

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Unsur Logam Berat Timbal (Pb)

2.1.1 Karakteristik Unsur Logam Berat Pb

Logam berat biasanya bernomor atom 22-29 dan periode 3 sampai 7 dalam susunan berkala unsur-unsur kimia. Beberapa unsur logam berat tersebut antara lain Hg, Pb, Cd, Cr, Zn dan Cu. Umumnya semua logam berat tersebar di seluruh permukaan bumi baik di tanah, air dan udara. Logam berat ini dapat berbentuk organik, anorganik terlarut atau terikat dalam suatu partikel (Harahap, 1991).

Timbal atau dalam keseharian lebih dikenal dengan nama timah hitam, dalam bahasa ilmiahnya dinamakan plumbum dan disimbolkan dengan Pb. Mempunyai nomor atom 82 dengan berat atom 207.2 (Palar, 2004). Logam Pb tersebar luas dibanding kebanyakan logam toksik lainnya dan secara alamiah terdapat pada batubatuan serta lapisan kerak bumi (Darmono, 1995). Timbal banyak digunakan dalam industri misalnya, sebagai zat tambahan bahan bakar, pigmen timbal dalam cat yang merupakan penyebab utama peningkatan kadar Pb di lingkungan (Lu, 1995). Selain itu, timbal merupakan salah satu logam berat yang sangat berbahaya bagi makhluk hidup karena bersifat karsinogenik, dapat menyebabkan mutasi, terurai dalam jangka waktu lama dan toksisitasnya tidak berubah (Brass dan Strauss, 1981).

2.1.2 Pencemaran Unsur Logam Berat Pb

Keberadaan logam berat di lingkungan dapat membahayakan makhluk hidup termasuk manusia. Masuknya Pb ke tubuh manusia melalui bahan makanan dari produk pertanian yang biasa dikonsumsi manusia seperti padi, teh dan sayur-sayuran. Logam berat tersebut dapat membahayakan apabila masuk ke sistem metabolisme dalam jumlah yang melebihi ambang batas. Selain itu, kadar logam berat dalam tanah dapat mencapai tingkat yang menyebabkan fitotoksitas dan gangguan fungsional terhadap komponen lingkungan lainnya. Fenomena ini dapat terjadi secara alami melalui proses geogenik dan pedogenesis maupun melalui proses antropogenik (Lacatusu *et al.*, 2000)



Gambar 1. Pencemaran limbah di lahan pertanian (Nugraha, 2012)

Unsur Pb terdapat di perairan baik secara alamiah maupun sebagai dampak dari aktivitas manusia, logam ini secara alami masuk ke perairan melalui pengkristalan Pb di udara dengan bantuan air hujan. Selain itu, proses korofikasi dari batuan mineral juga merupakan salah satu jalur masuknya sumber Pb ke perairan (Palar, 1994).

Air irigasi yang digunakan untuk kegiatan pertanian tidak terlepas dari unsur - unsur kimia yang terkandung di dalamnya, termasuk unsur Pb. Unsur Pb dihasilkan dari berbagai kegiatan, seperti kegiatan industri. Industri yang berpotensi sebagai sumber pencemaran unsur Pb adalah semua industri yang memakai Pb sebagai bahan baku maupun bahan penolong, misalnya industri pengecoran maupun pemurnian, industri baterai, industri bahan bakar, industri kabel serta industri kimia yang menggunakan bahan pewarna. Selain itu sumber Pb dapat berasal dari sisa pembakaran pada kendaraan bermotor dan proses penambangan (Yunita, 2011).

Sumber air irigasi yang mengandung unsur Pb pada kadar batas baku mutu air, yang digunakan untuk menyiram tanaman akan terserap ke dalam jaringan tanaman melalui akar dan stomata, yang selanjutnya akan masuk kedalam siklus rantai makanan, sehingga tersimpan di dalam tubuh tanaman. Manusia yang mengkonsumsi tanaman tersebut akan keracunan unsur timbal. Unsur Pb dapat

menyebabkan gangguan pada organ seperti gangguan neurologi, fungsi ginjal, sistem reproduksi, sistem *hemopoitik* (pembentukan darah) dan sistem saraf (Yunita, 2011).

