

POTENSI MIKROORGANISME SEBAGAI AGEN BIOREMEDIASI DALAM MENURUNKAN KADAR Cr (vi) DALAM LIMBAH CAIR TEKSTIL HASIL PEWARNAAN

Umi Fatmawati¹⁾, Sajidan¹⁾, Suranto²⁾

¹⁾Jurusan Pendidikan Biologi FKIP UNS

²⁾Program Studi Biosains Pascasarjana UNS

Email: umifatmawati84@yahoo.com

ABSTRACT

Hexavalent chrom (Cr(VI)) is recognized as toxic heavy metal, produced from textile printing manufacture. Negatif effect of Cr(VI) should be reduced towards biotic environment, so it is important to reduce Cr(VI) become Cr(III) which little hazard. *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Klebsiella pneumonia*, *Pantoea sp* and *Saccharomyces cerevisiae*. They are including as resistant Cr(VI) microorganism and they have ability to reduce Cr(VI). The aim of the research is to know the ability of microorganism in reducing Cr(VI) and knowing protein band pattern between Cr(VI) resistant microorganism and microorganism which is inoculated on LB broth without Cr(VI). Electrophoresis SDS-PAGE is the method which is used to indentified protein expression. While, for knowing concentration Cr(VI) in liquid medium is used by 1,5 difenilkarbazid method. The quantitative data is obtained being analyzed by ANAVA two factorial continued with Duncan test at 1% level test. The qualitative data include protein expression analyzed by Relative mobility (Rf) and for knowing molecular weight of protein is used protein marker. The qualitative data had been analyzed by descriptive qualitative method.

The result of the research shows that in Cr(VI) concentration after being treat by the microorganisms at the initial concentration 0, 5ppm, 1 ppm, 5 ppm and 10 ppm and compared the reduce Cr(VI) capability from the average percentage data each microorganism are: *P. putida* (65%) > *S. cerevisiae* (64,45%) > *P. aeruginosa* (60,73%) > *Pantoea sp* (50,22%) > *K. pneumonia* (47,82%) > without microorganism (34,25%). The adding microorganisms have influence toward reduction of Cr(VI).

Key word: Cr heavy metal, microorganism, protein, electrophoresis

PENDAHULUAN

Karakteristik limbah cair industri tekstil terbagi ke dalam dua klasifikasi yaitu: (1) fisik, yang meliputi warna, bau, zat padat dan suhu, (2) kimia, yang meliputi zat organik, anorganik dan gas. Ditinjau dari proses produksinya, industri tekstil menghasilkan limbah cair dengan volume yang cukup besar. Karakteristik limbah cair tersebut adalah berwarna keruh, berbusa, pH tinggi, berwarna, konsentrasi BOD tinggi, terdapat kandungan lemak alkali, serta terdapat bahan-bahan lain dari zat warna dan kandungan logam di dalamnya (Siregar, 2005).

Industri tekstil pada umumnya mengeluarkan limbah berupa limbah padat atau limbah cair. Senyawa yang terdapat dalam limbah cair industri tekstil biasanya ada yang merupakan senyawa berbahaya dan tidak berbahaya. Senyawa



yang berbahaya bagi kehidupan adalah senyawa yang bersifat toksik. Contoh senyawa yang dikeluarkan oleh industri tekstil adalah logam berat, diantaranya adalah Cr, Ni, Cu, Mn, Pb. Logam Cr merupakan kandungan tertinggi dalam pembuatan bahan pewarna tekstil yang sulit didegradasi jika dibuang ke lingkungan. (Mahida, 1984).

Krom (Cr) sebagai salah satu logam berat berpotensi sebagai pencemar akibat kegiatan pewarnaan kain pada industri tekstil, cat, penyamakan kulit, pelapisan logam, baterai atau industri krom (Ackerley, *et.al*: 2004). Melalui rantai makanan krom dapat terdeposit dalam bagian tubuh mahluk hidup yang pada suatu ukuran tertentu dapat menyebabkan racun (Mulyani, 2004). Umumnya krom di alam berada pada valensi 3 (Cr^{3+}) dan valensi 6 (Cr^{6+}). Cr^{6+} bersifat toksik dibandingkan dengan Cr^{3+} . Toksisitas Cr^{6+} diakibatkan karena sifatnya yang berdaya larut dan mobilitas tinggi di lingkungan (Palar, 1994; Rahman, *et.al*: 2007; Uprati, *et.al*: 2003; Lowe, *et.al*: 2002). Apabila masuk ke dalam sel, dapat menyebabkan kerusakan struktur DNA hingga terjadi mutasi (Larashati, 2004).

