

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Lumpur Lapindo

Semburan lumpur Lapindo yang terjadi sejak akhir Mei 2006 dan masih berlangsung sampai sekarang telah menyebabkan dampak yang besar, yaitu tergenangnya pemukiman warga, sawah, tambak, jalan dan bangunan lainnya dengan material lumpur yang mengandung berbagai zat yang dapat mencemari lingkungan (Parawita, 2009).



Gambar 2.1 Bangunan tiga lantai yang terendam lumpur Lapindo sehingga yang terlihat hanya atapnya (Dokumentasi pribadi, 2014)

Dampak ekologis yang ditimbulkan dari bencana ini adalah volume semburan lumpur sampai sekarang masih 100.000 m³/hari. Selain itu lumpur yang dibuang ke sungai Porong membuat tambak-tambak yang berada di bagian hilir sungai tercemari endapan lumpur yang mengandung zat berbahaya, dan juga akibat lumpur yang dialirkan ke sungai dapat menghambat aliran sungai yang menuju ke laut (RPJMD Propinsi Jawa Timur 2009-2014).

2.2 Pencemaran Logam Berat

Beberapa logam berat sangat toksik untuk manusia dan hewan. Logam-logam tersebut bersifat tahan lama dan akibat keracunannya juga bisa bertahan dalam waktu yang sangat lama (Sumardjo, 2009).

Beberapa sumber logam berat yang dapat mencemari air antara lain industri logam, industri bahan tambang, pemakaian logam, pemakaian senyawa-senyawa logam, ekskresi manusia atau hewan dan sampah padat. Sebaliknya, faktor yang menunjang sukar hilangnya logam-logam berat dalam air adalah logam-logam berat tidak dapat mengalami pemecahan secara biologis seperti halnya pencemar-pencemar organik non plastik. Selain itu, logam berat cenderung mengendap di dasar perairan yaitu dengan mengadakan persenyawaan bersama senyawa organik (Sumardjo, 2009).

Logam-logam berat dalam air umumnya berpengaruh buruk terhadap proses-proses biologis. Kematian ikan dan organisme perairan akibat logam berat dapat terjadi karena keracunan atau kation logam berat dengan fraksi tertentu dalam lendir insang sehingga insang terselaputi gumpalan lendir logam berat akibatnya, organisme akan mati lemas. Timah (Pb), seng (Zn), dan tembaga (Cu), pada umumnya menyebabkan kematian ikan dan organisme perairan lainnya melalui proses semacam ini (Sumardjo, 2009).

Hampir semua logam, termasuk logam-logam berat yang ada di dalam tanah, terdapat dalam bentuk persenyawaan dengan unsur lain dan berwujud seperti batu-batuan. Hanya sedikit yang unsur murni dalam bentuk butiran di tengah batu-batuan, misalnya emas, platinum, perak, air raksa, dan tembaga.

Karena pengaruh cuaca, setelah kurun waktu yang sangat lama, mula-mula batuan tersebut retak, kemudian lepas sekeping demi sekeping dan akhirnya menjadi butiran-butiran yang halus. Bersama air hujan, butiran-butiran tersebut akan sampai pada badan-badan air, dan persenyawaan logam berat yang dikandungnya segera melepaskan ion-ion positifnya (Sumardjo, 2009).

2.3 Logam Berat Timbal (Pb)

Timbal sebagai logam berat adalah unsur yang terbanyak di dunia. Istilah logam berat digunakan karena timbal mempunyai densitas (rapatan) yang sangat tinggi ($11,34 \text{ g cm}^{-3}$), jauh lebih tinggi daripada densitas tertinggi bagi logam transisi pertama (yaitu $8,92 \text{ g cm}^{-3}$ untuk tembaga) (Sugiyarto, 2010).

Timbal termasuk unsur golongan 14 (*p*). Timbal bersifat lembek-lemah dengan titik leleh $\sim 327^\circ \text{C}$, nampak mengkilat/berkilauan ketika baru dipotong, tetapi segera menjadi buram ketika terjadi kontak dengan udara terbuka. Hal ini karena terjadi pembentukan lapisan timbel-oksida atau timbel karbonat yang melapisi secara kuat, sehingga dapat mencegah terjadinya reaksi lebih lanjut. Karena sifat tersebut, timbal banyak digunakan dalam kebutuhan sehari-hari (Sugiyarto, 2010).

Fardiaz (1992) menambahkan, timbal banyak digunakan untuk berbagai keperluan karena sifatnya sebagai berikut:

- 1) Timbal mempunyai titik cair rendah sehingga jika digunakan dalam bentuk cair dibutuhkan teknik yang cukup sederhana dan tidak mahal
- 2) Timbal merupakan logam yang lunak sehingga mudah diubah menjadi berbagai bentuk

- 3) Sifat kimia timbal menyebabkan logam ini dapat berfungsi sebagai lapisan peindung jika kontak dengan udara lembab
- 4) Timbal dapat membentuk alloy dengan logam lainnya, dan alloy yang terbentuk mempunyai sifat berbeda dengan timbal yang murni
- 5) Densitas logam timbal lebih tinggi dibandingkan dengan logam lainnya kecuali emas dan merkuri.