2.1.3 Pencemaran Unsur Pb pada Tanaman

Tumbuhan dapat tercemar logam berat melalui penyerapan akar dari tanah atau melalui stomata daun dari udara. Faktor yang dapat mempengaruhi kadar timbal dalam tumbuhan yaitu jangka waktu kontak tumbuhan dengan timbal, kadar timbal dalam perairan, morfologi dan fisiologi serta jenis tumbuhan. Dua jalan masuknya timbal ke dalam tumbuhan yaitu melalui akar dan daun. Timbal setelah masuk ke tumbuhan akan diikat oleh membran sel, mitokondria dan kloroplas, sehingga menyebabkan kerusakan fisik. Kerusakan tersembunyi dapat berupa penurunan penyerapan air, pertumbuhan yang lambat, atau pembukaan stomata yang tidak sempurna (Hutagalung, 1982)

Kerusakan tanaman dapat terjadi karena adanya akumulasi bahan toksik dalam tubuh tumbuhan, perubahan pH, peningkatan atau penurunan aktivitas enzim, rendahnya kandungan asam askorbat di daun, tertekannya fotosintesis, peningkatan respirasi, produksi bahan kering rendah, perubahan permeabilitas, terganggunya keseimbangan air dan penurunan kesuburannya dalam waktu yang lama. Gangguan metabolisme berkembang menjadi kerusakan kronis dengan konsekuensi tak beraturan. Tumbuhan akan berkurang produktivitasnya dan kualitas hasilnya juga rendah (Sitompul dan Guritno, 1995).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pencemaran mengakibatkan menurunnya pertumbuhan dan produksi tanaman serta diikuti dengan gejala yang tampak (*visible symptoms*). Kerusakan tanaman karena pencemaran berawal dari tingkat biokimia (gangguan proses fotosintesis, respirasi, serta biosintesis protein dan lemak), selanjutnya tingkat ultrastruktural (disorganisasi membran sel), kemudian tingkat sel (dinding sel, mesofil, pecahnya inti sel) dan diakhiri dengan terlihatnya gejala pada jaringan daun seperti klorosis dan nekrosis (Malhotra dan Khan, 1984 dalam Treshow, 1989)

Tanaman yang tumbuh didaerah dengan tingkat pencemaran tinggi dapat mengalami berbagai gangguan pertumbuhan serta rawan akan berbagai penyakit,

antara lain klorosis, nekrosis, dan bintik hitam. Partikulat yang terdeposisi di permukaan tanaman dapat menghambat proses fotosintesis (Fatoba dan Emem, 2008). Tingginya kandungan Pb pada jaringan tumbuhan menyebabkan berkurangnya kadar klorofil daun sehingga proses fotosintesis terganggu, selanjutnya berakibat pada berkurangnya hasil produksi dari suatu tumbuhan (Gothberg, 2008).

2.1.4 Pencemaran Unsur Pb pada Limbah Tebu

Pemrosesan gula dari tebu menghasilkan limbah buangan atau hasil samping, antara lain ampas, blotong dan tetes. Ampas berasal dari tebu yang digiling dan digunakan sebagai bahan bakar ketel uap. Blotong atau *filter cake* adalah endapan dari nira kotor yang dipisah pada *rotary vacuum filter*, sedangkan tetes merupakan sisa sirup terakhir pengolahan yang telah dipisahkan gulanya melalui proses kristalisasi berulang kali sehingga tak mungkin lagi menghasilkan kristal.

Pengukuran pol dan nira atau produk gula yang lain dengan polarimeter memerlukan syarat antara lain adalah larutan filtrat yang diukur harus jernih dan tidak berwarna gelap. Persyaratan ini akan lebih ketat lagi untuk polarimeter visual yang mengandalkan mata pengukurnya. Larutan timbal asetat telah digunakan lebih dari satu abad yang lalu hingga kini untuk bahan penjernih, dibandingkan dengan bahan penjernih dari garam-garam logam lain kualitas penjernih timbal asetat lebih unggul (Browne dan Zerban, 1941) namun mengingat timbal asetat adalah logam yang bersifat racun kuat, penggunaannya untuk bahan penjernih mulai dipertanyakan (ICUMSA, 1990).

