

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pencemaran Air

Air merupakan sumber utama dari kebutuhan manusia, akan tetapi air juga dapat menjadi sumber penyakit yang dapat membahayakan kesehatan, hal ini dikarenakan oleh polusi dan air yang telah tercemar. Definisi pencemaran air menurut Surat Keputusan Menteri Negara Kependudukan dan Lingkungan Hidup Nomor: KEP-02/MENKLH/I/1988 adalah masuknya atau dimasukkannya makhluk hidup, zat, energi, dan atau komponen lain ke dalam air dan atau berubahnya tatanan air oleh kegiatan manusia, sehingga kualitas air turun sampai ke tingkat tertentu yang menyebabkan air tidak berfungsi lagi sesuai dengan peruntukannya (Achmad, 2004). Sedangkan menurut Effendi, (2003) air dinyatakan tercemar bila terdapat gangguan pada mutu air sehingga air tidak dapat digunakan sesuai dengan tujuan penggunaannya. Air tercemar karena masuknya makhluk hidup, zat, atau energi ke dalam air oleh karena kegiatan manusia sehingga kualitas air turun sampai ke tingkat tertentu yang menyebabkan air tidak berfungsi lagi sesuai dengan manfaatnya.

Menurut Fardiaz (1992), ada beberapa indikator air lingkungan telah tercemar yaitu adanya perubahan atau tanda yang dapat teramati secara fisik, kimiawi dan biologis, digolongkan menjadi :

1. Pengamatan secara fisik, yaitu pengamatan pencemaran air berdasarkan tingkat kejernihan air (kekeruhan), perubahan suhu, warna, bau dan rasa.

2. Pengamatan secara kimiawi, yaitu pengamatan pencemaran air berdasarkan zat kimia yang terlarut, perubahan pH
3. Pengamatan secara biologis, yaitu pengamatan pencemaran air berdasarkan mikroorganisme yang ada dalam air, terutama ada tidaknya bakteri patogen.

Logam berat merupakan satu dari bahan pencemar yang paling sering ditemukan di perairan akibat industri dan limbah perkotaan (Fitriyah, 2007). Keberadaan logam berat sangat berbahaya bagi organisme. Oleh karena itu, keberadaan logam berat dalam lingkungan akan membahayakan dan mengawatirkan.

2.1.1 Logam Berat di Perairan

Air merupakan zat yang penting bagi kehidupan seluruh makhluk hidup. Apabila suatu perairan telah tercemar oleh logam-logam berbahaya maka akan mengakibatkan hal-hal yang buruk bagi kehidupan. Pencemaran oleh logam berat beracun di lingkungan perairan disebabkan terutama oleh meningkatnya skala kegiatan sector perindustrian yang tidak disertai proses penanggulangan air limbah yang dihasilkan (Darmono, 2001).

Faktor-faktor yang mempengaruhi tingkat toksisitas logam berat antara lain suhu, salinitas, pH dan kesadahan. Penurunan pH dan salinitas perairan menyebabkan toksisitas logam berat semakin besar. Peningkatan suhu menyebabkan toksisitas logam berat meningkat. Sedangkan kesadahan yang tinggi dapat mengurangi toksisitas logam berat, karena logam berat dalam air dengan kesadahan tinggi membentuk senyawa kompleks yang mengendap dalam air (Hutagalung, 1984).

Logam berat masuk kedalam perairan melalui air hujan, aliran air permukaan, erosi korofikasi batuan mineral, dan berbagai kegiatan manusia seperti aktivitas industry, pertambangan, pengolahan atau penggunaan logam dan bahan yang mengandung logam. Kelarutan logam berat dalam air bisa berubah menjadi lebih tinggi atau lebih rendah, tergantung kondisi lingkungan perairan. Pada perairan yang kekurangan oksigen akibat tingginya konsentrasi bahan organik, kelarutan beberapa jenis logam seperti Zn, Cd, Pb dan Hg semakin rendah dan lebih mudah mengendap. Logam berat yang masuk ke sistem perairan baik di sungai maupun lautan akan dipindahkan dari badan airnya melalui tiga proses yaitu pengendapan, adsorbs dan absorbs oleh organisme-organisme perairan (Zubayr, 2009 *dalam* Muslimah, 2013).

Sumber-sumber logam alamiah yang masuk ke dalam badan perairan bisa berupa pengikisan dari batu mineral yang banyak di sekitar perairan. Di samping itu, partikel-partikel logam yang ada di udara dikarenakan oleh hujan, juga dapat menjadi sumber logam di badan perairan. Umumnya logam-logam yang terdapat dalam perairan dalam bentuk persenyawaan, seperti senyawa hidroksida, senyawa oksida, senyawa karbonat dan senyawa sulfida. Kenakan pH pada badan perairan biasanya akan diikuti dengan semakin kecilnya kelarutan dari senyawa-senyawa logam tersebut. Umumnya pada pH yang semakin tinggi maka kestabilan akan bergeser dari karbonat ke hidroksida. Hidroksida-hidroksida ini mudah sekali membentuk ikatan permukaan dengan partikel-partikel yang terdapat pada badan perairan. Lama-kelamaan persenyawaan yang terjadi antara hidroksida dengan

partikel-partikel yang ada di badan perairan akan mengendap dan membentuk lumpur (Palar, 1994).