Saat ini gas buangan dari kendaraan bermotor masih mengandung timbal dalam jumlah yang cukup besar. Dalam bentuk aerosol anorganik zat-zat ini akan masuk ke lingkungan dan akan masuk ke dalam tubuh bersama udara yang dihirup atau makanan yang dimakan seperti buah-buahan dan sayur-sayuran. Setelah inspirasi udara yang mengandung timbal sekitar 50% akan diabsorbsi dari paru-paru, sedangkan absorpsi dari saluran cerna sekitar 8-10%. Dari jumlah yang diabsorbsi dari saluran cerna, sebagian akan keluar dari saluran cerna, sebagian akan keluar melalui empedu. Dalam bagian usus yang lebih ujung ini akan membentuk timbal sulfida yang keluar bersama feses, sebagian dari ini akan mengalami reabsorpsi kembali (peredaran darah enterohepatik) (Mutschler, 1991).

Timbal yang beredar dalam darah sebagian besar terikat pada eritrosit. Pada fase distribusi pertama, konsentrasi timbal tertinggi ditemukan dalam ginjal dan hati, kemudian akan terjadi redistribusi dalam jaringan yang kaya kalsium, terutama dalam tulang dan gigi (terbentuknya depot timbal). Timbal yang masuk terutama akan diekskresikan melalui usus besar dan ginjal, dimana konsentrasi urin sebanding dengan konsentrasi dalam plasma (Mutschler, 1991).

2.4 Kegunaan Logam Timbal (Pb)

Penggunaan timbal terbesar adalah dalam produksi baterai penyimpan untuk mobil, dimana digunakan timbal metalik dan komponen-komponennya. Elektrode dari beberapa baterai mengandung struktur inaktif yang disebut *grid* yang dibuat dari alloy timbal yang mengandung 93% timbal dan 7% antimony. Struktur ini merupakan penyangga mekanik dari komponen baterai yang aktif dan merupakan jalur aliran listrik. Bagian yang aktif dari baterai terdiri dari timbal dioksida (PbO_2) dan logam timbal yang terikat pada *grid* (Fardiaz, 1992).

Penggunaan lainnya dari timbal adalah untuk produk-produk logam seperti amunisi, pelapis kabel, pipa, solder, bahan kimia, pewarna dan lain-lainnya. Beberapa produk logam dibuat dari timbal murni yang diubah menjadi berbagai bentuk dan sebagian besar terbuat dari alloy timbal. Penggunaan timbal bukan alloy terutama terbatas pada produk-produk yang harus tahan karat. Sebagai contoh pipa timbal digunakan untuk pipa-pipa yang akan mengalirkan bahan-bahan kimia yang korosif, lapisan timbal digunakan untuk melapisi tempat-tempat cucian yang sering mengalami kontak dengan bahan-bahan korosif dan timbal juga digunakan sebagai pelapis kabel listrik yang akan digunakan di dalam tanah atau di bawah permukaan air. Komponen timbal juga digunakan sebagai pewarna cat karena kelarutannya di dalam air rendah, dapat berfungsi sebagai pelindung, dan terdapat dalam berbagai warna. Yang paling banyak digunakan adalah timbal putih yang mempunyai rumus $\text{Pb}(\text{OH})_2 \cdot 2\text{PbCO}_3$ (Fardiaz, 1992).

2.5 Bioremediasi

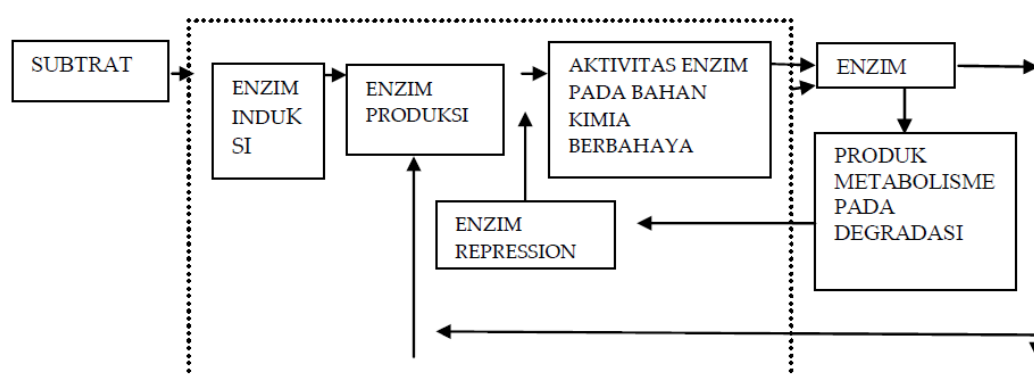
Bioremediasi menggunakan mikroorganisme merupakan proses pengolahan yang memanfaatkan mikroorganisme (seperti ragi, jamur, atau bakteri) untuk memecah atau mendegradasi substansi-substansi toksik menjadi substansi yang toksisitasnya lebih rendah atau non toksik. Pada dekade terakhir, bioremediasi memegang peranan penting. Hal ini disebabkan dalam mengatasi permasalahan lingkungan yang sama, bioremediasi diketahui lebih efektif dari segi pembiayaan dibandingkan dengan penerapan teknologi lainnya seperti insinerasi dan *containment* (Cookson, 1995). Selain itu, bioremediasi menarik untuk diaplikasikan karena dapat memusnahkan hampir semua kontaminan organik serta tidak berdampak negatif bagi kesehatan makhluk hidup dan lingkungan. Pada saat proses bioremediasi berlangsung, enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme memodifikasi struktur polutan beracun menjadi metabolit yang tidak beracun dan berbahaya (Priadie, 2012).