Beberapa jenis mikroorganisme *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Pantoea sp* dan *Saccharomyces cerevisiae* merupakan mikroorganisme yang resisten terhadap kontaminasi logam berat dan mempunyai kemampuan untuk mereduksi Cr(VI) menjadi Cr(III). Penelitian oleh Krauter (2002) menyimpulkan bahwa *S. cerevisiae* mampu mereduksi Cr(VI) sebesar 100% dari konsentrasi awal 1,89 ppm pada pH optimum 6,5-7. Sedangkan dalam suasana asam (pH=2,1), jasad *S. cerevisiae* yang mati juga masih dapat menurunkan kadar Cr(VI) sebesar 70%. Oleh Jianlong, *et. al* (2003) menguji tingkat toleransi *S. cerevisiae* pada konsentrasi Cr (VI) 5 μM tidak mempengaruhi pertumbuhan mikrobia, sedangkan pada konsentrasi Cr (VI) 15 μM pertumbuhan mikrobia terhambat sebesar 30%.

Menurut Ganguli & Tripathi (2004) melaporkan bahwa bakteri *P. aeruginosa* mampu mereduksi Cr (VI) sebesar 96% dari konsentrasi awal Cr (VI) sebesar 10 ppm, namun bakteri *P. aeruginosa* juga memiliki batas kemampuan reduksi pada konsentrasi 50 ppm hanya tereduksi sebesar 16%. *P. putida* merupakan salah satu jenis bakteri yang resisten terhadap Cr dan Cd, sehingga dapat digunakan dalam mereduksi Cr dalam suatu media (Ackerley, *et.al*: 2004; Lowe, *et.al*: 2002; Timotius, dkk: 1989; Rahman, *et.al*: 2007). Bakteri *P. putida* dapat mereduksi Cr(VI) dengan kecepatan 6 ppb min^{-1} yang diuji pada medium agar yang mengandung Cr(VI) (Lowe, *et.al*: 2002). *K. pneumonia* yang diinokulasi dalam media BHI mampu mereduksi Cr(VI) sebesar 27% (Mardiyono, 2005). Oleh Obratsova, *et.al* (2002) dikemukakan bahwa reduksi Cr(VI) 150 ppm oleh *Pantoea sp* optimal dengan penambahan sulfat (SO_4^{-2}) dicapai pada waktu 20 jam.

BAHAN DAN METODE

Pemeriksaan parameter limbah cair tekstil. Warna diukur secara langsung dengan pengamatan secara visual. pH diukur dengan menggunakan pH meter. Untuk pengukuran parameter BOD sesuai dengan metode APHA 1989: 5210), COD (SNI 19-4234-1989), TSS (SNI 06-6989.27-2005), Cu (SNI 06-6989.4-2004), Cr (SNI 06-6989.53-2005), Fe (06-6989.49-2005).

Mikroorganisme yang digunakan. Mikroorganisme yang meliputi *K. pneumonia*, *P. aeruginosa*, *P. putida*, *Pantoea sp*, dan *S. cerevisiae* digunakan dalam pengujian reduksi Cr(VI) dan ekspresi pola pita protein. Isolat bakteri



diperbanyak dalam media cair LB dengan komposisi masing-masing isolat 100 ml yaitu 1 g Trypton, 0,5 g Yeast Ekstract, dan 0,5 g NaCl, dan untuk perkembangbiakan kapang digunakan media cair PDA.

Pembuatan Media Cair yang mengandung Logam Berat Cr. Sebanyak 0,1414 g $K_2Cr_2O_7$ dilarutkan dengan akuades dalam labu ukur 1 liter dan diencerkan sampai tanda batas hingga diperoleh konsentrasi larutan 0,05 mg/mL untuk pembuatan larutan sediaan Cr baku. Kemudian dibuat larutan siapan krom baku dengan mengencerkan 1 mL larutan sediaan Cr ke dalam 100 mL media cair maka diperoleh konsentrasi media cair yang mengandung logam berat Cr 0,5 ppm. Untuk konsentrasi 1 ppm, 5 ppm, dan 10 ppm dilakukan pengenceran larutan sediaan Cr baku ke dalam media cair (LB atau PDA) sebanyak 100 mL.

Penghitungan Jumlah Sel Mikroorganisme. Untuk mengetahui kemampuan hidup mikroorganisme dalam media yang mengandung logam berat, maka dilakukan penghitungan jumlah sel mikroorganisme yang diinokulasi pada media cair dengan konsentrasi Cr(VI) 0 ppm dan 10 ppm selama 16 jam. Biakan yang tumbuh diencerkan beberapa kali pengenceran 10^{-5} dan 10^{-6} . hasil pengenceran ditumbuhkan pada media LB padat sebanyak 100 μ l, dan diinkubasi lagi selama 16 jam suhu 37 °C. Koloni yang terbentuk dihitung dengan *colony counter* dan dihitung jumlah sel mikroorganisme dalam satuan sel/ml (Hadioetomo, 1993).

Inokulasi mikroorganisme pada media cair LB yang mengandung logam berat Cr(VI) untuk mengetahui kemampuan reduksi Cr(VI). Masing-masing mikroorganisme diambil dengan menggunakan jarum ose dan ditumbuhkan ke dalam erlenmeyer berisi media cair LB dengan konsentrasi Cr(VI) 0 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm, 5 ppm dan 10 ppm, satu jenis mikroorganisme ditumbuhkan dalam 100 ml media cair LB pada lima macam konsentrasi awal Cr(VI) di atas kemudian diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 30°C-36°C selama 16 jam.