Pabrik gula di Indonesia seperti beberapa pabrik gula tebu di negara lain masih menggunakan timbal asetat sebagai bahan penjernih untuk analisis pol. Kalau dihitung, untuk analisis pol dalam pengawasan pabrikasi, untuk pabrik gula yang berkapasitas 4000 TCD (*Ton Cane per Day*) diperlukan tidak kurang dari 100 kg timbal asetat per musim giling. Pabrik gula seluruh Indonesia, khususnya di Jawa, diperkirakan sekitar 5 ton timbal asetat per tahun dibuang sebagai limbah analisis pol, atau sekitar 500 ton timbal asetat tersebar di perut bumi Pulau Jawa selama seabad ini (ICUMSA, 1990).

2.2 Bioremediasi

2.2.1 Pengertian Bioremediasi

Bioremediasi merupakan proses penguraian limbah organik atau anorganik polutan secara biologi dalam kondisi terkendali dengan tujuan mengontrol, mereduksi bahan pencemar dari lingkungan (Suryani, 2012). Bioremediasi merujuk pada penggunaan secara produktif proses *biodegradasi* untuk menghilangkan atau detoksifikasi polutan racun (biasanya kontaminan tanah, air dan sedimen) yang mencemari lingkungan dan mengancam kesehatan masyarakat (Crawford, 1996).

Bioremediasi terjadi karena enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme memodifikasi polutan beracun dengan mengubah struktur kimia polutan tersebut atau biasa disebut *biotransformasi*. Pada banyak kasus, *biotransformasi* berujung pada *biodegradasi*, dimana polutan beracun terdegradasi strukturnya menjadi tidak kompleks, dan akhirnya menjadi metabolit yang tidak berbahaya dan tidak beracun. (Suryani, 2012).

2.2.2 Faktor yang Mempengaruhi Proses Bioremediasi

Faktor lingkungan yang mempengaruhi aktivitas mikrobia pada proses bioremediasi logam berat terdiri dari faktor lingkungan biotik dan abiotik. Faktor biotik meliputi sifat karakteristik dari mikrobia dan kepadatan sel, sedangkan faktor lingkungan abiotik meliputi pH, kandungan nutrisi, temperatur dan cahaya (khusus untuk mikroalga dan *Cyanobacteria*) (Mallick and Rai, 1993).

Sifat karakteristik dari mikroba berbeda-beda dan secara langsung berpengaruh terhadap aktivitasnya pada lingkungan tertentu. Kepadatan sel *Chlorella vulgaris* dan *Anabaena doliolum* berpengaruh terhadap meningkatnya daya pengikat logam berat di lingkungan, walaupun tidak sebanding dengan peningkatan kepadatan sel (Mallick and Rai, 1993).

Derajat keasaman mempunyai pengaruh yang besar pada aktivitas mikroba untuk mengatasi limbah logam berat. Aktivitas mikroba dalam *bioleaching* membutuhkan suasana asam, sedangkan untuk *bioakumulasi* cenderung netral. Aktivitas optimum *Thiobacillus ferrooxidans* pada proses *bioleaching* ion CU^{2+} membutuhkan pH antara 2,3-2,5 dan tidak dapat tumbuh pada pH diatas 3 (Atlas and

Bartha, 1993). Hal ini bisa dimengerti, sebab lingkungan asam mempercepat hidrolisis suatu senyawa. *Chlorella vulgaris* dan *Anabaena doliolum* aktif pada pH antara 7-8 dalam mengakumulasi ion Ni^{2+} dan Cr^{6+} (Mallick and Rai, 1993), sedangkan *Chlorella pyrenoidosa* lebih banyak mengakumulasi ion Cd^{2+} pada pH-7 dibandingkan pada pH-8 (Hart and Scaife, 1997). Pada pH basa ion logam secara langsung akan bereaksi dengan ion hidroksida membentuk ikatan logam hidroksida, sedangkan pada pH asam akan terjadi persaingan antara ion logam dengan ion H^+ untuk berikatan dengan dinding sel mikroba (Mallick and Rai, 1993). Hal ini yang menyebabkan akumulasi logam dalam sel mikroba pada pH netral lebih besar dibanding dengan pH asam maupun basa.

