

UJI PENGGUNAAN SIANIDA SEBAGAI SUMBER KARBON DAN ATAU NITROGEN OLEH BAKTERI *BACILLUS CEREUS* DAN *PSEUDOMONAS FLUORESCENS*

Oleh:
Elin Nurlina

Dalam Peraturan pemerintah (PP) No 19/1994 dan PP No.12/1995 tentang limbah B3 (Bahan berbahaya dan beracun), sianida dan senyawa-senyawa termasuk dalam kelompok bahan berbahaya dan beracun. Banyak sumber sianida di lingkungan, salah satunya bersumber dari buangan industri tapioka dan industri elektroplating. Karena itu upaya pengolahan limbah untuk menghilangkan racun sianida perlu dilakukan.

Pengolahan limbah biologi dengan sistem lumpur aktif, diarahkan untuk menurunkan atau menyisihkan substrat yang mengandung sianida dengan menggunakan jasa mikroba. Namun . Untuk lebih jauh mengetahui bagaimana pemanfaatan senyawa sianida oleh mikroba yang terkandung dalam air buangan tersebut, dalam penelitian ini dilakukan uji penggunaan sianida oleh bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas fluorescens*, yang merupakan bakteri dominan hasil isolasi dari sistem pengolah limbah tersebut. Uji dengan menggunakan variasi komposisi media dengan menggunakan senyawa KSCN sebagai pengganti sumber karbon dan atau nitrogen, dilakukan dengan menggunakan reaktor batch pada kondisi aerob.

Dari hasil uji penggunaan sianida, menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus cereus* mampu menggunakan sianida sebagai sumber karbon dan nitrogen dengan laju pertumbuhan spesifik (μ) sebesar $\mu = 0.0061/\text{Jam}$. Sedangkan bakteri *Pseudomonas fluorescens* mampu menggunakan sianida hanya sebagai sumber nitrogen dengan laju pertumbuhan spesifik (μ) sebesar $\mu = 0.0085/\text{Jam}$

Kata Kunci: *Limbah B3, Sianida, KSCN, Lumpur aktif, Bacillus cereus, Pseudomonas fluorescens*

I. Pendahuluan

Sianida merupakan senyawa organik atau anorganik yang mengandung gugus siano (CN^-) sebagai bagian dari struktur penyusun senyawanya. Keberadaan sianida dapat berbentuk sebagai gas atau cairan asam sianida (HCN), yang disebut pula sebagai asam prussik. Senyawa sianida yang berada dalam bentuk ion sianida (CN^-) dibagi atas dua jenis, yaitu sianida sederhana dan sianida kompleks (APHA,1989). Sianida sederhana seperti ditulis dengan rumus $\text{A}(\text{CN})_x$ dimana A merupakan alkali (sodium, potasium, ammonium) atau logam, dan x adalah valensi dari A yang merupakan jumlah kelompok sianida. Senyawa sianida kompleks memiliki berbagai macam rumus, tetapi pada umumnya ditulis dengan $\text{AyM}(\text{CN})_x$, dimana A merupakan jenis alkali, y

jumlah alkali, M merupakan jenis logam (besi, kadmium, tembaga, nikel, perak seng, dsb) dan x merupakan jumlah kelompok sianida. Adanya berbagai jenis logam, dapat menyebabkan terbentuk senyawa kompleks sianida dengan afinitas yang berbeda. Senyawa kompleks besi sianida sangat stabil pada suasana gelap. Namun senyawa ini akan mengalami fotolisis secara cepat dan ekstensif pada keadaan larutan yang encer dan terkena sinar matahari. Dalam senyawa kompleks yang kuat, sianida tidak dapat terdeteksi dengan analisis sianida biasa kecuali dengan perlakuan distilasi dari metal sianida (APHA, 1989). Senyawa sianida sederhana seperti NACN atau KCN dalam air akan terdisosiasi dan terhidrolisa menjadi CN^- dan HCN . HCN merupakan salah satu senyawa yang sangat toksik (APHA,1989), Sianida dalam

bentuk HCN jika lingkungan berada pada pH kurang dari 8 dan temperatur lebih dari 25 °C.