Kemampuan mikroba dalam menguraikan pencemar organik juga diterapkan dalam upaya pengurangan konsentrasi pencemar organik di dalam tanah, air dan lumpur yang selanjutnya menjadi definisi dari bioremediasi. Reaksi metabolisme mikrobiologis untuk menguraikan senyawa organik merupakan suatu reaksi reduksi-oksidasi yang dilakukan oleh mikroba. Sebagai suatu reaksi reduksi-oksidasi, reaktan yang ada berperan sebagai donor elektron atau reaktan yang memiliki kelebihan elektron sehingga mampu memberikan elektronnya ke reaktan lain. Bahan organik dalam pencemar merupakan contoh donor elektron yang disebut juga sebagai substrat (makanan) atau sumber energi. Selain itu

reaktan juga berperan sebagai akseptor elektron atau reaktan yang menerima kelebihan elektron dari reaktan lain. Oksigen merupakan contoh akseptor elektron dalam proses bioremediasi dalam kondisi aerobik yang juga disebut sebagai oksidator (Munawar, 2012).

Bioremediasi berlangsung akibat aktivitas enzim yang disuplai oleh mikroorganisme untuk mengkatalis degradasi bahan-bahan kontaminan. Reaksi kimia tersebut merupakan reaksi oksidasi-reduksi yang penting untuk menghasilkan energi bagi mikroorganisme. Bioremediasi membutuhkan kehadiran sumber energi yang sesuai, sistem donor-akseptor elektron, dan nutrisi. Prinsip metabolisme mikroba pada bioremediasi ditunjukkan oleh Gambar 2.2 (Munawar, 2012).

Metabolisme mikroorganisme dalam bioremediasi dapat berlangsung pada kondisi aerobik maupun anaerobik. Mikroorganisme aerobik membutuhkan kehadiran oksigen yang berperan sebagai akseptor elektron (respirasi). Reaksi anaerobik berlangsung tanpa kehadiran oksigen. Reaksi ini terbagi menjadi respirasi anaerobik, fermentasi, dan fermentasi metana (Munawar, 2012).



Gambar 2.2 Prinsip metabolisme mikroba dalam bioremediasi (Laksmono, 2010)

Dalam bioremediasi, sistem aerobik lebih banyak digunakan karena lebih efisien dari pada sistem anaerobik. Efisiensi bioremediasi dipengaruhi oleh lingkungan, fisik, dan kimia (Eweis, 1998). Lingkungan memberikan pengaruh yang besar dalam proses bioremediasi. Sebagai pelaku utama pendegradasi pencemar, mikroba membutuhkan kondisi lingkungan yang optimal bagi pertumbuhannya. Mikroorganisme sangat sensitif terhadap perubahan temperatur, pH, ketersediaan nutrisi, oksigen, dan kelembaban. Faktor fisik yang penting bagi mikroba adalah ketersediaan zat pencemar sebagai sumber energi, air, dan aseptor elektron.

Air dibutuhkan karena mikroba mendapatkan karbon organik, nutrisi anorganik, dan aseptor elektron untuk pertumbuhannya dalam kondisi terlarut. Aseptor elektron terakhir yang paling banyak digunakan oleh mikroba dalam sistem respirasinya adalah oksigen. Namun, jika ketersediaan oksigen terbatas, mikroba dapat menggunakan aseptor elektron yang lain diantaranya NO_3^- , NO_2^- , SO_4^{2-} dan CO_2 (Munawar, 2012).

Struktur molekul zat pencemar sebagai faktor kimia juga penting dalam mempengaruhi proses bioremediasi. Pada rantai alkana bercabang, sulit didegradasi oleh mikroba. Percabangan juga mempengaruhi tingkat degradasi pada isomer, misalnya noktana lebih mudah terdegradasi daripada 3- profil pentana, meskipun keduanya memiliki rumus empiris yang sama yaitu C_8H_{18} (Eweis, 1998).

Saat ini ada beberapa teknik bioremediasi aerobik yang mampu menurunkan kadar pencemaran diantaranya: bioremediasi in-situ; pencemar dan

media tercemarnya tetap berada pada tempat aslinya saat dilaksanakan proses bioremediasi. Bioremediasi *ex-situ*; dimana pencemar dan media tercemarnya dipindahkan dari tempat aslinya ke tempat lain dimana proses bioremediasi dapat dilakukan. Berdasarkan metode pengkayaannya, ada dua teknik bioremediasi yaitu bioremediasi augmentasi (*bioaugmentation*) yaitu bioremediasi dilaksanakan dengan menggunakan mikroba khusus yang didatangkan dari tempat lain dan umumnya disertai dengan penambahan enzim. Bioremediasi simulasi (*biostimulation*) yaitu bioremediasi dilakukan dengan mengandalkan mikroba asli tanah yang distimulasi metabolismenya (Munawar, 2012).