Jumlah dan macam nutrisi yang terdapat di lingkungan mempengaruhi aktivitas mikroba untuk mengatasi limbah logam berat. Amonium, Fosfor, Sulfat, dan Magnesium merupakan nutrisi yang sangat penting untuk pertumbuhan *Thiobacillus ferrooxidans* dalam melakukan proses *bioleaching*. Selain itu adanya penambahan ion Fe^{3+} (optimal 2-4 g/l) dan air juga membantu terjadinya *bioleaching* (Atlas dan Bartha, 1993).

Temperatur optimum untuk aktivitas mikroba tergantung jenis spesiesnya tergolong mesofil atau termofil. *Thiobacillus ferrooxidans* (mesofil) untuk *bioleaching* ion Cu^{2+} temperatur optimumnya sebesar 30°C, sedangkan *Sulfolobus* sp. dan *Thiobacillus* sp. (termofil) temperatur optimumnya 50° C atau lebih (Atlas and Bartha, 1993). Golongan mikroalga umumnya bersifat mesofil dan untuk akumulasi ion logam kisaran temperatur antara 25-30° C (Mallick and Rai, 1993). Pada suhu 4°C *Chlorella pyrenoidosa* tidak mampu mengakumulasi Cd didalam selnya (Hart and Scaife, 1997).

Mikroalga sebagai organisme fotoautotrof memerlukan cahaya sebagai sumber energi. Peningkatan ion logam berat pada mikroalga juga dipengaruhi ada tidaknya cahaya, misalnya *Chlorella pyrenoidosa* tidak akan mampu mengakumulasi Cd dalam keadaan gelap. Hal yang sebaiknya terjadi pada beberapa spesies dari *Thiobacillus*. Adanya cahaya, terutama yang mempunyai panjang gelombang pendek akan menghambat aktivitas *Thiobacillus* sp. (Hart and Scaife, 1997).

2.2.3 Cara Mikroba dalam Bioremediasi Logam Berat

Mikroba secara umum mengurangi bahanya pencemaran logam berat dengan cara *biopresipitasi* (detoksifikasi racun), *biohidrometalurgi*, *bioleaching* dan *bioakumulasi* (Atlas dan Bartha, 1993; Baldi *et al.*, 1990; Hart dan Scaife, 1977; Mallick dan Rai, 1993; Panchnadikar dan Kar, 1993).

Proses detoksifikasi atau mekanisme *biopresipitasi* pada prinsipnya mengubah molekul logam berat yang bersifat toksik menjadi senyawa yang tidak toksik. Proses ini umumnya berlangsung dalam kondisi anaerob dan memanfaatkan senyawa kimia sebagai akseptor elektron (kemolitotrof). *Enterobacter cloacae* dan *Pseudomonas fluorescans* mampu mengubah Cr(VI) menjadi Cr(III) dengan bantuan senyawa hasil metabolismenya, misalnya *hydrogen sulfide*, *askorbat glutathione acid*, *sistein* dan lain-lain (Baldi *et al.*, 1990).

Biohidrometalurgi pada prinsipnya mengubah ion logam yang terikat pada suatu senyawa yang tidak dapat larut dalam air menjadi senyawa yang dapat larut dalam air. Bakteri belerang khususnya *Thiobachillus ferrooxidans*, hanya berperan khususnya pada logam-logam dalam bentuk sulfida untuk menghasilkan senyawa sulfat (Atlas dan Bartha, 1993).