Uji Krom Heksavalen. Sebanyak 50 mL media cair kultur bakteri yang mengandung krom dimasukkan ke dalam tabung ependorf dan disentrifugasi 3000 rpm selama 30 menit, supernatan dikumpulkan dan disaring dengan kertas saring Whatman 0,2 μ m filter dan dianalisis kandungan logam beratnya (Lowe, *et.al*: 2002). Larutan tersebut dinetralkan dengan penambahan H_2SO_4 (1+1) atau NH_4OH , kemudian ditambahkan dengan 1 mL H_2SO_4 (1+1) dan 0,3 mL H_3PO_4 85%. Larutan secara kuantitatif dipindahkan ke dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan 2 mL larutan difenil karbazid, diencerkan sampai tanda batas dan dikocok samapi rata. Baca setelah 5-10 menit diukur dengan alat spektrofotometer UV VIS dengan panjang gelombang 540 nm.

Pembuatan Larutan Standar Krom baku. Sebanyak 2,0-20,0 mL dipipet (2, 4, 6, 8, 10, dan seterusnya secara bertingkat) larutan siapan krom baku ke dalam beberapa buah labu ukur 100 ml. Pada labu ukur lain masukkan 25 mL air suling sebagai blanko. Pada masing-masing labu ukur, tambahkan 1 mL H_2SO_4 (1+1) 0,3 mL H_3PO_4 85% dan 2 mL larutan difenil karbazid, kemudian diencerkan sampai tanda batas dan dikocok sampai rata, diamkan selama 5-10 menit. Tetapkan serapan dalam panjang gelombang 540 nm dan buat kurva kalibrasi kemudian hitung kadar Krom dalam mg/liter terhadap kurva kalibrasi.



HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian awal mengenai pemeriksaan parameter limbah cair tekstil hasil pewarnaan telah dilakukan sebelumnya. Penelitian awal juga menguji optimalisasi kerja mikroorganisme pada model IPAL dalam *men-treatment* limbah cair sehingga didapatkan kualitas air yang lebih baik sebelum dibuang ke sungai atau ke badan air (Fatmawati, 2006). Berikut hasil pemeriksaan parameter limbah cair Industri Tekstil yang Meliputi: Warna, TSS, pH, COD, BOD, Kandungan Logam Berat (Cu, Cr, Fe).

Tabel 1. Hasil Analisis Pemeriksaan Parameter Limbah Cair Industri Tekstil yang Meliputi: Warna, TSS, pH, COD, BOD, Kandungan Logam Berat (Cu, Cr, Fe).

No	Parameter	Satuan	Inlet	Outlet				Baku Mutu Air
				A	B	C	D	
1.	Warna		Merah	Kuning jernih	Kuning jernih	Kuning jernih	Kuning jernih	-
2.	TSS	mg/L	9	12	56	22	34	100
3.	pH		6,88	7,81	8,0	7,6	7,5	6-9
4.	COD	mg/L	144	48	96	133	134	100
5.	BOD	mg/L	8,2	12,1	14,5	9,3	7,8	50
6.	Cu	mg/L	0,071	0,047	0,148	0,086	0,060	2
7.	Cr ⁶⁺	mg/L	1,108	tt	0,113	0,090	0,057	0,1
8.	Fe	Mg/L	1,19	0,003	0,137	0,060	0,04	5

Keterangan:

A = Perlakuan pada model IPAL dengan waktu aerasi 0 jam

B = Perlakuan pada model IPAL dengan waktu aerasi 4 jam

C = Perlakuan pada model IPAL dengan waktu aerasi 8 jam

D = Perlakuan pada model IPAL dengan waktu aerasi 12 jam (Fatmawati, 2006)

Hasil pengolahan yang paling optimal dicapai pada perlakuan dengan menambahkan Mikroorganisme BIO EDU UNS pada lama aerasi 0 jam (Kontrol), karena tanpa aerasi pun mikroorganisme dapat memperoleh oksigen dengan mudah karena bak inkubasi memiliki permukaan yang cukup lebar sehingga banyak memungkinkan untuk kontak dengan udara atau oksigen. Dengan penambahan aerasi,, malah mikroorganisme tidak dapat bekerja optimal karena disebabkan oleh beberapa hal: 1). kondisi mikroorganisme yang tidak mampu bekerja optimal pada kadar oksigen yang jenuh atau pH lingkungan yang terlalu asam, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat (Suhendrayatna, 2001), 2) karena interaksi antar mikroorganisme dalam limbah, interaksi ini dapat mematikan atau mengurangi aktifitas hidup (kompetisi, antagonisme), sehingga bakteri yang mendominasi adalah bakteri yang tidak dapat berperan dalam biosorpsi logam berat. Hal ini menjadi pijakan untuk penelitian lanjutan yang menguji kemampuan mikroorganisme dalam mereduksi logam berat Cr(VI) dalam keadaan aerob tanpa aerasi dan perlu dibatasi dengan jenis mikroorganisme yang lebih spesifik berperan dalam mereduksi logam Cr(VI).