II. Sianida dalam tanaman

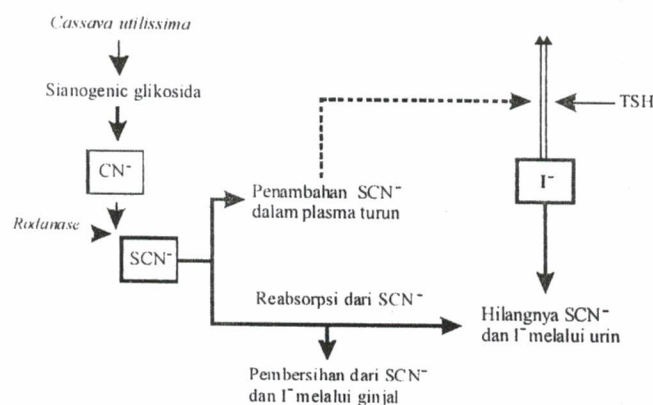
Senyawa sianida dalam tanaman berada dalam bentuk sianogen glikosida. Senyawa ini terdapat pada akar dan ubi beberapa jenis tanaman, seperti peach, shorgum, plum, apricot dan cassava atau ketela pohon. Adanya enzim pada beberapa bagian tanaman seperti buah akan menghidrolisis glikosida dan menghasilkan HCN yang bersifat racun. Hidrolisis dari amygdalin (senyawa aktif dari leatril) oleh enzim emulsin menghasilkan benzaldehid dan HCN. β -Glukosidase yang terdapat dalam biji, akar, buah, dan saluran gastrointestinal, akan mengkonversi amigdalin menjadi HCN pada manusia. Sumber yang umum sianogen glikosida adalah *Amigdalin* dari biji almond, apricot yang terasa pahit dan *Prunasin* dari buah cheeri. Prunasin adalah metabolit primer dari amygdalin yang dihasilkan secara oral. Hal ini dihasilkan pada absorpsi mukosa. Selain itu β -Glukosidase juga terdapat pada *dhurin* dari *shorgum vulgare*, *Bambusa arundinacea*, *Zeamays*; *Zierin* dari *Zieria laevigata* (Rutaceae); *Linamarin* pada ketela pohon. Pada umumnya ketela pohon pahit memiliki konsentrasi sianida yang lebih tinggi dibandingkan dengan ketela pohon manis. Sianogen glikosida terdapat pada semua bagian ketela pohon, tetapi konsentrasinya bervariasi tergantung pada varietas, iklim dan kondisi kultur. Linamarin dan litoustralin pada ketela pohon terbentuk dari adanya asam amino valin dan isoleusin sebagai senyawa precursor. Produk hidrolisis adalah D-glukosa, HCN dan D-glukosa, HCN dan *p*-hidroksibenzaldehida.

III. Dampak sianida terhadap kesehatan

Sianida mempunyai efek racun terhadap sel hidup dengan memberikan tiga mekanisme sbb:

- Membentuk ikatan dengan logam valensi dua atau tiga dalam metallo enzim seperti sitokrom oksidase
- Bereaksi dengan senyawa keton membentuk turunan sianohidrin dari substrat enzim
- Bereaksi dengan basa Schiff intermediet selama reaksi enzimatik membentuk turunan nitril yang stabil.