Dalam menentukan teknik bioremediasi yang tepat, ada beberapa hal penting yang harus dipertimbangkan. Faktor-faktor tersebut meliputi : Lokasi pencemar; yaitu letak relatif pencemar dan media tercemar terhadap muka tanah. Wujud pencemar; misalnya kecenderungan untuk menguap ataupun melarut dari zat pencemar. Biodegradabilitas pencemar; yaitu kemudahan pencemar untuk didegradasi oleh mikroba asli daerah tersebut. Potensi migrasi pencemar; yaitu pergerakan atau perpindahan pencemar dari tempat aslinya (Munawar, 2012).

Ada beberapa keuntungan bioremediasi dibandingkan dengan pengolahan limbah secara konvensional. Hasil produk akhir pada bioremediasi umumnya bersifat tidak beracun, jika terjadi proses mineralisasi yang lengkap. Aktivitas biologi lain akibat proses bioremediasi relatif tidak mengganggu. Bioremediasi tidak membutuhkan biaya yang mahal bila dibandingkan dengan cara-cara fisik lainnya, dan bioremediasi memerlukan peralatan yang sederhana. Namun, ada beberapa kerugian dari bioremediasi yaitu suatu limbah dengan konsentrasi tinggi

seringkali memerlukan stimulasi pertumbuhan bagi mikroorganisme bioremediator. Bioremediasi hanya terbatas pada tempat yang tercemar saja. Konsentrasi mikroba mempengaruhi keberadaan zat pencemar. Faktor eksternal yang mempengaruhi keberhasilan bioremediasi adalah lingkungan. Bila lingkungan terlalu panas, dingin, basah, kering, asam atau basa maka proses bioremediasi berjalan lambat bahkan terhenti. Bioremediasi juga terbatas karena perlakuan waktu (Waluyo, 2005).

Penelitian Hardiani (2011) tentang bioremediasi logam timbal (Pb) dalam tanah terkontaminasi limbah sludge industri kertas proses *deinking* menunjukkan, pada penambahan inokulum 10% dengan waktu inkubasi 40 hari mikroba konsorsium dari campuran PG 65-06 (A) : PG 97-02 (B) : MR 1.12-05 (C) dan A1 (D) dengan perbandingan 1:1:1:1 mempunyai kemampuan untuk meremidiasi tanah terkontaminasi logam berat Pb dari limbah padat industri kertas proses *deinking*. Keberhasilan proses bioremediasi ditunjukkan dengan adanya penurunan logam Pb pada fase residu oleh aktifitas mikroba, artinya mengubah sifat logam yang semula aktif menjadi tidak aktif.

Yulia (2013) dalam penelitiannya tentang bioremediasi air laut terkontaminasi minyak bumi menggunakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan hasil, pada pemberian konsentrasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 3% mampu menurunkan TPH sebesar 100% dalam waktu 28 hari. Husain dan Irna (2005) menyatakan, isolat bakteri yang diperoleh dari instalasi pengolahan air limbah PT. KIMA mempunyai kemampuan dalam mengadsorpsi logam timabl (Pb) dan kadmium (Cd). Isolat A memiliki daya reduksi paling

tinggi terhadap logam timbal (Pb) sebesar 94,23% sedang isolat F memiliki daya reduksi 99,66% pada konsentrasi 1 ppm untuk masing-masing logam dalam waktu inkubasi 96 jam.

2.6 Faktor yang Mempengaruhi Keberhasilan Bioremediasi

Keberhasilan proses bioremediasi ditentukan oleh keberhasilan untuk mengoptimalkan kondisi lingkungan yang sesuai dengan aktivitas mikroba perombak. Kondisi lingkungan yang dimaksud adalah (Munawar, 2012):

2.6.1 Oksigen

Dalam proses bioremediasi aerobik, oksigen berperan sebagai akseptor elektron yang akan menampung kelebihan elektron dari reaktan lainnya. Oksigen dalam tanah diperoleh dari proses difusi antara udara dengan tanah. Oksigen ini mudah habis terutama jika jumlah mikroorganisme yang memanfaatkannya sangat banyak sedangkan proses difusi tersebut membutuhkan waktu yang lama. Namun, laju biodegradasi akan menurun bila kandungan oksigen berkurang (Andriany, 2001). Namun kebutuhan akan oksigen dapat disuplai melalui pengadukan atau pembalikan secara berkala.

Untuk reaksi penguraian secara aerobik, kebutuhan oksigen optimum adalah lebih besar dari 0,2 mg/L dengan porositas minimal 10%. Berbeda dengan reaksi aerobik, untuk reaksi anaerobik kebutuhannya akan oksigen kurang dari 0,2 mg/L dan porositas kurang dari 1% (Indiarto, 1999). Pembalikan tersebut dimaksudkan juga untuk menjaga suhu tumpukan tetap ideal dan menciptakan homogenitas campuran (Munawar, 2012):

Tanpa kehadiran oksigen bebas (O_2) maka reaksi penguraian akan berlangsung secara anaerobik. Degradasi hidrokarbon terjadi akibat kegiatan mikroorganisme mesofil dan termofil. Mikroba memanfaatkan senyawa lain yang mengandung atom oksigen misalnya sulfat (SO_2) dan nitrat (NO_3) untuk menggantikan O_2 sebagai penerima elektron.