Kemampuan tumbuh mikroorganismen dalam media yang mengandung logam berat Cr.

Hasil uji pendahuluan yang berupa penghitungan jumlah koloni atau Colony Form Unit (CFU) dari lima macam mikroorganismen yang ditumbuhkan dalam media agar yang mengandung Cr(VI) sebesar 0,5 ppm seperti yang tercantum pada Tabel 2. menunjukkan bahwa kelima macam mikroorganismen tersebut mampu hidup dalam media yang mengandung Cr(VI). Uji ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan resistensi mikroorganismen yang diujicobakan pada media Cr.

Tabel 2. Jumlah Sel Mikroorganismen yang Diinokulasi pada Media LB padat dengan penambahan Cr(VI) 0 ppm dan 10 ppm.

Jenis Mikroorganismen	Rata-rata Jumlah Sel (sel/ml)		Prosentase penurunan jumlah sel
	0 ppm	10 ppm	
<i>P. aeruginosa</i>	370 x 10 ⁶	287 x 10 ⁶	22,4%
<i>P. putida</i>	352 x 10 ⁶	230 x 10 ⁶	34,6%
<i>K. pneumonia</i>	303 x 10 ⁶	240 x 10 ⁶	20,7%
<i>Pantoea sp</i>	254 x 10 ⁶	177 x 10 ⁶	30,3%
<i>S. cerevisiae</i>	460 x 10 ⁶	317 x 10 ⁶	31%

Jumlah sel terbanyak terdapat pada species *S. cerevisiae* yaitu 460 X 10⁶ sel/ml pada konsentrasi Cr(VI) 0 ppm. Sedangkan pada konsentrasi Cr(VI) 10 ppm. *S. cerevisiae* juga menghasilkan sel terbanyak sebesar 317 X 10⁶ sel/ml. Angka tersebut didapatkan dari perhitungan jumlah koloni rata-rata dari dua macam pengenceran 10⁻⁵ dan 10⁻⁶. Media agar yang digunakan untuk menumbuhkan *S. cerevisiae* adalah media Potato Dextrosa Agar (PDA), hal ini dikarenakan *S. cerevisiae* merupakan jenis khamir yang dapat melakukan fermentasi sehingga membutuhkan banyak substrat glukosa yang nantinya akan diubah menjadi ethanol. Kemampuan hidup *S. cerevisiae* dalam media agar yang mengandung Cr(VI) menunjukkan bahwa mikroorganismen tersebut resisten atau toleran terhadap logam berat Cr (Hwang: 2006; Jianlong, *et. al* (2003); Mulyani, 2004). *P. aeruginosa* juga memiliki kemampuan hidup dalam media yang mengandung logam berat Cr(VI) 10 ppm. Hal ini terbukti dengan tumbuhnya koloni pada media agar LB yang mengandung Cr(VI) 10 ppm dengan jumlah sel rata-rata sebanyak 287 X 10⁶ sel/ml. Pada mikroorganismen yang lain juga memiliki kemampuan hidup dalam media yang mengandung logam berat Cr(VI) 10 ppm. Jumlah sel paling sedikit terlihat pada species *Pantoea sp* dengan jumlah sel sebanyak 177 X 10⁶ sel/ml.

Lima macam mikroorganismen pada umumnya mengalami penurunan jumlah sel pada media yang mengandung logam berat Cr(VI). Penurunan jumlah sel terendah terdapat pada species *K. pneumonia* sebesar 20,7%, sedangkan penurunan tertinggi terdapat pada species seperti *P. putida* sebesar 34,5%. Penurunan jumlah sel mikroorganismen yang diinokulasikan pada media yang mengandung logam berat Cr(VI) menunjukkan bahwa mikroorganismen tersebut melakukan seleksi pada varian yang toleran terhadap logam berat. Berdasarkan Tabel 1 di atas, penurunan jumlah sel mikroorganismen setelah diinokulasikan ke dalam media agar dengan penambahan Cr(VI) 10 ppm, pada umumnya mengalami penurunan sebesar 20%-30 % merupakan penurunan yang tidak terlalu



ekstrim dan mengindikasikan bahwa kelima macam mikroorganisme tersebut memiliki kemampuan resisten terhadap lingkungan yang mengandung logam berat Cr(VI).