Bioleaching merupakan aktivitas mikroba untuk melarutkan logam berat dari senyawa yang mengikatnya dalam bentuk ion bebas. Biasanya mikroba menghasilkan asam dan senyawa pelarut untuk membebaskan ion logam dari senyawa pengikatnya. Proses ini biasanya langsung diikuti dengan akumulasi ion logam. *Thiobacillus ferrooxidans* mengubah senyawa kalkosit (CuS_2) menjadi ion Cu^{2+} (Atlas dan Bartha, 1993).

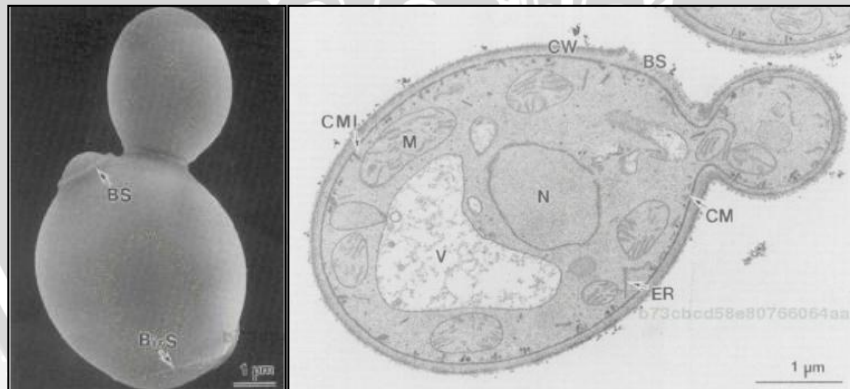
Bioakumulasi merupakan cara yang paling umum digunakan oleh mikroba untuk menangani racun logam berat. Pada prinsipnya *bioakumulasi* merupakan pengikatan ion-ion logam pada struktur sel mikroba (khusus dinding sel). Pengikatan ini disebabkan oleh beberapa macam cara yaitu: Sistem tranpor aktif kation, ikatan permukaan, mekanisme lain yang belum diketahui (Atlas dan Bartha, 1993; Mallick dan Rai, 1993) Mekanisme pengikatan diatas tidak lepas dari karakter anion dan sifat fisikokimia dari dinding sel, sehingga ion logam berat (kation) mampu diikat secara

adhesi (McLean *et al.*,1994) Mikroalga dan *Cyanobacteria* mampu mengikat Ni^{2+} dan Cr^{6+} di seluruh permukaan dinding sel (Mallick dan Rai, 1993), sedangkan *Pseudomonas fluorescans* mampu mengikat Cd^{2+} .dan Zn^{2+} di seluruh permukaan sel (McEldowney, 1994). Bakteri gram positif mengikat ion CU^{2+} pada *peptidoglikan* dan *teichuronat* (McLean *et al.*,1994).

2.3 Khamir

2.3.1 Pengertian Khamir

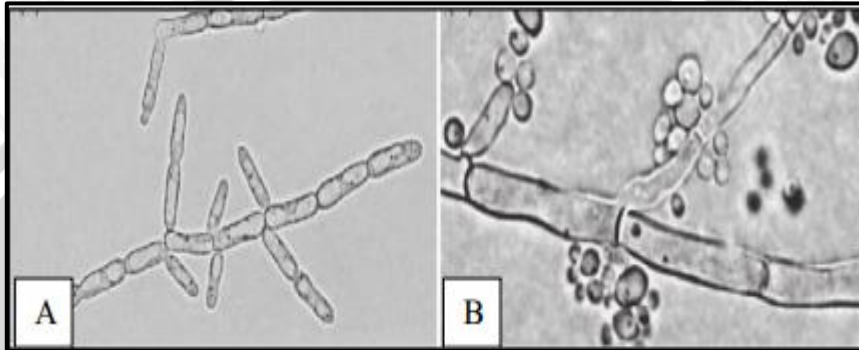
Khamir atau yeast adalah fungi uniseluler yang menempati habitat cair dan lembab, termasuk getah pepohonan dan jaringan hewan. Khamir memiliki ukuran panjang sel berkisar 2-3 μ m sampai 20-50 μ m dan memiliki lebar sel 1-10 μ m, tidak berflagel, bereproduksi secara aseksual dengan *budding* atau *fussion*, atau dapat memproduksi beberapa jenis konidia, yang disebut *stalked conidia*, *blastoconidia*, atau *arthoconidia* (Kavanagh, 2005). Sel khamir memiliki komponen berupa: *cell wall* (CW), *cell membrane* (CM), *cell membrane lappet* (CMI), *blastoconidia* (BS), *mitochondrial* (M), *nucleus*(N), *vacuole* (V), dan *endoplasmic reticulum* (ER) (Walker, 2011).