2.6.2 Kelembaban

Kelembaban yang optimum untuk bioremediasi tanah adalah sekitar 80% kapasitas lapang atau 15% air dari berat (Cookson, (1995) kelembaban yang tidak mencukupi misalnya kurang dari 40%, dapat mengurangi laju bioremediasi. Namun, bioremediasi bahan bakar minyak dan sejenisnya, membutuhkan kelembaban sekitar 50%.

2.6.3 Nilai pH

Nilai pH lingkungan yang tercemar juga berpengaruh terhadap kemampuan mikroorganisme baik untuk menjalankan fungsi selular, transpor membran sel maupun keseimbangan reaksi yang dilakukan oleh mikroorganisme. Sebagian besar bakteri tumbuh dengan baik pada pH netral hingga pH alkali. Pertumbuhan mikroba tidak berlangsung dengan baik pada pH di bawah 5.

2.6.4 Temperatur

Indiarto (1999) menyebutkan, bahwa temperatur yang optimum untuk biodegradasi adalah $10^{\circ}C - 40^{\circ}C$.

2.7 Mikroba Indigen Lumpur Lapindo

Mikroba indigen adalah mikroba yang berasal dari habitatnya sendiri sehingga kondisi lingkungannya sesuai dengan syarat hidupnya, hal ini bertujuan

agar bakteri berkembangbiak atau memperbanyak diri dengan mudah karena tidak perlu menyesuaikan diri lagi dengan lingkungannya (Arief, 2010).

Mikroba indigen yang berhasil diisolasi dari lumpur Lapindo dan diketahui berpotensi sebagai pendegradasi hidrokarbon adalah *Rodhococcus sp* (isolat LL3) dan *Staphylococcus arlettae* R8-6A (isolat LL6) (Purnomo, 2012). Berdasarkan penelitian dari Purnomo (2012) tersebut, diketahui bahwa isolat LL3 mampu tumbuh pada media dengan konsentrasi maksimum hidrokarbon 25% sedangkan isolat LL6 mampu tumbuh pada konsentrasi maksimum 10%. Kedua isolat tersebut mampu memproduksi biosurfaktan yang ditunjukkan dengan terbentuknya misel pada permukaan media.

Selain bakteri yang mampu mendegradasi hidrokarbon, pada lumpur Lapindo juga berhasil diisolasi bakteri penghasil xilanase. Berdasarkan penelitian Habibie (2013), bakteri yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari lumpur Lapindo dan diketahui berpotensi sebagai penghasil enzim xilanasi adalah *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilis*, *Alcaligenes sp*, *Arthrobacter sp*, dan *Enterobacter sp*.

2.8 Mikroba Eksogen Pendegradasi Logam Timbal (Pb)

2.8.1 *Pseudomonas pseudomallei*



Gambar 2.3 Koloni bakteri *Pseudomonas pseudomallei*/Burkholderia *pseudomallei* (Todar 2012)

Klasifikasi dari *Pseudomonas pseudomallei* menurut (Boone *et al*, 2005) adalah :

Kingdom Bacteria

Phylum Proteobacteria

Class Beta Proteobacteria

Order Burkholderiales

Family Burkholderiaceae

Genus Burkholderia

Species *Burkholderia pseudomallei*

sinonim as *Pseudomonas pseudomallei*

Pseudomonas adalah bakteri gram negatif, kemoorganotrof, metabolisme dengan respirasi, tidak pernah fermentatif, dan dapat menggunakan H₂ atau CO sebagai sumber energi. Oksigen merupakan penerima elektron universal, beberapa dapat melakukan denitrifikasi, dengan menggunakan nitrat sebagai penerima

pilihan. Aerobik sejati kecuali spesies-spesies yang dapat menggunakan denitrifikasi sebagai cara respirasi anaerobik. Kandungan G+C DNA spesies-spesies yang telah diperiksa berkisar dari 58 sampai 70 mol% (Pelczar, 2005).

Arif *et al* (2010), menambahkan bahwa *Pseudomonas* merupakan bakteri yang penting dalam dekomposisi secara aerobik dan biodegradasi karena memegang peranan penting dalam siklus karbon. Berbentuk basil dengan ukuran 0.5-0.8 μm , respirasi secara aerobik dan bergerak dengan flagella polar dan bersifat gram negatif karena dinding sel bakteri tersebut sebagian besar terdiri dari peptidoglikan. Karakteristik bakteri *Pseudomonas pseudomallei* dapat tumbuh optimal pada suhu 27°C, selnya berdiameter 0,8 μm dengan panjang 1,5 μm dan memiliki flagel satu atau lebih.

Pseudomonas pseudomallei tumbuh pada suhu 42°C dan mengoksidasi glukosa, laktosa, dan berbagai karbohidrat. *Pseudomonas pseudomallei* menyebabkan melioidosis, suatu endemik penyakit radang kelenjar (*glanders-like disease*, penyakit yang ditandai inflamasi dan erupsi selaput lendir dan kulit akibat pecahnya kelenjar getah bening yang terinfeksi) pada binatang dan manusia terutama di Asia Tenggara dan Australia Utara. Infeksi epizootic *Pseudomonas pseudomallei* terjadi pada domba, kambing, babi, kuda, dan binatang lain. Organisme ini adalah saprofit alami yang dapat berkembangbiak di tanah, air, dan sayur-sayuran. Infeksi pada manusia mungkin berasal dari sumber tersebut melalui kontaminasi luka dikulit dan mungkin melalui makanan atau pernafasan. Sedangkan infeksi pada hewan misalnya sapi, kuda, babi dan hewan lain terjadi secara epizootik (Brooks, 2005).