2.2 Logam Berat

Logam berat hampir selalu ada dalam setiap pencemaran oleh limbah industry. Seperti industri baterai kendaraan bermotor, industri cat, dan pestisida. Secara alamiah unsur logam berat terdapat dalam perairan, namun dalam jumlah yang sangat rendah. Kadar ini akan meningkat bila limbah yang banyak mengandung unsur logam berat masuk ke dalam lingkungan perairan (Hutagulung dan Razak, 1982).

Logam berat adalah logam yang mempunyai densitas $> 5 \text{ gr/cm}^3$. Sifat dari logam berat yaitu beracun, terakumulasi dalam tubuh organisme, sulit mengalami degradasi. Pada konsentrasi tinggi, logam berat bersifat toksik karena sukar terurai. Apabila logam berat masuk perairan, akan terakumulasi terutama dalam sedimen dan terikat sebagai senyawa organik dan anorganik (Gadd dalam Kurniasari, 2005).

Logam berat memiliki kriteria yang sama dengan golongan logam yang lain. Perbedaannya terletak dari pengaruh yang dihasilkan bila logam berat ini berikatan atau masuk kedalam tubuh organisme. Berbeda dengan logam biasa, logam berat biasanya menimbulkan efek-efek khusus pada mahluk hidup. Dapat dikatakan semua logam berat dapat menjadi bahan racun yang akan meracuni tubuh mahluk hidup. Contohnya adalah air raksa/merkuri (Hg), kadmium (Cd), timbal (Pb), dan kromium (Cr). Logam-logam tersebut belum diketahui manfaatnya dalam tubuh sehingga

bersifat racun dan disebut dengan logam nonesensial. Namun, meski semua logam berat dapat mengakibatkan keracunan atas makhluk hidup, sebagian dari logam-logam tersebut tetap dibutuhkan oleh makhluk hidup meskipun dalam jumlah yang sangat sedikit dan jika tidak terpenuhi dan berlebihan akan berakibat fatal terhadap kelangsungan hidup organisme. Contohnya adalah tembaga (Cu), Zink (Zn), Nikel (Ni), Besi (Fe), dan Magnesium (Mg), logam-logam ini disebut dengan logam esensial (Palar, 1994).

2.2.1 Timbal (Pb)

Timbal merupakan satu diantara logam berat yang paling sering ditemukan di lingkungan dan paling sering digunakan dalam berbagai kegiatan industri, misalnya sebagai zat tambahan bahan bakar, pigmen timbal dalam cat yang merupakan penyebab utama peningkatan kadar Pb di lingkungan (Lu, 1995).

Timbal atau dalam keseharian lebih dikenal dengan nama timah hitam, dalam bahasa ilmiahnya dinamakan *plumbum*, dan logam ini disimbolkan dengan *Pb*. Pb adalah logam lunak berwarna abu-abu kebiruan mengkilat serta mudah dimurnikan dari pertambangan (Widowati dkk, 2008). Logam ini termasuk ke dalam kelompok logam-logam golongan IV-A pada Tabel Periodik unsur kimia. Mempunyai nomor atom (NA) 82 dengan bobot atau berat atom (BA) 207,2 (Palar, 1994).

Logam timbal atau Pb mempunyai sifat-sifat yang khusus seperti berikut (Palar, 1994):

- 1) Merupakan logam yang lunak, sehingga dapat dipotong dengan menggunakan pisau atau dengan tangan dan dapat dibentuk dengan mudah.
- 2) Merupakan logam yang tahan terhadap peristiwa korosi atau karat, sehingga logam timbal sering digunakan sebagai bahan *coating*.
- 3) Mempunyai titik lebur rendah, hanya 327,5 derajat °C.
- 4) Mempunyai kerapatan yang lebih besar dibandingkan dengan logam-logam biasa, kecuali emas dan merkuri.
- 5) Merupakan penghantar listrik yang tidak baik.

Pb merupakan satu diantara logam berat yang sangat bermanfaat untuk kegiatan manusia. Akan tetapi, keberadaan Pb di lingkungan akan sangat membahayakan. Menurut Sunu (2001), Pb bersifat toksik terhadap manusia, yang bisa berasal dari tindakan mengkonsumsi makanan, minuman, atau melalui inhalasi dari udara, debu yang tercemar Pb, kontak lewat kulit, mata, dan parenteral. Pb yang diabsorpsi oleh tubuh akan mengikat gugus aktif dari enzim ALAD (*Amino Levulinic Acid Dehidratase*), dimana enzim ini berfungsi pada sintesa sel darah merah. Adanya unsur Pb akan mengganggu kerja enzim ini sehingga sintesa sel darah merah menjadi terganggu. Pada jaringan dan atau organ tubuh, logam Pb akan terakumulasi pada tulang baik melalui udara maupun makanan ataupun minuman, karena logam ini dalam bentuk ion (Pb^{2+}) mampu menggantikan keberadaan ion Ca^{2+} (kalsium) yang terdapat pada jaringan tulang. Tulang berfungsi sebagai tempat pengumpulan Pb karena sifat-sifat ion Pb^{2+} yang hamper sama dengan dengan Ca^{2+} (Fardiaz, 1992).