Dosis fatal bagi kesehatan manusia dewasa yang memasuki tubuh secara oral dari senyawa sianida dalam bentuk HCN kadarnya adalah 50 mg, sedangkan senyawa dalam bentuk sianida misalnya KCN dosis secara oral adalah 200 - 300 dan dosis letal bagi anak-anak adalah 1.2 - 5 mg. Gejala keracunan yang akut antara lain adalah sesak napas, muntah-muntah jantung berdetak secara cepat dan kolaps vaskular, sedangkan gejala keracunan yang kronis antara lain adalah sakit kepala, pusing, dan pembengkakan kelenjar tiroid (Lederberg, 1992). Detoksifikasi sianida dalam tubuh dapat terjadi karena sianida di dalam tubuh mengalami biotransformasi oleh rodanase (enzim mitokondrial) pada hati dan pada tubuh bagian lain yang berfungsi sebagai katalis dalam transfer belerang ke sianida membentuk tiosianat. Tiosianat mempunyai toksisitas lebih kecil daripada sianida. Mekanisme yang terjadi dari Cassava dalam detoksifikasi dan deplesi tiroid (Ermans et al, 1973) adalah seperti dalam Gambar 1.



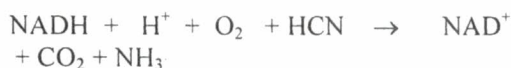
Gambar 1 Model Tentatif Aksi geotropenik dari Cassava pada Deplesi Tiroid dan Detoksifikasi

Laju detoksifikasi sianida tergantung pada konsentrasi sianida dalam plasma sel. Hasil detoksifikasi tersebut dikeluarkan melalui urin.

IV. Penggunaan Sianida oleh Mikroorganisme

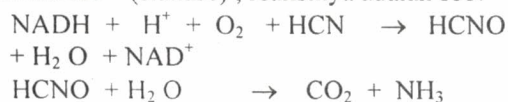
Mikroorganisme dapat menggunakan sianida sebagai sumber karbon dan atau nitrogen, namun dalam beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa penyisihan sianida dapat diperbaiki dengan adanya penambahan sumber karbon organik (Gaudy, 1981). Asam amino, misalnya glycine dapat menjadi prekursor bagi metabolisme sianida.

Mikroba yang berperan dalam degradasi senyawa sianida yaitu dari jenis *Pseudomonas* yang akan mendegradasi menjadi format dan amonia (J.J Gauthier, dalam Knowless 1988) atau dengan melepaskan amonia dan senyawa lainnya (Mudder & Whitlock, 1984, dalam Knowless 1988). Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa *Pseudomonas fluorescens* dapat menggunakan sianida dengan melepaskan amonia dengan reaksi stosiometri (Knowles, 1983) sbb:



Terjadi dua mekanisme yang mungkin terjadi, yaitu :

1. Reaksi deoksigenase seperti reaksi tersebut di atas
2. Aktivitas monooksigenase ditambah sianat hidrolase (sianase), reaksinya adalah sbb:



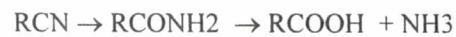
Beberapa kemungkinan terjadinya proses asimilasi sianida sebagai sumber karbon dan atau nitrogen oleh mikroorganisme dapat dilakukan melalui berbagai cara, yaitu:

1. Melalui pembentukan β -sianoalanin dan Aspartat, yaitu:

$$\text{HCN} + \text{Sistein} \rightarrow \beta\text{-sianoalanin} \rightarrow \text{Aspartat} + \text{NH}_3$$
 dengan menggunakan β -sianoalanin sintase dan nitrilase atau nitril hidrotase dengan amidase

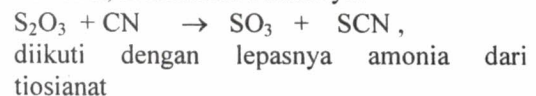
2. Melalui bentukan mandelinitril (benzaldehida sianohidrin) oleh mandelonitrillase.

