

STUDI TRANSFORMASI KROM (VI) MENJADI KROM (III) OLEH BAKTERI *ESCHERICHIA COLLI*

Nahadi

Jurusan Pendidikan Kimia FPMIPA
Universitas Pendidikan Indonesia

ABSTRAK

Telah dipelajari transformasi krom (VI) menjadi krom (III) menggunakan bakteri *Escherichia Colli* yang dibiakkan di laboratorium. Penelitian ini bertujuan mempelajari pengaruh beberapa parameter yaitu; konsentrasi awal larutan Krom (VI), pH awal larutan dan banyaknya bakteri terhadap transformasi krom (VI) menjadi krom (III).

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 penelitian menunjukkan bahwa efektivitas transformasi krom (VI) menjadi krom (III) dipengaruhi oleh parameter-parameter di atas. Transformasi krom (VI) menjadi krom (III) secara efektif berlangsung pada konsentrasi awal 35 ppm. Transformasi krom (VI) menjadi krom (III) sangat dipengaruhi oleh pH larutan. Kondisi keasaman optimum untuk terjadinya transformasi krom (VI) menjadi krom (III) adalah pada pH = 7. Proses transformasi ini meningkat secara linear sebagai fungsi konsentrasi awal, dengan konsentrasi maksimum 35 ppm. Transformasi ini juga berlangsung efektif pada jumlah bakteri satu ose. Keberadaan krom (III) relatif tidak berpengaruh terhadap densitas optik krom (VI).

Kata Kunci: Transformasi, Krom, Bakteri

PENDAHULUAN

Pembangunan adalah upaya yang dilakukan oleh setiap bangsa untuk dapat meningkatkan kesejahteraan hidupnya. Bagi Indonesia sebagai negara berkembang, pembangunan merupakan instrumen yang sangat diandalkan untuk dapat memacu pertumbuhan dan perkembangan kehidupan agar posisi Indonesia dapat segera terangkat dari berbagai keteringgalan.

Adanya pembangunan, telah memberikan solusi dari banyak permasalahan dan keteringgalan di negara ini. Berbagai kebutuhan sandang, pangan dan papan masyarakat semakin mudah terpenuhi bahkan meningkat kualitasnya. Artinya secara umum pembangunan telah memberikan akselerasi yang nyata bagi peningkatan kehidupan masyarakat di negara ini. Hal ini bisa dilihat dengan mudah dari berbagai pola dan gaya hidup masyarakat Indonesia saat ini dibandingkan dua atau tiga dasawarsa ke belakang.

Pembangunan memang telah memberikan banyak perubahan bagi bangsa ini. Namun demikian sejalan dengan manfaat yang telah dirasakan dari hasil-hasil pembangunan, pada saat ini mulai dirasakan adanya berbagai implikasi negatif dari pembangunan. Implikasi negatif pembangunan ternyata bukan masalah baru. Bagi negara-negara yang sudah maju, yang sudah banyak merasakan langsung dampak negatif pembangunan, paradigma pembangunannya sudah mulai diubah. Paradigma pembangunan yang *developmentalis* dengan ruh ilmu ekonomi telah diubah menjadi paradigma pembangunan *environmentalis* dengan ruh ekologi (Saragih, 2000).

Dampak negatif pembangunan antara lain adalah pencemaran. Pencemaran akibat yang ditimbulkan dari pembangunan telah memberikan sejumlah permasalahan baru dalam kehidupan. Seharusnya pembangunan sebagai upaya untuk menyelesaikan dan menjawab berbagai persoalan tidak memberikan masalah baru dalam kehidupan. Itulah sebabnya mengapa kemudian paradigma pembangunan harus *environmentalis*. Negeri ini harus dibangun agar lebih maju dan sejahtera, namun pembangunan yang dilakukan diharapkan tidak memberikan masalah-masalah baru. Walaupun implikasi negatif pembangunan ini sulit dihilangkan, tetapi paling tidak dapat diminimalisir atau dieliminir sehingga biaya untuk mengatasinya tidak terlalu mahal.

Salah satu masalah yang sangat populer dalam pencemaran akibat pembangunan adalah masalah pencemaran 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 mentransformasinya. Bakteri perairan air tawar khususnya *Pseudomonas* dan *Escherichia coli* dalam keadaan tertentu dapat melakukan reaksi enzimatik yang dapat mengkatalisis terjadinya transformasi krom (VI) menjadi krom (III) (Shen dan Wang, 1993, Ishibashi, 1990).

Berdasarkan uraian di atas, maka dibutuhkan sekali adanya upaya-upaya pengkajian dan penelitian yang mengarah pada bagaimana perlakuan terhadap krom (VI) yang bersifat toksik agar dapat dieliminir keberadaannya sebagai pencemar .

METODE PENELITIAN

1. Peralatan Yang Dipergunakan

Peralatan yang dipergunakan dalam penelitian ini antara lain sebagai berikut; 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, Mikropipet, Pengaduk magnet, Ruang dingin, Neraca analitis buatan Mettler model AE 200, Stopwatch, Kawat Ose dan lampu spiritus.

2. Bahan Kimia Yang Dipergunakan

Bahan-bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini semuanya berkualitas p.a. Adapun bahan-bahan tersebut adalah; Kalium bikromat buatan Merck, 1,5-difenilkarbasid buatan Merck,

Natrium Hidroksida buatan Merck, Asam Sulfat 98 % buatan Merck, Aseton p.a. buatan Merck, Buffer pH 4,0: 7,0 dan 9,2 buatan Merck, Bakteri *Escherichia coli*, Media *nutrient broth*, Aquades dan aquabides buatan Lab Kimia Analitik FMIPA UGM, Kapas, plastik, alkohol 70%, spiritus bakar.