Selain itu, Timbal dapat menyebabkan keracunan kronis dan akut. Keracunan Pb kronis ditandai dengan depresi, sakit kepala, sulit berkonsentrasi, daya ingat terganggu, dan sulit tidur. Secara umum daya racun timbal yang akut pada manusia menyebabkan kerusakan hebat pada ginjal, sistem reproduksi, hati, kelainan fungsi otak (Sinsin,2008), anemia berat, bahkan dapat terjadi kematian dalam waktu 1-2 hari (Saparinto dan Hidayati 2006).

Timbal bersifat kumulatif. Mekanisme toksisitas Pb berdasarkan organ yang dipengaruhi adalah (Widowati *et al.* 2008):

1. Sistem haemopoitik; logam Pb menghambat sistem pembentukan hemoglobin (Hb) sehingga menyebabkan anemia.
2. Sistem saraf; logam Pb bisa menimbulkan kerusakan otak dengan gejala epilepsi, halusinasi, kerusakan otak besar, dan delirium.
3. Sistem urinaria; logam Pb bisa menyebabkan lesi tubulus proksimalis, *loop of Henle*, serta menyebabkan aminosiduria.
4. Sistem gastro-intestinal; logam Pb menyebabkan kolik dan konstipasi.
5. Sistem kardiovaskuler; logam Pb bisa menyebabkan peningkatan permeabilitas pembuluh darah.
6. Sistem reproduksi berpengaruh terutama terhadap gametotoksitas atau janin belum lahir menjadi peka terhadap Pb. Ibu hamil yang terkontaminasi Pb bisa mengalami keguguran, tidak berkembangnya sel otak embrio, kematian janin waktu lahir, serta hipospermia dan teratospermia pada pria.
7. Sistem endokrin; logam Pb mengakibatkan gangguan fungsi tiroid dan fungsi adrenal.

8. Bersifat karsinogenik dalam dosis tinggi

Karena efek timbal (Pb) yang sangat berbahaya, keberadaan Pb dalam lingkungan akan sangat menghawatirkan. Oleh karena itu, keberadaan Pb dalam lingkungan harus dikurangi atau bahkan dihilangkan.

2.3 Biosorpsi

Logam berat dapat diakumulasikan oleh sel mikroba hidup dengan berbagai cara baik fisikokimia maupun biologi (Suhendrayatna, 2001). Jika akumulasi ion-ion logam tersebut tergantung pada fenomena akumulasi sel maka direferensikan sebagai bioakumulasi. Sedangkan fenomena yang memanfaatkan adsorpsi sel permukaan sel disebut biosorpsi. Namun kadang-kadang kedua fenomena direferensikan sebagai akumulasi (Marwati, 2005).

Biosorpsi merupakan suatu teknologi untuk menghilangkan ion logam dan polutan dari limbah dengan menggunakan biomassa sebagai adsorben (Arief dkk, 2008). Sementara Volesky and Holan (1995) mengemukakan bahwa biosorpsi adalah pemindahan atau pemulihan ion logam dari suatu larutan menggunakan biosorben prokariot atau eukariot baik yang masih hidup maupun yang sudah mati.

Bakteri menjadi satu diantara biosorben yang sering digunakan. Umumnya dapat memproduksi polimer ekstraseluler yang sebagian besar komposisinya terdiri dari karbohidrat, polisakarida, asam nukleat dan asam lemak. Komponen ekstraseluler tersebut dapat menangkap ion-ion logam toksik melalui berbagai reaksi kimia seperti kompleksasi, dinding kovalen, dan *ion exchange* (Gadd, 1990; Roane dan Papper, 2000 dalam Kurniasari,).

Menurut Atlas dan Bartha (1995), komponen-komponen ekstraseluler atau liga-ligan yang terikat pada dinding sel dapat menangkap logam toksik dan masuk melewati dinding sel dengan lambat. Logam selanjutnya di lepas ke dalam sel dan bergabung dalam lintasan biokimia atau terperangkap dalam bentuk inaktif yang berikatan kompleks dengan ligan-ligan afinitas tinggi.

Penyerapan logam berat oleh mikroorganisme terjadi dalam dua tahap. Tahap awal berupa penyerapan pasif yang berlangsung cepat, diikuti oleh penyerapan aktif yang berlangsung lambat. Tingkat selular penyerapan pasif berawal ketika logam berinteraksi dengan dinding sel. Dinding sel mengandung enzim ekstraseluler yang berfungsi dalam penyerapan unsur-unsur yang dibutuhkan sel. Pada penyerapan aktif, logam berat tersebut ditransportasikan melalui membrane sel menuju sitoplasma (Ting dalam Purbonegoro, 2008).

Proses masuknya logam berat melintasi membrane sel dapat terjadi jika logam berat tersebut bersifat lipofilik (mudah larut dalam lipid atau lemak) (Lu, 1995). Lapisan membrane sel terbentuk dari dua lapisan lipid (*lipid bilayer*). Logam berat yang bersifat lipofilik tersebut akan larut dalam lipid dan berikatan dengan protein sel (Darmono, 1995). Membran sel bersifat sukar dilalui (*impermeable*) oleh ion-ion yaitu natrium (Na^+) dan kalium (K^+), serta ion-ion logam berat seperti tembaga (Cu), seng (Zn), dan cadmium (Cd). Untuk dapat melintasi membrane sel, ion logam berat tersebut mengalami proses difusi terfasilitasi (*facilitated diffusion*). Dalam proses tersebut, ion logam berat mendapat bantuan suatu enzim di dalam membran sel yang disebut permease. Enzim permease adalah suatu protein membrane sel yang berikatan dengan ion

logam berat sehingga ion logam berat tersebut dapat melintasi lapisan lipid bilayer membrane sel (Kimball, 1998).