Boone *et al* (2005) menambahkan bahwa, *Pseudomonas pseudomallei* berbentuk batang, motil karena memiliki 2-4 flagel polar. Koloni yang halus dan mengkilap dengan pigmen merah muda pada medium selektif. Koloni *Pseudomonas pseudomallei* kasar dan keriput dengan ungu gelap. *Pseudomonas pseudomallei* mampu memanfaatkan L-arabinosa, 5-ketogluconate, dan adonitol, dan tidak dapat memanfaatkan erythitol dan dulcitol. Menghasilkan sidesphore, lipase, protease, dan lecithinase positif. Bakteri ini resisten terhadap aminoglycosides tetapi peka terhadap tetracycline dan lain-lain. Tumbuh pada suhu antara 25°C sampai 42°C.

2.8.2 *Pseudomonas aeruginosa*



Gambar 2.4 Bacteri *Pseudomonas aeruginosa* (Todar, 2012)

Klasifikasi dari menurut Bergey's Edisi 9 (1994) sebagai berikut (Boone, 2005):

Kingdom Bacteria

Phylum Proteobacteria

Class Proteobacteria

Ordo Pseudomonadales

Family Pseudomonadaceae

Genus *Pseudomonas*

Species *Pseudomonas Aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa adalah anggota dari kelas Proteobacteria. Merupakan bakteri gram negatif, aerobik, berbentuk batang berukuran 0,5 sampai 3,0 μm , dan hampir seluruh strainnya adalah motil menggunakan flagel tunggal polar. *Pseudomonas aeruginosa* dapat ditemukan di tanah dan air. Akan tetapi, bakteri ini juga bisa ditemukan di permukaan tumbuhan dan adakalanya di

permukaan binatang. Temperatur optimum untuk pertumbuhan bakteri ini adalah 37° C dan dapat tumbuh pada suhu tinggi hingga 42° C (Todar, 2012).

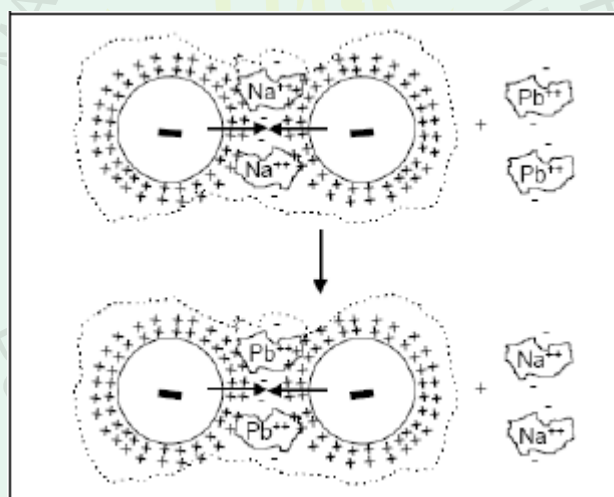
Pseudomonas aeruginosa adalah salah satu bakteri utama penyebab infeksi nosokomial. Menurut CDC (*Centers for Disease Control*), estimasi kejadian infeksi yang disebabkan oleh *P.aeruginosa* adalah 0,4% dari keseluruhan infeksi. *P.aeruginosa* menduduki peringkat ke-4 sebagai bakteri patogen nosokomial yang paling sering terisolasi, dengan persentase 10,1% dari semua infeksi nosokomial (Todar, 2009).

2.9 Pengaruh Logam Berat Timbal (Pb) Terhadap Bakteri

Pengoksidasian biomassa yang digunakan sebagai media penyerap logam berat dilakukan dengan aktivasi, yang bertujuan untuk membuka pori-pori (porositas) pada sel biomassa kemudian diganti dengan pertukaran ion logam (Pb^{2+}) yang berada disekitar permukaan sel dengan ion monovalen maupun divalen, sehingga pembentukan senyawa kompleks antara ion logam (Pb) dengan gugus fungsional yang terdapat dalam sel (Adi dan Nana, 2010). Logam Pb dapat menyebabkan toksik pada mikroorganisme, karena mampu menempati ion-ion logam esensial yang digunakan untuk metabolisme sel (Yani dan Kurniasari, 2008).