Gambar 2. Kenampakan khamir pada mikroskop (Sumber: Walker, 2011)

Khamir memiliki sel tunggal dengan proses tumbuh dan berkembang biak yang lebih cepat dibanding kapang yang tumbuh dengan pembentukan filamen. Khamir lebih efektif dalam memecah komponen kimia dibanding kapang, karena mempunyai perbandingan luas permukaan dengan volume yang lebih besar. Dinding

sel sangat tipis untuk sel-sel yang masih muda, dan semakin lama semakin tebal jika sel semakin tua. Komponen dinding selnya berupa glukana (selulosa khamir), mannan, protein, kitin dan lipid (Waluyo, 2005). Alat reproduksi aseksual khamir adalah pertunasan (*budding*), pseudohifa, hifa sejati, konidia bertangkai pendek (*sterigmata*), klamidospora, atau blastokonidia (Gandjar dkk, 2006).



Gambar 3. Hifa (A) dan Pseudohifa (B) (Sumber: Krutzman, *et al.*, 2011)

Sel khamir memiliki ukuran, bentuk, dan warna yang bervariasi. Umumnya khamir memiliki sel berbentuk bulat, semi bulat, oval, elips atau silindris (Hogg, 2005). Khamir dapat menghasilkan pigmen berwarna hitam, merah muda, merah, jingga, dan kuning (Kavanagh, 2005). Khamir dapat membentuk hifa palsu yang tumbuh menjadi miselium palsu (*pseudomycelium*). Miselium palsu merupakan sel tunas khamir yang memanjang dan tidak melepaskan diri dari sel induknya, sehingga saling berhubungan membentuk rantai, misal pada *Candida* spp., dan *Pichia* spp. (Gandjar dkk, 2006).

2.3.2 Pemanfaatan Khamir sebagai Agens Bioremediasi

Beberapa jenis khamir dilaporkan memiliki potensi di bidang bioremediasi. Salah satu contoh khamir tersebut adalah *Yarrowia lipolytica*, dikenal dapat menurunkan racun limbah pabrik kelapa sawit (Oswal *et al.*, 2002), serta menurunkan hidrokarbon *Trinitrotoluena* (TNT) yang digunakan sebagai bahan peledak (Jain *et al.*, 2004) dan hidrokarbon lainnya, seperti alkana, asam lemak, lemak dan minyak (Fickers *et al.*, 2005). Jenis khamir *Candida tropicalis* yang diisolasi dari

limbah industri di Pakistan mampu menurunkan kadar kadmium dan tembaga (Rehman, 2009).

Khamir *Candida* sp. merupakan salah satu jenis mikroba yang digunakan dalam mendegradasi minyak yang telah mencemari air laut, dengan memanfaatkan hidrokarbon minyak untuk pertumbuhan (Nurhariyati *et al.*, 2004). Selain itu terdapat 56 spesies khamir yang mampu mendegradasi hidrokarbon, diantaranya adalah dari genus *Candida*, *Rhodospirium*, *Rhodoturula*, *Saccharomyces*, *Sporobolomyces*, *Trichosporium* dan *Clodosporium* (Ahearn *et. al.*, 1976).

Khamir lain yang digunakan dalam bioremediasi misalnya *Candida tropicalis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces carlbergensis* dan *Candida utilis* berperan penting dalam membersihkan limbah industri bahan kimia yang tidak diinginkan. *Agricus bisporus* dan *Letinus oleoides* penting dalam dekomposisi lignoselulosa (Chivukula dan Renganathan, 1995).