Keuntungan penggunaan proses biosorpsi adalah biaya yang relatif murah, ramah lingkungan, karena proses biosorpsi meminimalisasi pembentukan lumpur, dapat diaplikasikan pada konsentrasi limbah yang rendah serta kemudahan proses regenerasinya (Ashraf, 2010). Lebih lanjut Gazso (2001) menambahkan keuntungan pemanfaatan mikroorganisme sebagai biosorben adalah biaya operasional rendah, efisiensi dan kapasitas pengikatan logam tinggi, lumpur yang dihasilkan minimum, memiliki mekanisme desorpsi yang memungkinkan recovery logam, memiliki mekanisme regenerasi sehingga dapat digunakan kembali, bahan bakunya banyak tersedia dan mudah didapat, serta tidak memerlukan tambahan nutrisi jika menggunakan mikroba yang sudah mati.

2.4 Biosorpsi dengan *Enterobacter agglomerans*

Bakteri tersebar luas di permukaan bumi, atmosfer dan lingkungan. Bakteri ada yang menguntungkan dan yang merugikan, salah satunya bakteri *Enterobacter agglomerans* dalam penelitian ini berperan penting dalam lingkungan kita karena bakteri dapat mengabsorpsi limbah cair yang mengandung logam berat. Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa Isolat bakteri *Enterobacter agglomerans* yang dikombinasikan dengan *Pseudomonas pseudomallei* mampu mengakumulasi logam Pb sebesar 71.32%. Selain itu, *E. Agglomerans* diketahui juga memiliki daya tumbuh yang baik pada konsentrasi logam berat yang tinggi pada perairan. Berdasarkan hasil penelitian Yani dan Kurniasari (2008) bakteri *Enterobacter agglomerans* yang dikombinasikan

dengan bakteri *Pseudomonas pseudomallei* mampu tumbuh pada konsentrasi logam berat Zn 2000 ppm, Pb 3000 ppm, Fe 4000 ppm dan Hg 50 ppm sebesar 10^6 - 10^7 cfu/lml. Isolat masih mampu tumbuh hingga konsentrasi 8000 ppm Zn, Pb dan Fe, serta pada konsentrasi Hg 150 ppm (Yani dan Kurniasari, 2008).

Pada konsentrasi 100 ppm Pb, PPEA (*Pseudomonas pseudomallei* + *Enterobacter agglomerans*) memiliki jumlah sel mencapai 8.1×10^{10} sel/ml. Pada konsentrasi Pb diatas 5000 ppm, isolat tidak mengalami pertumbuhan yang signifikan dan tidak mampu tumbuh sama sekali pada konsentrasi 1000 ppm Pb. Logam Pb dapat menyebabkan toksik pada mikroorganisme, karena mampu menempati ion-ion logam esensial yang digunakan untuk metabolisme sel. Logam Pb dapat berikatan dengan gugus sulfidril (-SH), dan mengakibatkan kerusakan pada protein (Yani dan Kurniasari, 2010).

Dengan memanfaatkan bakteri *Enterobacter agglomerans* tersebut, diharapkan dapat mencegah terjadinya pencemaran lingkungan. Islam juga menganjurkan manusia untuk mengkaji sumberdaya hewan seperti mikroba atau hewan yang ukurannya sangat kecil dan tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. Allah SWT berfirman dalam Q.S Al-Baqarah ayat 26.

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ ءَامَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ

Artinya: “*Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, Maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang kafir mengatakan: "Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?." dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik*”(Q.S. Al-baqarah: 26).

Adapun hewan yang melebihi nyamuk atau yang lebih kecil dibanding nyamuk antara lain yaitu seperti mikroba. Mikroba walaupun berukuran sangat kecil dan umumnya sangat dibenci orang karena merugikan manusia. Akan tetapi, segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT di bumi ini tidak sia-sia, seperti halnya bakteri.

2.5 *Enterobacter agglomerans*

2.5.1 Klasifikasi *Enterobacter agglomerans*

Kingdom Bacteria

Filum Proteobacteria

Klas Gamma Proteobacteria

Ordo Enterobacteriales

Family Enterobacteriaceae

Genus *Enterobacter*

Spesies *Enterobacter agglomerans*

(Brenner *et al*, 2005).

2.5.2 Deskripsi *Enterobacter agglomerans*

Enterobacter adalah organisme motil yang mudah tumbuh pada media yang digunakan untuk isolasi bakteri enterik. Kebanyakan dari isolat meragikan laktosa dengan cepat dan memberikan warna pada koloni. Dengan perkecualian pada *E. agglomerans*. (Brenner *et al*, 2005).

Enterobacter agglomerans merupakan bakteri gram negatif, tidak membentuk spora, fakultatif anarobik, memiliki ukuran lebar 0.6-1 um dan panjang 1.2-3.0 um. Sel bersifat motil, dapat tumbuh pada suhu antara 20-30 °C, bundar berwarna putih kekuningan (Barrow and Feltham, 1993). Selain itu, *Enterobacter agglomerans* merupakan bakteri patogen oportunistik, menyebabkan luka infeksi, bakteremia, dan infeksi saluran kemih., *Enterobacter agglomerans* sering terlibat dalam infeksi daripada *Enterobacter aerogenes* dan *Enterobacter cloacae* (Sharma, 2012).