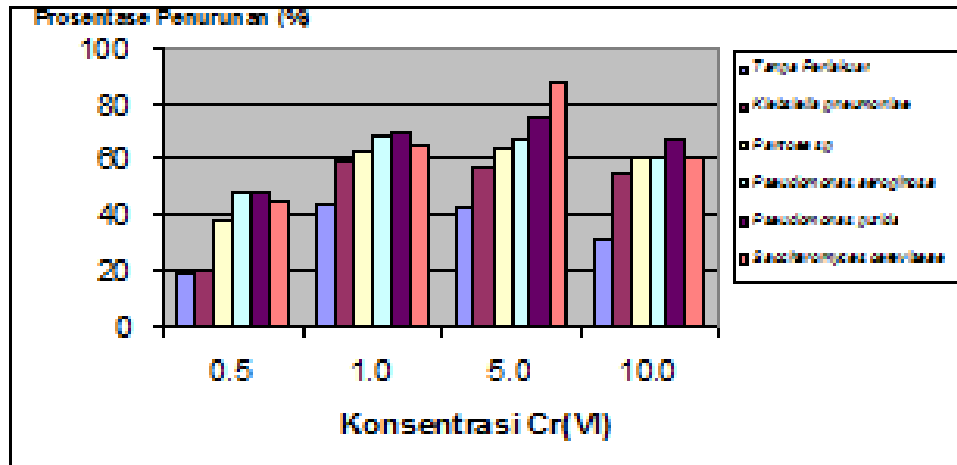
Mikroorganisme yang mampu hidup dalam media yang mengandung Cr(VI) juga dapat berperan sebagai reduktor logam berat Cr(VI) menjadi Cr(III). Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa keberadaan Cr(VI) pada kadar 0,00-50 ppm dalam sel mikroorganisme tidak mengganggu pertumbuhan sel (Hwang: 2006; Jianlong, *et.al* 2003; Rahman.*et.al*, 2007) hal ini disebabkan karena selain pertumbuhan, mikroorganisme akan menghasilkan produk samping yang berupa H₂S. Kenaikan jumlah sel mikroorganisme akan menaikkan kecepatan produksi H₂S yang akan mempercepat reduksi Cr(VI). H₂S yang dihasilkan bakteri akan bereaksi dengan Chromium untuk membentuk Chromium sulfida yang bersifat tidak stabil dalam larutan dan akan lebih cepat terdeposit untuk membentuk Cr(OH)₃ yaitu Cr dengan valensi tiga yang memiliki toksisitas lebih rendah dari Cr valensi enam.

Reduksi Cr(VI) pada Media Cair

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan bahwa lima macam mikroorganisme terbukti mampu hidup dalam media agar yang mengandung logam berat Cr(VI), maka dilakukan uji untuk mengetahui perubahan kadar Cr(VI) sebelum dan sesudah perlakuan. Perlakuan dilakukan dengan lima macam mikroorganisme diantaranya adalah: *K. pneumonia*, *Pantoea sp*, *P. aeruginosa*, *P. putida*, dan *S. cerevisiae* yang diinokulasikan dalam media cair LB yang mengandung Cr(VI) 0,5 ppm, 1 ppm, 5 ppm, dan 10 ppm dengan konsentrasi inokulum awal 1% (Mardiyono, 2005) dan diinkubasi selama 16 jam pada suhu ruang diatas shaker. Prosentase penurunan Cr(VI) oleh lima macam mikroorganisme pada konsentrasi yang berbeda (Gambar 1).

Kemampuan reduksi Cr(VI) oleh lima macam mikroorganisme diuji pada larutan media cair LB dengan konsentrasi Cr(VI) 1 ppm. Pada pengamatan secara visual terdapat perbedaan antara media cair LB yang tidak diinokulasi mikroorganisme dengan media cair LB yang diinokulasi lima macam mikroorganisme bahwa pada media cair yang diinokulasi mikroorganisme terlihat lebih keruh. Hal ini menandakan bahwa terjadi pertumbuhan dan perkembangbiakan sel di dalam media. Selain melakukan aktifitas pertumbuhan, beberapa mikroorganisme tersebut juga memiliki kemampuan mereduksi Cr(VI) (Ganguli & Tripathi, 2004; Jianlong, *et. al* 2003; Krauter,*et.al*: 2002; Mardiyono 2005; Mulyani, 2004; Suzuki, *et.al*: 1992; Upreti, *et.al*: 2004).





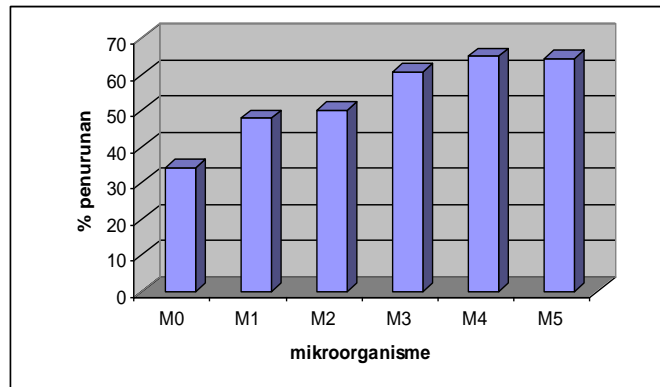
Gambar 1. Grafik Prosentase Penurunan Cr(VI) oleh Lima Macam Mikroorganisme