Mandelonitril dengan bantuan nitrilase atau nitril hidratase dan amidase, dengan melepaskan ammonia yang dapat disimilasi lebih lanjut. Reaksi yang terjadi adalah :



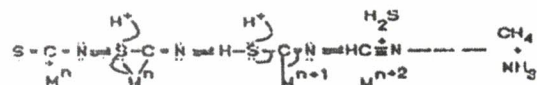
3. Melalui pembentukan amonia oleh sianidase atau sianida hidratase dan formamidase

Melalui pembentukan tiosianat oleh rodanase (tiosianat sulfur transferase), diikuti dengan pelepasan amonia dan tiosianat, mekanisme reaksinya:



3. Reduksi CN^- dan SCN^- oleh Enzim Nitrogenase

Nitrogenase dapat mengkatalisis substrat yang mengandung ikatan rangkap dua dan rangkap tiga dari C-C, C-N, N-N dan N-O. Namun pada akhir-akhir ini ditunjukkan pula bahwa nitrogenase dapat mereduksi pula ikatan C=S dari COS dan C=O dari CO₂. Hasil penelitian menunjukkan bahwa COS analog dengan SCN⁻. Reduksi dari SCN⁻ oleh nitrogenase berdasarkan hasil analisa pada spektrom "Elektron para magnetic resonance (EPR)" dihasilkan senyawa CH₄, HCN, H₂S dan NH₄⁺. Reaksi yang terjadi dari hasil reduksi SCN⁻ oleh enzim nitrogenase adalah sbb:

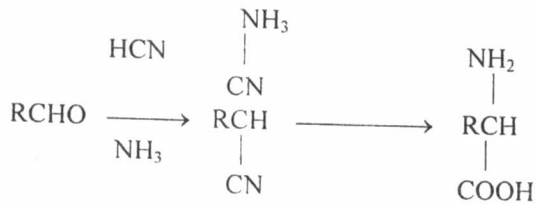


Reduksi SCN⁻ diduga meliputi dari reduksi dua elektron dari ikatan C=S untuk membentuk H₂S dan HCN yang mekanisme reaksinya adalah :

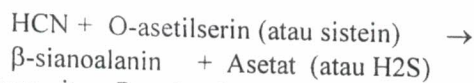


Mikroba dominan pendegradasi limbah yang berhasil diisolasi oleh Brueggeman dan Gaudy (1981) adalah Bakteri dari genus *Bacillus* dan *Klebsiella*. Kedua genus tersebut resisten terhadap efek inhibitor sianida, bahkan mampu memetabolisme sianida. Proses degradasi sianida

oleh beberapa jamur, dilakukan dengan adanya perubahan $H^{14}CN$ menjadi alanin atau glutamat, dengan reaksi:



Chromobacterium violaceum dapat mengubah senyawa sianida menjadi β -sianoalanin dengan bantuan enzim β -sianoalanin sintase melalui reaksi :



Sementara itu Bunch dan Knowles (1980) menemukan bahwa sianida mengalami biotransformasi menjadi CO_2 oleh lumut salju. Namun reaksi konversinya belum diketahui.

V. Uji Penggunaan Sianida oleh mikroba

Sebagai substrat uji penggunaan sianida digunakan senyawa KSCN (kalium tiosianat). Media yang digunakan untuk melakukan uji tersebut terdiri atas 4 komposisi.

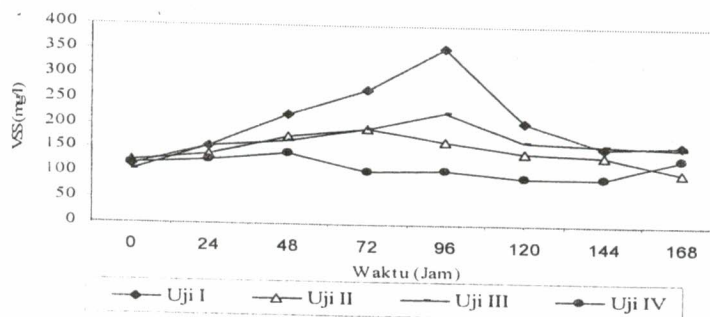
1. Komposisi media uji lengkap dengan sumber karbon (Glukosa) dan nitrogen (Amonium sulfat) untuk

pertumbuhan mikroba. Digunakan sebagai Kontrol.