2.6 Struktur Sel Bakteri

Pada bakteri gram negatif dinding sel terdiri atas beberapa lapis peptidoglikan dan membrane luar. Karena bagian terluar dinding sel bakteri gram negatif adalah membran luar, maka pewarnaan gram menghasilkan warna pink. Pink merupakan warna safranin yang mewarnai membran luar (Purwoko, 2007).

1. Peptidoglikan

Dinding sel bakteri cukup kaku, karena mengandung peptidoglikan. Peptidoglikan terdiri atas polimer selang-seling N-asetilglukosamin (GlcNac atau G) dan N-asetilmuramat (MurNac atau M).

2. Komposisi Khusus Dinding Sel Bakteri Gram Negatif

Dinding sel bakteri gram negatif mengandung tiga komponen yang terletak pada lapisan luar peptidoglikan: lipoprotein, membran luar dan lipopolisakarida (Jawetz *et al*, 2005).

a. Lipoprotein

Molekul lipoprotein yang tidak biasa ada pada tautan silang dengan membran luar dan lapisan peptidoglikan. Lipoprotein mengandung 57 asam amino, yang merupakan ulangan sekuen 15 asam amino; yang bertaut dengan ikatan peptide dengan residu diaminopimelic acid dari sisi tetrapeptida rantai peptidoglikan. Komponen lipid terdiri dari *diglyseride thioether* yang terikat pada sistein terminal, terletak pada membran luar. Lipoprotein merupakan protein yang mendominasi sel gram negative. Fungsi lipoprotein adalah menstabilkan membran luar dan menjadi perlekatan pada lapisan peptidoglikan.

b. Membran Luar

Membran luar merupakan struktur dua lapis; komposisi lebaran/lapisan dalamnya mirip membran sitoplasma, hanya saja fosfolipid pada lapisan luarnya diganti dengan molekul *lipopolysaccharide* (LPS). Sehingga lapisan dari membran ini asimetris, dan struktur dua lapisnya tidak sama dibanding membran biologi lain yang simetris misalnya membran sitoplasma.

Kemampuan membran luar untuk mengeluarkan molekul hidrofobik merupakan ciri yang tidak biasa pada membran biologis dan merupakan perlindungan bagi sel (pada bakteri enteric) terhadap garam empedu. Karena sifat lipidnya, membran luar diharapkan dapat mengeluarkan molekul hidrofilik dengan

baik. Membran memiliki saluran khusus, yang terdiri dari molekul protein yang disebut **porin**, yang dapat meloloskan difusi pasif dari beberapa molekul hidrofilik dengan berat rendah misalnya gula, asam amino dan ion tertentu.

c. Lipopolisakarida (LPS)

LPS berada di bagian luar, terdiri atas 3 bagian, yaitu lipid A, core, dan oligosakarida atau disebut juga antigen O yang berperan untuk patogenisasi. Salah satu protein yang terdapat dalam membran luar adalah lipoprotein murein. Lipoprotein murein adalah lemak yang terikat dengan protein (bukan gliserol fosfat) dan peptidoglikan, sehingga lipoprotein murein merupakan pengikat membran luar supaya tidak terlepas dari peptidoglikan.

Bagian integral dari dinding sel bakteri gram negatif terdapat endotoksin. Endotoksin adalah toksin pada bakteri gram negatif berupa lipopolisakarida pada membran luar dari dinding sel yang pada keadaan tertentu bersifat toksik pada inang tertentu. Lipopolisakarida ini disebut endotoksin karena terikat pada bakteri dan dilepaskan saat mikroorganisme mengalami lisis atau pecahnya sel. Beberapa juga dilepaskan saat penggandaan bakteri. Komponen toksik pada lipopolisakarida adalah bagian lipid atau lemak, yang disebut lipid A. Komponen lipid A ini bukanlah struktur makromolekuler tunggal melainkan terdiri dari susunan kompleks dari residu-residu lipid. Endotoksin hanya ada pada bakteri gram negatif berbentuk basil/batang dan kokus dan tidak secara aktif dilepaskan dari sel serta dapat menimbulkan demam, syok, dan gejala lainnya (Jawetz *et al*, 2005).

2.7 Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan pada bakteri didefinisikan sebagai penambahan berat sel. Karena berat sel relatif sama pada setiap siklus sel, maka pertumbuhan dapat didefinisikan sebagai penambahan jumlah sel (Purwoko, 2007).

2.7.1 Fase Pertumbuhan Bakteri

Fase dalam pertumbuhan bakteri telah dikenal luas oleh ahli mikrobiologi. Terdapat 4 fase pertumbuhan bakteri ketika ditumbuhkan pada kultur curah (*batch culture*), yaitu fase adaptasi (*lag phase*), fase perbanyakan (*exponential phase*), fase statis (*stationer phase*), dan fase kematian (*death phase*) (Purwoko, 2007).

a. Fase Adaptasi

Ketika sel dalam fase statis dipindahkan ke media baru, sel akan melakukan proses adaptasi. Proses adaptasi meliputi sintesis enzim baru yang sesuai dengan medianyadan pemulihan terhadap metabolit yang bersifat toksik (misalnya asam, alcohol dan basa) pada waktu di media lama (Purwoko, 2007).