S. cerevisiae mempunyai kemampuan reduksi paling tinggi diantara mikroorganisme yang lain. Prosentase penurunan pada *S. cerevisiae* sebesar 87% pada konsentrasi awal 5 ppm. Sedangkan prosentase penurunan terendah pada konsentrasi awal 5 ppm adalah *K. pneumoniae* dengan prosentase penurunan sebesar 56,7%. Pada perlakuan tanpa bakteri juga terjadi penurunan sebesar 42,5%. Beberapa penelitian lain menyatakan bahwa *Saccharomyces* adalah mikroorganisme yang mempunyai efektifitas paling tinggi dalam mereduksi Cr(VI). Krauter & Krauter (2002) menyatakan bahwa *S. cerevisiae* dapat mereduksi Cr(VI) 100% pada pH 6,5-7. sedangkan pada pH asam kemampuan bioremoval *S. cerevisiae* kurang efektif. Salah satu keunggulan *Saccharomyces* sebagai agen biosorpsi Cr(VI) adalah sifatnya yang tidak patogen dibandingkan bakteri lain seperti *P. aeruginosa* dan *K. pneumoniae*. *Saccharomyces cerevisiae* juga memiliki kemampuan dalam mereduksi jenis logam berat lain seperti: Mo, Co, Ca, Zn, Sr, Hg dan Cu dalam air (Krauter, et.al: 2002; Mulyani: 2004).

P. putida memiliki prosentase terbesar kedua dalam mereduksi Cr(VI) yaitu sebesar 66,8% pada konsentrasi Cr(VI) awal 5 ppm. Kemampuan terendah adalah pada bakteri *K. pneumoniae* sebesar 20,4% pada konsentrasi awal 0,5 ppm. Pada perlakuan tanpa penambahan mikroorganisme juga terjadi penurunan sebesar 31%. Beberapa penelitian lain juga memanfaatkan bakteri *P. putida* untuk mereduksi Cr(VI) menjadi Cr(III) diantaranya adalah Ackerley, et.al: 2004; Lowe, et.al: 2002; Timotius, dkk: 1989; Rahman, et.al: 2007.

Konsentrasi awal Cr(VI) paling tinggi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10 ppm. Pada konsentrasi ini mikroorganisme masih dapat tumbuh dan berkembang biak, hal ini terlihat dari kekeruhan media cair LB yang diinokulasi dengan lima macam mikroorganisme dengan yang tanpa inokulasi. Secara logika, dengan daya tahan hidup yang lebih besar, tentunya lebih banyak mikroorganisme yang hidup sehingga dapat meningkatkan kemampuan reduksi Cr(VI) menjadi Cr(III) dalam lingkungan yang mengandung Cr(VI) yang juga lebih besar.





Keterangan:

M0= Tanpa Mikroorganisme

M1=*K. pneumonia*

M2=*Pantoea sp*

M3=*P. aeruginosa*

Gambar 2. Rata-rata Kemampuan Reduksi Cr(VI) pada lima macam Mikroorganisme

Berdasarkan grafik di atas dapat dilihat urutan kemampuan mikroorganisme dalam mereduksi Cr(VI). Kemampuan tertinggi adalah pada bakteri *P. putida* dengan prosentase reduksi rata-rata 65%, sedangkan kemampuan terendah adalah jenis bakteri *K. pneumonia* dengan prosentase reduksi rata-rata 47,8%. Urutan perbandingan kemampuan mereduksi Cr(VI) antara mikroorganisme satu dengan yang lain adalah sebagai berikut: *P. putida* (65%) > *S. cerevisiae* (64,45%) > *P. aeruginosa* (60,73%) > *Pantoea sp* (50,22%) > *K. pneumonia* (47,82%) > Tanpa mikroorganisme (34,25%).

Hasil perhitungan analisis sidik ragam pengaruh variasi konsentrasi awal logam berat Cr(VI) dan jenis mikroorganisme terhadap penurunan konsentrasi Cr(VI) dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Analisis Sidik Ragam Variasi Konsentrasi awal Cr(VI) dan Jenis Mikroorganisme Terhadap Penurunan Konsentrasi Cr(VI)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F tabel	
					5%	1%
Ulangan	2	108,258	54,129			
Mikroorganisme (A)	5	8626,752	1752,350	50,858	3,330*	5,640
Galat (a)	10	339,249	33,925			
Konsentrasi Awal Cr(VI) (B)	3	8988,810	2996,270	101,644	2,860*	4,380
A x B	15	1350,517	90,034	3,054	1,960*	2,580
Galat (b)	36	1061,207	29,478			
<i>Umum</i>	71	20474,792				

kk (a) = 10,631%; kk (b) = 9,910%

* = beda nyata pada taraf 1%

Berdasarkan perhitungan ANAVA dua faktorial dengan faktor utama adalah jenis bakteri dan faktor anak petak adalah konsentrasi maka dapat disimpulkan bahwa jenis mikroorganisme berpengaruh nyata terhadap penurunan konsentrasi Cr(VI) pada taraf 1%. Konsentrasi awal Cr(VI) berpengaruh nyata terhadap penurunan konsentrasi Cr(VI) pada taraf 1%, dan interaksi jenis mikroorganisme dengan konsentrasi awal Cr(VI) berpengaruh nyata terhadap penurunan konsentrasi Cr(VI) pada taraf 1%. Dari di atas, terdapat pengaruh variasi jenis mikroorganisme dan konsentrasi awal logam berat Cr(VI) terhadap penurunan konsentrasi logam berat Cr(VI). Hasil uji lanjut Beda Jarak Nyata



