes, pp, 178-210.
- Haryadi, 1996, "Heavy Metal Content in Industrial Wastes in Indonesia, in Symposium and Workshop on Heavy Metal Bioaccumulation", IUC Biotechnology, Gadjah Mada University, Yogyakarta, September 15-20.

- Hochachka and Somero, 1973, "Elements of Microbiology", McGraw-Hill Book Company, New York.
- Ishibashi, Y., 1990, "Chromium reduction in *Pseudomonas putida*", *Applied and Environmental Microbiology J.*, 2268-2270.
- Klassen, C.D. Amdus, M.O. and Doull, J., 1986, "Toxicology, the Basic Science of Poison", 3th ed., McMillan, New York.
- Llovera, S., 1993, "Chromium Reduction by Resting Cells of *Agrobacterium radiobacter* EPS-916", *Applied Environmental Microbiology J.* 1993, 3516-3518.
- Lovley, D.R., 1995, "Reduction of Chromate by *Desulfovibrio vulgaris* and Its C₃ Cytochrome", *Applied and Environ. Microbiology*, 60, 726-728.
- Manahan, S.E., 1984, "Environmental Chemistry", 6th ed., Lewis Tokyo.
- Saragih, 2000, "Pemanfaatan Sumberdaya Alam (Hayati) Dalam Pandangan Developmentalis dan Environmentalis", Seminar on NRA Environmental Economics, Organized by PPLH-UGM in Collaboration with CEPI, PPLH-UGM.
- Shen, and Wang, Y., 1993 "Characterization of Enzymatic Reduction of Hexavalent chromium by *E. Coli*", *Applied Environmental Microbiology* Nov. 1993, 3771-3777.
- Stranberg, 1981, "Allgemeine Mikrobiologie", by George Thieme Verlag, Rudigerstr, Gottingen.