Pada fase adaptasi tidak dijumpai penambahan jumlah sel.akan tetapi, terjadi penambahan volume sel, karena pada fase statis biasanya sel melakukan pengecilan ukuran sel. Akan tetapi, fase adaptasi dapat dihindari (berlangsung ke fase perbanyakan), jika sel di media lama dalam kondisi fase perbanyakan dan dipindah ke media baru yang sama komposisinya dengan media lama (Purwoko, 2007).

a. Fase Perbanyakan

Setelah sel memperoleh kondisi ideal dalam pertumbuhannya,sel melakukan pembelahan. Karena pembelahan sel merupakan persamaan

eksponensial, maka fase itu disebut juga fase eksponensial. Pada fase perbanyakan jumlah sel meningkat sampai pada batas tertentu (tidak terdapat penambahan bersih jumlah sel), sehingga memasuki fase statis. Pada fase perbanyakan sel melakukan konsumsi nutrient dan proses fisiologis lainnya. Pada fase itu produk senyawa yang diinginkan oleh manusia terbentuk, karena senyawa tersebut merupakan senyawa yang diekskresi oleh sel bakteri. Beberapa senyawa yang diinginkan pada fase perbanyakan adalah etanol, asam laktat dan asam organik lainnya, asam amino, asam lemak dan lainnya (Purwoko, 2007).

b. Fase Statis

Alasan bakteri tidak melakukan pembelahan sel pada fase statis bermacam-macam. Beberapa alasan yang dapat dikemukakan adalah (Purwoko, 2007):

- 1) Nutrient habis
- 2) Akumulasi metabolit toksik (misalnya alcohol, asam dan basa)
- 3) Penurunan kadar oksigen, dan
- 4) Penurunan ketersediaan air

Untuk kasus kedua dijumpai pada fermentasi alcohol dan asam laktat, untuk kasus ketiga dijumpai pada bakteri aerob, dan untuk kasus keempat dijumpai pada fungi. Pada fase statis, biasanya sel melakukan adaptasi terhadap kondisi yang kurang menguntungkan. Adaptasi itu dapat menghasilkan senyawa yang diinginkan manusia misalnya antibiotika dan antioksidan.

c. Fase Kematian

Penyebab utama kematian adalah autolysis sel dan penurunan energy seluler. Beberapa bakteri hanya mampu bertahan beberapa jam selama fase statis dan akhirnya masuk ke fase kematian, sementara itu ada bakteri yang mampu bertahan sampai harian bahkan 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).

2.8 Perhitungan Bakteri

Menurut Purwoko (2007), ada 2 macam pengukuran yang digunakan untuk menghitung jumlah sel mikroba, yaitu perhitungan jumlah sel dan perhitungan massa sel. Perhitungan jumlah sel biasanya dilakukan untuk organisme bersel tunggal, sedangkan perhitungan massa sel dapat dilakukan tidak hanya bagi organisme bersel tunggal tetapi juga untuk organisme berfilamen seperti jamur. Ada beberapa jenis perhitungan jumlah sel dan massa sel, yaitu:

a. Perhitungan jumlah sel

Ada beberapa cara seperti perhitungan angka lempeng total (TPC) dan perhitungan mikroskopik langsung atau secara elektronis dengan bantuan alat yang disebut penghitung *coulter*. Perhitungan mikroskopik langsung memiliki keuntungan pelaksanaannya cepat dan tidak memerlukan banyak peralatan. Sedangkan kelemahannya adalah tidak dapat membedakan sel yang hidup dengan sel yang mati dan sulit untuk menghitung sel yang ukurannya sangat kecil.

b. Perhitungan massa sel

Ada banyak metode perhitungan massa sel, tetapi yang paling umum digunakan adalah pengukuran kekeruhan suspensi sel. Perhitungan kekeruhan adalah cara yang cepat dan efisien untuk menentukan jumlah bakteri dalam media cair. Kekeruhan dapat dihitung dengan menggunakan alat *colorimeter* atau *spectrophotometer*. Alat-alat tersebut memiliki sumber cahaya dan detektor cahaya (*photocell*) yang dipisahkan oleh sampel. Larutan keruh seperti kultur sel menghalangi cahaya yang menembus sampel, jadi hanya sedikit cahaya yang sampai ke *photocell*. Perhitungan kekeruhan dapat digunakan selama sel dapat menghadang cahaya, sejalan dengan meningkatnya jumlah sel dimana setiap sel menutupi sel yang lain dari cahaya, maka perhitungan ini tidak akurat lagi (Purwoko, 2007).

Perhitungan kekeruhan menggunakan spektrofotometer dapat dilakukan dengan mengatur absorbansi 0 %, caranya menggunakan sampel dari media yang tidak diberi bakteri. Selanjutnya masukkan sampel yang ingin dihitung jumlah bakterinya, satuan hasil pembacaannya adalah absorbansi atau *Optical Density* (OD). Panjang gelombang 420 nm digunakan untuk larutan yang warnanya jernih, 540 nm untuk larutan yang warnanya kuning terang, dan 600 – 625 untuk larutan yang warnanya kuning sampai coklat (Febriyansari, 2008).