Mekanisme logam berat Pb dalam menembus sel bakteri yaitu logam Pb berikatan dengan gugus sulfidril (-SH), dan mengakibatkan kerusakan pada protein. Sel bakteri sangat berlimpah sisi-sisi yang mengandung muatan negatif yang terletak pada dinding selnya, seperti fosforofil (PO_4^{3-}) karboksil (COO^-), sulfidril (-SH), dan hidroksil (OH^-), sehingga akan terjadi interaksi ion logam

dengan muatan negatif tersebut (Yani dan Kurniasari, 2008). Mekanisme biosorpsi logam berat dengan biomassa, secara alami mempunyai dua mekanisme yang terjadi secara simultan dan bolak balik (*reversible*), dimana pertama-tama terjadi pertukaran ion logam (Pb) yang berada disekitar permukaan sel dengan ion monovalen maupun divalent (misal=Na), dan yang terakhir adalah pembentukan senyawa kompleks antara ion logam (Pb) dengan gugus fungsional yang terdapat dalam sel (misal=gugus carbonyl (-CO), gugus hydroxycarbonyl (-HCO)). Berikut merupakan mekanisme biosorpsi Pb oleh biomassa pada dinding selnya (Adi dan Nana, 2010).



Gambar 2.5 Mekanisme biosorpsi Pb oleh biomassa pada dinding selnya

Komponen membran sel bakteri terutama komponen fosfolipid yang membentuk pori pada membran sel bakteri, jika pori membran membesar karena adanya perubahan fosfolipid, molekul yang berukuran lebih besar dapat keluar dari membran sel atau sifat semi permeabel membran mengalami perubahan. Gangguan permeabilitas membran pada sel bakteri menyebabkan kebocoran protein dan asam nukleat (Asriani *et al*, 2007). Dinding sel bakteri lisis dengan

melepaskan ion K^+ ke lingkungan. Ion K^+ merupakan kation utama yang terkandung dalam sitoplasma pada dinding sel yang sedang tumbuh, sedangkan ion Ca^{2+} dan Mg^{2+} terdapat di bagian sitosol yaitu cairan sitoplasma. Kedua jenis ion ini juga ditemukan pada dinding sel yang turut berperan dalam aktivitas enzim. Ion K^+ memiliki peran dalam mengaktivasi enzim sitoplasma, sementara ion Ca^{2+} dan Mg^{2+} berfungsi menghubungkan lipopolisakarida pada dinding sel bakteri gram negatif (Nikaido dan Vaara, 1985 dalam Asriani *et al*, 2007).

2.10 Pengaruh Konsentrasi dan Lama Inkubasi Terhadap Penurunan Logam Pb

Menurut Yulia (2013), semakin besar konsentrasi cemaran maka semakin lama waktu yang dibutuhkan mikroba untuk mendegradasi. Semakin besar jumlah cemaran maka pertumbuhan bakteri akan semakin terhambat yang ditunjukkan dengan berkurangnya jumlah sel bakteri pada fase lognya. Pada fase adaptasi atau fase lag konsentrasi mikroorganisme belum mengalami peningkatan dan belum ada tanda proses biodegradasi. Kemudian setelah fase lag, terjadi peningkatan jumlah sel bakteri yang sangat tajam. Setelah itu terjadi penurunan jumlah sel mikroba, hal ini menunjukkan bakteri mulai mengalami fase kematian.

Proses biodegradasi *Total Petroleum Hidrokarbon* (TPH) yang dilakukan oleh *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 3% untuk bisa memperoleh % biodegradasi hingga 100% dibutuhkan waktu 21 hari dengan konsentrasi cemaran sebesar 1000 ppm (Yulia, 2013).

Saidi (1999) menambahkan, semakin lama waktu inkubasi maka proses biodegradasi akan semakin besar, namun bila waktu inkubasi terlalu lama proses degradasi dapat menurun karena mikroba yang ada memasuki masa kematian.

2.11 Fase-Fase Pertumbuhan Bakteri

Terdapat 4 fase pertumbuhan bakteri yaitu fase adaptasi (lag phase), fase perbanyakkan (exponential phase), fase statis (stationer phase), dan fase kematian (death phase) (Purwoko, 2007) :

2.11.1 Fase adaptasi (lag phase) : Pada fase ini tidak ada penambahan populasi.

Sel mengalami perubahan dalam komposisi kimiawi dan bertambah ukurannya, substansi interaseluler bertambah (Pelczar, 2005). Ketika sel dalam fase statis dipindahkan ke media baru, sel akan melakukan proses adaptasi. Proses adaptasi meliputi sintesis enzim baru yang sesuai dengan medianya dan pemulihan terhadap metabolit yang bersifat toksik (misalnya asam, alkohol, dan basa) pada waktu media lama. Pada fase adaptasi tidak di jumpai penambahan jumlah sel. Akan tetapi, fase adaptasi dapat dihindari (langsung ke fase perbanyakkan), jika sel di media lama dalam kondisi fase perbanyakkan dan dipindahkan ke media baru yang sama komposisinya dengan media lama.

2.11.2 Fase perbanyakkan (logaritma atau eksponensial) : Pada fase ini pembiakan bakteri berlangsung paling cepat. Jika ingin biakan bakteri yang cepat tumbuh, maka bakteri dalam fase ini baik sekali untuk dijadikan inokulum (Dwidjuseputro, 1998). Sel akan membelah dengan laju yang konstan massa menjadi dua kali lipat dengan laju yang sama, aktivitas metabolit konstan dan keadaan pertumbuhan yang seimbang (Pelczar, 2005). Setelah memperoleh kondisi ideal dalam pertumbuhannya, sel melakukan pembelahan. Karena pembelahan sel merupakan persamaan ekponensial,

maka fase itu disebut juga fase eksponensial. Pada fase perbanyakan jumlah sel meningkat pada batas tertentu (tidak terdapat pertumbuhan bersih jumlah sel), sehingga memasuki fase statis. Pada fase perbanyakan sel melakukan konsumsi nutrisi dan proses fisiologis lainnya (Purwoko, 2007).