Duncan terhadap penurunan konsentrasi logam berat Cr(VI) terdapat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Lanjut Beda jarak Nyata Duncan Terhadap Penurunan Konsentrasi Logam Berat Cr(VI)

Jenis Mikroorganisme	Konsentrasi awal Cr(VI)			
	0,5 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm
Tanpa Mikroorganisme	18,8 ^e	43,06 ^e	42,52 ^e	31,83 ^e
<i>K. pneumonia</i>	20,46 ^e	59,82 ^{abcd}	56,72 ^{cd}	54,42 ^{abcd}
<i>Pantoea sp</i>	38,16 ^{abcd}	62,59 ^{abcd}	64,00 ^{bcd}	59,94 ^{abcd}
<i>P. aeruginosa</i>	48,12 ^{ab}	68,95 ^{ab}	67,32 ^{bc}	60,14 ^{abc}
<i>P. putida</i>	48,16 ^a	69,50 ^a	75,63 ^{ab}	60,65 ^a
<i>S. cerevisiae</i>	44,81 ^{abc}	65,4 ^{abc}	87,00 ^a	66,87 ^{ab}

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan pada taraf DMRT 1%.

Keberadaan Cr(VI) di lingkungan dapat mengganggu organisme tetapi juga dapat menghasilkan seleksi bakteri yang resisten. Senyawa Cr(VI) secara nyata lebih efektif daripada Cr(III) karena kelarutannya yang tinggi dalam air, permeabilitasnya yang cepat dan interaksinya berikutnya dengan protein intraseluler dan asam nukleat (Upreti, *et.al.*: 2004). Mikroorganisme dapat mengembangkan mekanisme resistensi untuk menyeleksi varian yang resisten.

Menurut Rahman, *et.al* (2007) menyatakan bahwa reduksi Cr(VI) terjadi karena selain pertumbuhan, mikroorganisme akan menghasilkan produk samping yang berupa H₂S. Kenaikan jumlah sel mikroorganisme akan menaikkan kecepatan produksi H₂S yang akan mempercepat reduksi Cr(VI). H₂S yang dihasilkan bakteri akan bereaksi dengan Chromium untuk membentuk Chromium sulfida yang bersifat tidak stabil dalam larutan dan akan lebih cepat terdeposit untuk membentuk Cr(OH)₃ yaitu Cr dengan valensi tiga yang memiliki toksisitas lebih rendah dari Cr valensi enam. Sedangkan menurut Suhendrayatna (2001) reduksi Cr(VI) menjadi Cr(III) oleh mikroorganisme disebut bioremoval. Terdapat dua macam mekanisme bioremoval, yaitu secara *passive up take* dan secara *active up take*. Penyerapan pasif (*passive uptake*) dikenal dengan nama biosorpsi. Proses ini terjadi ketika ion logam berat mengikat dinding sel dengan dua cara yang berbeda, pertama pertukaran ion di mana ion monovalen dan divalent seperti Na, Mg, dan Ca pada dinding sel digantikan oleh ion-ion logam berat, dan yang kedua adalah formasi kompleks antara ion-ion logam berat dengan gugus fungsional seperti karbonil, amino, thiol, hidroksil, phosphate, hidroksil-karboksil yang berada pada dinding sel. Proses biosorpsi ini dapat terjadi secara bolak-balik dan cepat. Proses bolak-balik ikatan ion logam berat di permukaan sel ini dapat terjadi pada sel mati dan sel hidup dari suatu biomassa. Proses biosorpsi ini juga dapat lebih efektif dengan kehadiran pH tertentu dan adanya ion-ion lain di media di mana logam berat dapat terendapkan sebagai garam yang tidak terlarut.

Penyerapan logam berat juga dapat terjadi secara *active uptake*, yang terjadi pada berbagai tipe sel hidup. Mekanisme ini secara simultan terjadi sejalan dengan konsumsi ion logam untuk pertumbuhan mikroorganisme atau akumulasi



intraseluler ion logam berat tersebut. Logam berat juga dapat diendapkan pada proses metabolisme dan ekskresi pada tingkat ke dua. Proses ini tergantung dari energi yang terkandung dan sensitifitasnya terhadap parameter-parameter yang berbeda seperti pH, suhu, kekuatan ikatan ionik, cahaya, dll. Selain itu, proses ini juga dapat dihambat oleh suhu yang rendah, tidak tersedianya sumber energi dan penghambat metabolisme sel (Suhendrayatna, 2001).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat diambil kesimpulan yakni jenis mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian ini berpengaruh sangat nyata terhadap prosentase penurunan Cr(VI). Variasi konsentrasi awal Cr(VI) juga berpengaruh sangat nyata terhadap prosentase penurunan Cr(VI) dan interaksi jenis mikroorganisme dengan konsentrasi awal Cr(VI) berpengaruh nyata terhadap penurunan konsentrasi Cr(VI). Kemampuan mikroorganisme dalam mereduksi Cr(VI) menjadi Cr(III) dapat diurutkan sebagai berikut: *Pseudomonas putida* (65%) > *Saccharomyces cerevisiae* (64,45%) > *Pseudomonas aeruginosa* (60,73%) > *Pantoea sp* (50,22%) > *Klebsiella pneumonia* (47,82%) > Tanpa mikroorganisme (34,25%). Ekspresi protein yang terbentuk pada masing-masing mikroorganisme yang resisten maupun yang tidak resisten memiliki pola pita protein yang hampir sama.