2.8.1 Spektrofotometri

Spektrofotometri sesuai dengan namanya adalah alat yang terdiri dari spectrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dari spectrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas

cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Jadi spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Kelebihan spektrofotometer dibandingkan fotometer adalah panjang gelombang dari sinar putih dapat lebih terseleksi dan ini diperoleh dengan alat pengurai seperti prisma, grating ataupun celah optis. Pada fotometer filter, sinar dengan panjang gelombang yang diinginkan diperoleh dengan berbagai filter dari berbagai warna yang mempunyai spesifikasi melewatkan trayek panjang gelombang tertentu. Pada fotometer filter, tidak mungkin diperoleh panjang gelombang yang benar-benar monokromatis, melainkan suatu trayek panjang gelombang 30-40 nm. Sedangkan pada spektrofotometer, panjang gelombang yang benar-benar terseleksi dapat diperoleh dengan bantuan alat pengurai cahaya seperti prisma. Suatu spektrofotometer tersusun dari sumber spektrum tampak yang kontinu, monokromator, sel pengabsorpsi untuk larutan sampel atau blanko dan suatu alat untuk mengukur perbedaan absorpsi antara sampel dan blanko ataupun pembanding (Khopkar, 1990).

1. Sumber

Sumber yang biasa digunakan pada spektroskopi absorpsi adalah lampu wolfram. Arus cahaya tergantung pada tegangan lampu, $i = K V^n$, i = arus cahaya, V = tegangan, n = eksponen (3-4 pada lampu wolfram), variasi tegangan masih dapat diterima 0,2% pada suatu sumber DC, misalnya baterai. Lampu hydrogen atau lampu deuterium digunakan untuk sumber pada daerah UV. Kebaikan lampu wolfram adalah energi radiasi yang dibebaskan tidak bervariasi pada berbagai

panjang gelombang. Untuk memperoleh tegangan yang stabil dapat digunakan transformator. Jika potensial tidak stabil, kita akan mendapatkan energi yang bervariasi. Untuk mengompensasi hal ini maka dilakukan pengukuran transmittan larutan sampel selalu disertai larutan pembanding (Khopkar, 1990).

2. Monokromator

Digunakan untuk memperoleh sumber, sinar yang monokromatis. Alatnya dapat berupa prisma ataupun grating. Untuk mengarahkan sinar monokromatis yang diinginkan dari hasil penguraian ini dapat digunakan celah. Jika celah posisinya tetap, maka prisma atau gratingnya yang dirotasikan untuk mendapatkan λ yang diinginkan. (Khopkar, 1990).

3. Sel absorpsi

Pada pengukuran di daerah tampak kuvet kaca atau kuvet kaca corex dapat digunakan, tetapi untuk pengukuran pada daerah UV kita harus menggunakan sel kuarsa karena gelas tidak tembus cahaya pada daerah ini. Umumnya tebal kuvetnya adalah 10 mm, tetapi yang lebih kecil ataupun yang lebih besar dapat digunakan. Sel yang biasa digunakan berbentuk persegi, tetapi bentuk silinder dapat juga digunakan. Kita harus menggunakan kuvet yang tertutup untuk pelarut organik. Sel yang baik adalah kuarsa atau gelas hasil leburan serta seragam keseluruhannya (Khopkar, 1990).

4. Detektor

Peranan detektor penerima adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang. Pada spektrofotometer, tabung pengganda elektron yang digunakan prinsip kerjanya telah diuraikan. (Khopkar, 1990).

Metode pengukuran menggunakan prinsip spektrofotometri adalah berdasarkan absorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu melalui suatu larutan yang mengandung kontaminan yang akan ditentukan konsentrasinya. Proses ini disebut “absorpsi spektrofotometri,” dan jika panjang gelombang yang digunakan adalah gelombang cahaya tampak, maka disebut sebagai “kolorimetri” karena memberikan warna. Selain gelombang cahaya tampak, spektrofotometri juga menggunakan panjang gelombang pada gelombang ultraviolet dan infra merah. Prinsip kerja dari metode ini adalah jumlah cahaya yang diabsorpsi oleh larutan sebanding dengan konsentrasi kontaminan dalam larutan. Prinsip ini dijabarkan dalam Hukum Beer-Lambert, yang menghubungkan antara absorbansi cahaya dengan konsentrasi pada suatu bahan yang mengabsorpsi, berdasarkan persamaan berikut (Breysse dan Lees, 2003 dalam Lestari, 2007):