3. Prosedur Penelitian

a. Penentuan Konsentrasi Krom (VI) dalam Media Mengandung Bakteri

Sampel diperlakukan agar sesuai dengan kondisi pertumbuhan bakteri sehingga terjadi biotransformasi. 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 masing-masing 1 ose dan di tanam dalam media *nutrient broth* yang mengandung spesies krom (VI) sesuai dengan pH dan konsentrasi yang divariasikan. 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. Sampel diambil sebanyak masing-masing 10 ml pada setiap fase-fase pertumbuhan bakteri.

Dari setiap fase sampel yang diambil kemudian dikomplekskan dengan difenil karbasid pada waktu dan pH optimum yang selanjutnya dilakukan analisis krom (VI) yang ada dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis.

b. Transformasi Krom (VI) oleh Bakteri Pada Berbagai Konsentrasi

Pada tahap ini, penelitian dimulai dengan menimbang *nutrient broth* masing-masing 2,6 gram dan 0,26 gram. Ke dalam erlenmeyer 500 mL dan 100 mL, kedua *nutrient broth* masing-masing dimasukkan dan dilarutkan dengan aquabides untuk kemudian disterilisasi selama 15 menit pada suhu 115°C.

Setelah sterilisasi selesai ke dalam erlenmeyer 100 ml tersebut di atas dimasukkan bakteri yang sudah disiapkan sebanyak satu ose, untuk kemudian ditumbuhkan dalam inkubator selama 24 jam. Baru setelah ini, kedua erlenmeyer di atas dikontakkan dalam satu wadah dengan menambahkan krom (VI) sehingga diperoleh konsentrasi krom (VI) sesuai yang divariasikan dan dikondisikan baik pH maupun konsentrasinya. Ini dilakukan secara berulang mulai dari 15, 20, 25, 30, 35, 36, 37, 38, sampai 40 ppm.

Penentuan konsentrasi krom (VI) dilakukan mulai dari fase awal, pertumbuhan cepat, pertumbuhan lambat sampai fase kematian. Pada masing-masing fase tersebut larutan sampel diambil untuk kemudian dikomplekskan dengan difenilkarbasid dan pada kondisi yang optimum diukur adanya spesies krom (VI) dengan spektrofotometer UV-Vis.

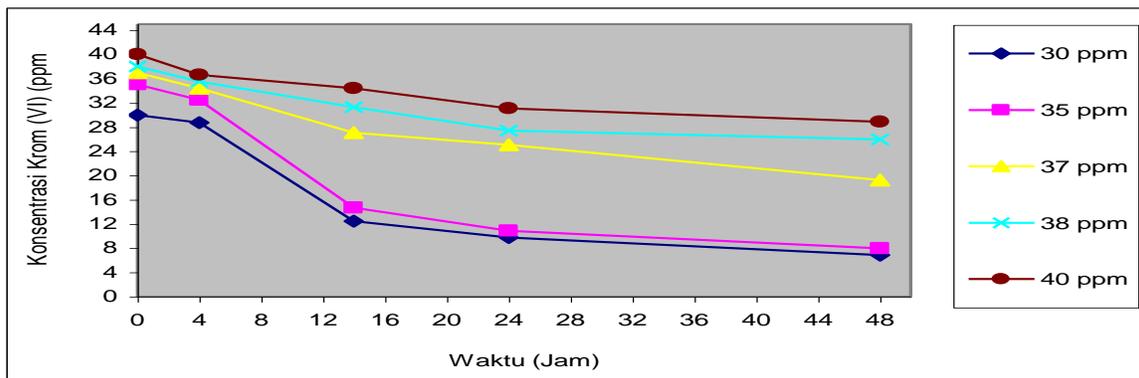
HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam percobaan ini, bakteri *Escherichia coli* yang didapat dari lab mikrobiologi PAU UGM disiapkan dalam media agar miring. Untuk melihat pengaruh bakteri terhadap transformasi krom (VI), bakteri tersebut diambil sebanyak 1 ose kemudian ditumbuhkan dalam media *nutrient broth* selama 24 jam baru kemudian dikontakkan dengan larutan krom (VI) yang sudah disiapkan. Larutan

krom (VI) yang dikontakkan divariasikan pada konsentrasi 15, 20, 25, 30, 35, 36, 37, 38 dan 40 ppm dengan pH 7.

Setelah dikontakkan, pada berbagai fase pertumbuhan bakteri kemudian dianalisis kandungan krom (VI) yang masih ada dengan metoda kompleksasi yang dianalisis menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Pada percobaan ini, pengontakan dan pengambilan bakteri dilakukan dalam ruang steril, untuk menghindari terjadinya kontaminasi bakteri atau mikroorganisme yang lain. Pengambilan sampel dilakukan pada tiap interval waktu tertentu. Hasil analisis disajikan dalam bentuk grafik pada gambar 1

Gambar 1. Pengaruh Konsentrasi terhadap Transformasi krom (VI)



Dari hasil penelitian seperti disajikan pada gambar 1, 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 mulai tidak berlaku, ketika memasuki konsentrasi 38 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 nutrien, 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;



Enzim Chromate Reductase

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 37 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, "Algemeine Mikrobiologie", by George Thieme Verlag, Rudigerstr, Gottingen.