DAFTAR PUSTAKA

- Ackerley, D.F, Gonzales.C.F, Park, C.H, Blake,R. Keyhan,M.& Martin,A.2004. Chromat Reducing Properties of Soluble Flavoprotein from *Pseudomonas putida* and *Escherichia coli*."Applied and Environmental Biology". 70.(2): 873-882.
- Bachrudin. Z. 1999. Petunjuk Laboratorium: Isolasi, Identifikasi, dan Pewarnaan Protein. PAU Bioteknologi: UGM Yogyakarta.
- Davis, P.H dan V.H Heywood. 1963. Basic Methods in Molecular Biology. 2nd Ed. Conecicut: Appleton & Lange.
- Fatmawati, U. 2006. Optimalisasi Model IPAL Industri Tekstil dengan Pemanfaatan Mikroorganisme BIOEDU UNS. Skripsi. UNS
- Ganguli,A & Tripathi, A.2004. Bioremediation of Toxic Chromium from Electroplating Effluent by Chromat Reducing *Pseudomonas aeruginosa* A2chrin Two Bioreactor."Springer Link". 58 (3) 2002:416-420
- Hadioetomo, R.S. 1993. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek. Jakarta: UI Press
- Huang & Min,H.2006. Effect of Selected by Product of an acid Hidrolizate on cell Growth and ethanol Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*."Journal of the Missisipi Academy of Science".2006.The Free Library.com. (10 November 2007).
- Jianlong, W.,Zeyu,M & Xuan, Z. 2004. Response of *Saccharomyces cerevisiae* to Chromium Stess."Process Biochemistry".39.(10):1231-1235
- Krauter, P.A.W & Krauter, G.W.2002. Water Treatment Process and System for Metals Removal Using *Saccharomyces cerevisiae*."patent storm".7.2002



- Larashati, S. 2004. Reduksi Krom (Cr) Secara In-Vitro oleh Kultur campuran Bakteri yang Diisolasi dari Lindi Tempat Pembuangan akhir Sampah (TPA). Thesis: ITB
- Lowe, K.L., Fliflet, R.E., Tonny Le., Little, B.J, & Meehan, J.J. 2002. Chromium Tolerant Microbials Communities from The Chesapeake Bay watershed."Virginia Journal of science".53.(3): 142-155
- Mahida, U.N. 1986. Pencemaran Air dan Pemanfaatan Limbah Industri. Jakarta: CV Rajawali.
- Mardiyono. 2005. Reduksi Cr(VI) Limbah Cair Industri Tekstil oleh Bakteri Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, dan Klebsiella pneumoniae. Tesis. Program Studi Ilmu Lingkungan. Program Pasca Sarjana. UNS
- Mulyani. B. 2004. "Analisis Variasi Biomassa Saccharomyces cerevisiae terhadap Serapan Logam Krom". Sain Mat.2 (4) 1-9
- Obraztsova, A.Y, Francis, C.A, Tebo, B.M. 2002. Sulfur Disproportionation by The Facultative Anaerob *Pantoea agglomerans* sp-1 as a Mechanism for Chromium (VI) Reduction."Geomicrobiology Journal".19.2002:12-132
- Palar, H. 1994. Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat. Jakarta: Rineka Cipta.
- Rahman, M.U., Gul, S., UIHaq, M.Z. 2007. Reduction of Chromium (VI) by Locally Isolated *Pseudomonas* sp. C171."Turkey Journal Biol".31.2007:161-166
- Suhendrayatna. 2001. Bioremoval Logam Berat dengan Menggunakan Mikroorganisme: Suatu Kajian Kepustakaan. Seminar Bioteknologi. Tokyo: Sinergi Forum- Institut of Technology
- Suzuki, T, Miyata, N, Horitsu, H, Kawai, K, Takamizawa, K, Tai, Y, & Okazaki, M. 1992. NAD(P)H Dependent Chromium (VI) Reductase of *Pseudomonas ambigua* G-1: a Cr(V) Intermediated is formed During the Reductin of Cr(VI) to Cr(III)."Journal of Bacteriology". V. 174. (16): 5340-5345
- Timotius. K.H, Widianarko. B, Laksmani, S. 1987. Interaksi antara Bakteri dan Logam Berat. Kumpulan Hasil Seminar Ilmiah Ekologi Tanah dan Ekotoksikologi. Fakultas Biologi. UKSW.
- Upreti, R.K, Srivastha, R., Chaturvedi, U.C. 2004. Gut Microflora & Toxic Metal: Chromium as a Model."Indian Journal. Medicine Res.".19.2004:49-59