2.11.3 Fase statis/konstan : Pada fase ini terjadi penumpukan produk beracun dan atau kehabisan nutrisi. Beberapa sel mati sedangkan yang lain tumbuh dan membelah. Jumlah sel hidup menjadi tetap (Pelczar, 2005). Fase ini menunjukkan jumlah bakteri yang berbiak sama dengan jumlah bakteri yang mati, sehingga kurva menunjukkan garis yang hampir horizontal (Dwidjoseputro, 1998). Alasan bakteri tidak melakukan pembelahan sel pada fase statis bermacam-macam. Beberapa alasan yang dapat dikemukakan akan adalah : Nutrisi habis, akumulasi metabolit toksik (misalnya alkohol, asam, dan basa), penurunan kadar oksigen, penurunan nilai aw (ketersediaan air). Pada fase statis biasanya sel melakukan adaptasi terhadap kondisi yang kurang menguntungkan (Purwoko, 2007).

2.11.4 Fase kematian : Pada fase ini sel menjadi mati lebih cepat dari pada terbentuknya sel-sel baru, laju kematian mengalami percepatan menjadi eksponensial bergantung pada spesiesnya, semua sel mati dalam waktu beberapa hari atau beberapa bulan (Pelczar, 2005). Penyebab utama kematian adalah autolisis sel dan penurunan energi seluler. Beberapa bakteri hanya mampu bertahan beberapa jam selama fase statis dan akhirnya masuk ke dalam fase kematian, sementara itu beberapa bakteri

hanya mampu bertahan sampai harian dan mingguan pada fase statis dan akhirnya masuk ke fase kematian. Beberapa bakteri bahkan mampu bertahan sampai puluhan tahun sebelum mati, yaitu dengan mengubah sel menjadi spora (Purwoko, 2007).

Diantara keempat fase pertumbuhan tersebut, yang optimal dalam mendegradasi logam berat timbal adalah fase logaritma atau eksponensial.

2.12 Peremajaan Campuran Mikroba (*Pseudomonas pseudomallei* dan *Pseudomonas aeruginosa*)

Peremajaan dengan cara memindahkan atau memperbarui biakan mikroba dari biakan lama ke medium tumbuh yang baru secara berkala, misalnya sebulan atau dua bulan sekali. Teknik ini merupakan cara paling tradisional yang digunakan peneliti untuk memelihara koleksi isolat mikroba di laboratorium. Cara ini juga digunakan untuk penyimpanan dan pemeliharaan isolat mikroba yang belum diketahui cara penyimpanan jangka panjangnya (Machmud, 2001).

2.13 Spektroskopi Serapan Atom (SSA)

Peristiwa serapan atom pertama kali di amati oleh Fraunhofer, ketika mengamati garis-garis hitam pada spektrum matahari. Spektroskopi serapan atom pertama kali digunakan pada tahun 1995 oleh Walsh. Sesudah itu tidak kurang dari 65 unsur diteliti dan dapat dianalisis dengan cara tersebut. Spektroskopi serapan atom digunakan untuk analisis kuantitatif unsur-unsur logam dalam jumlah sedikit (*trace*) dan sangat sedikit (*ultratrace*). Cara analisis ini memberikan kadar total unsur logam dalam suatu sampel dan tidak tergantung pada bentuk molekul dari logam dalam sampel tersebut. Cara ini cocok untuk analisis kelumit logam karena mempunyai kepekaan yang tinggi (batas deteksi

kurang dari 1 ppm), pelaksanaannya relatif sederhana, dan interferensinya sedikit. Spektroskopi serapan atom didasarkan pada penyerapan energi sinar oleh atom-atom netral, unsur yang diserap biasanya sinar tampak atau ultraviolet. Dalam garis besarnya prinsip spektroskopi serapan atom sama saja dengan spektrofotometri sinar tampak dan ultraviolet. Perbedaan terletak pada bentuk spektrum, cara pengerjaan sampel dan peralatannya (Rohman, 2007).

Pada absorpsi, jika pada populasi atom yang berada pada tingkat dasar dilewatkan suatu berkas radiasi maka akan terjadi penyerapan energi radiasi oleh atom-atom tersebut. Frekwensi radiasi yang paling banyak diserap adalah frekwensi radiasi resonan dan bersifat karakteristik untuk tiap unsur. Pengurangan intensitasnya sebanding dengan jumlah atom yang berada pada tingkat dasar. Metode spektrofotometri serapan atom mendasarkan pada prinsip absorpsi cahaya oleh atom. Atom-atom akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu, tergantung pada sifat unsurnya. Cahaya pada panjang gelombang ini mempunyai cukup energi untuk mengubah tingkat elektronik suatu atom yang mana transisi elektronik suatu atom bersifat spesifik. Dengan menyerap satu energi, maka atom akan memperoleh energi sehingga suatu atom pada keadaan dasar dapat ditingkatkan energinya ke tingkat eksitasi (Rohman, 2007).