$$A = \log (I_{in}/I_{out}) = (I/T) = a \times b \times c$$

Keterangan: A = Absorbance

I_{in} = Intensitas cahaya yang masuk

I_{out} = Intensitas cahaya yang keluar

T = Transmittansi

a = tetapan absorpsivitas molar

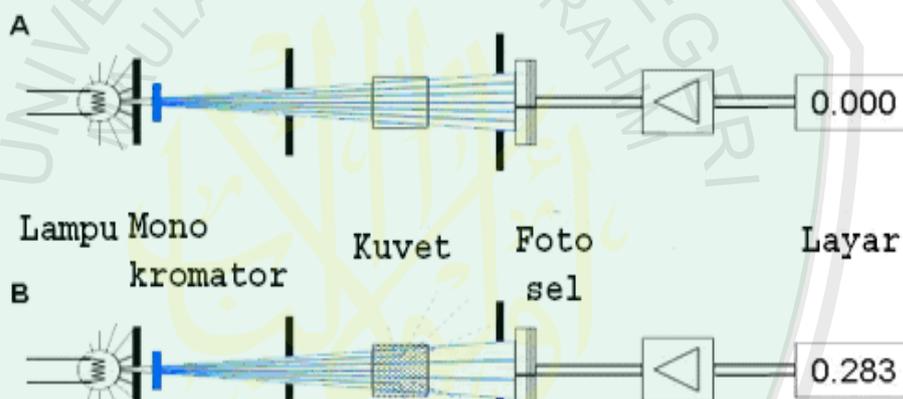
b = panjang jalur

c = konsentrasi pada suatu bahan yang mengabsorpsi

2.8.2 Cara Kerja Spektrofotometer

Cara kerja spektrofotometer secara singkat adalah sebagai berikut. Tempatkan larutan pembanding, misalnya blangko dalam sel pertama sedangkan larutan yang akan dianalisis pada sel kedua. Kemudian pilih fotosel yang cocok

200 nm-650 nm (650 nm-1100 nm) agar daerah λ yang diperlukan dapat terliputi. Dengan ruang fotosel dalam keadaan tertutup “no” galvanometer dengan menggunakan tombol *dark-current*. Pilih λ yang diinginkan, buka fotosel dan lewatkan berkas cahaya pada blangko dan “no” galvanometer didapat dengan memutar tombol sensitivitas. Dengan menggunakan tombol transmisi, kemudian atur besarnya pada 100%. Lewatkan berkas cahaya pada larutan sampel yang akan dianalisis. Skala absorbansi menunjukkan absorbansi larutan sampel (Khopkar, 1990).



Gambar 2.1 Sistem Kerja Spektrofotometer

2.9 Analisis Logam (Analisis Spektroskopi)

Logam yang terdeposit pada filter maupun cairan absorber, untuk selanjutnya dianalisis menggunakan metode spektroskopi. Salah satu spektroskopi yang paling banyak digunakan untuk analisis logam adalah *atomic absorption spectroscopy* (AAS) atau spektroskopi serapan atom (SSA). Pada metode ini elektron-elektron dari ion logam diatomisasi ke orbital yang lebih tinggi dengan cara mengabsorpsi sejumlah energi (misalnya energy cahaya pada panjang gelombang tertentu). Panjang gelombang ini khusus dan spesifik untuk transisi

elektron bagi unsur logam tertentu, sehingga setiap panjang gelombang hanya berkaitan dengan satu unsur logam. Oleh karena itu, teknik ini bersifat selektif untuk masing-masing logam. Jumlah energy yang diaplikasikan pada nyala dapat diukur, sehingga jumlah energy pada sisi lainnya dapat diketahui. Prinsip ini berdasarkan hukum Beer-Lambert, dan energy yang ditransmisikan ini sebanding dengan konsentrasi logam (Lestari, 2007).

2.9.1 Spektroskopi Serapan Atom (SSA)

Spektroskopi serapan atom pertama kali digunakan pada tahun 1955 oleh Wals. 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 sekelumit (*trace*) dan sangat kelumit (*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, dan sinar yang diserap biasanya sinar tampak atau ultraviolet. Dalam garis besarnya prinsip spektroskopi serapan atom sama saja dengan spektrofotometri sinar tampak dan ultraviolet. Perbedaannya terletak pada bentuk spektrum, cara pengerjaan sampel dan peralatannya (Gandjar dan Rohman, 2007).

2.9.2 Prinsip Kerja Spektroskopi Serapan Atom (SSA)

Prinsip dasar SSA adalah interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan sampel. SSA merupakan metode yang sangat tepat untuk analisis zat pada konsentrasi rendah. Teknik ini adalah teknik yang paling umum dipakai untuk analisis unsur. Teknik-teknik ini didasarkan pada emisi dan absorpsi dari uap atom. Komponen kunci pada metode SSA adalah sistem (alat) yang dipakai untuk menghasilkan uap atom dalam sampel (Khopkar, 1990).

Cara kerja SSA ini adalah berdasarkan atas penguapan larutan sampel, kemudian logam yang terkandung di dalamnya diubah menjadi atom bebas. Atom tersebut mengabsorpsi radiasi dari sumber cahaya yang dipancarkan dari lampu katoda (*Hollow Cathode Lamp*) yang mengandung unsur yang akan ditentukan. Banyaknya penyerapan radiasi kemudian diukur pada panjang gelombang tertentu menurut jenis logamnya (Darmono, 1995).

Apabila cahaya dengan panjang gelombang tertentu dilewatkan pada suatu sel yang mengandung atom-atom bebas yang bersangkutan maka sebagian cahaya tersebut akan diserap dan intensitas penyerapan akan berbanding lurus dengan banyaknya atom bebas logam yang berada dalam sel. Hubungan antara absorpsi dengan konsentrasi diturunkan dari (Day & Underwood, 2002) :

1. Hukum Lambert : Bila suatu sumber sinar monokromatik melewati medium transparan, maka intensitas sinar yang diteruskan berkurang dengan bertambahnya ketebalan medium yang mengabsorpsi
2. Hukum Beer : Intensitas sinar yang diteruskan berkurang secara eksponensial dengan bertambahnya konsentrasi spesi yang menyerap sinar tersebut.