2. Komposisi media uji dimana KSCN digunakan sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan
3. Komposisi media uji dimana KSCN digunakan sebagai sumber Nitrogen
4. Komposisi media Uji dimana KSCN digunakan sebagai sumber karbon dan atau Nitrogen

V.1 Uji Pertumbuhan Dan Penggunaan Sianida oleh Bakteri *Pseudomonas fluorescens*

Pseudomonas fluorescens yang digunakan dalam uji ini, merupakan bakteri dominan hasil isolasi dan determinasi yang bersumber dari lumpur aktif yang digunakan dalam pengolahan limbah industri tapioka. Dari hasil uji kualitatif menunjukkan adanya pertumbuhan pada media Uji III, yaitu media yang menggunakan KSCN sebagai sumber nitrogen. Namun sebagai perbandingan, dalam pengukuran pertumbuhannya dilakukan pula terhadap media uji pertumbuhan yang lainnya yaitu pada media uji I (kontrol), media uji II, dan IV. Dari hasil pengukuran absorbansi kekeruhan bakteri pada media cair dengan menggunakan KSCN sebagai sumber karbon dan atau nitrogen, kurva tumbuh bakteri *Pseudomonas fluorescens* terdapat pada Gambar. II



Gambar II Kurva Tumbuh Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Pada 4 Media Uji

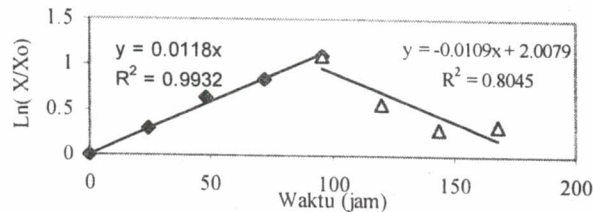
Pertumbuhan mikroba tersebut, dalam media uji II yaitu media dengan menggunakan KSCN sebagai sumber karbon pertumbuhan tidak begitu baik, laju pertumbuhannya adalah 0.00062/jam, sedangkan laju kematiannya adalah 0.0048/jam. Pada media uji IV, setelah mikroba tersebut berada dalam fasa lag yang sangat lama, tidak terlihat adanya peningkatan jumlah sel,

bahkan menunjukkan adanya fase kematian. Hal ini, selain kemungkinannya bakteri tidak mampu mengadaptasikan diri terhadap lingkungan yang baru, penggunaan substrat dari KSCN yang dijadikan sebagai sumber karbon mikroorganisme aerob terhambat prosesnya. Sehingga akan berpengaruh terhadap perkembangan pertumbuhannya. Adanya

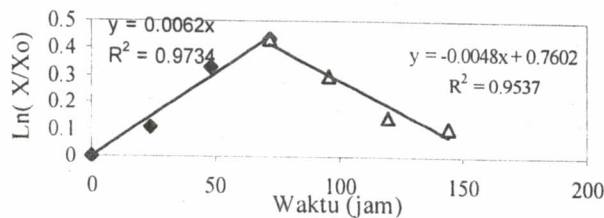
perubahan lingkungan, memungkinkan mikroba harus beradaptasi terhadap sumber karbon dan

nitrogen yang baru

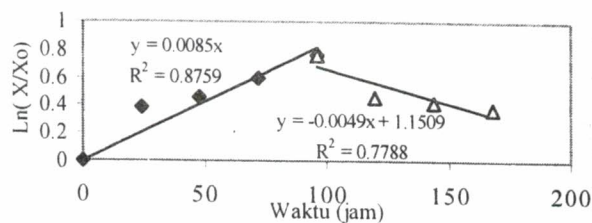
Gambar 4.7(a) Laju Pertumbuhan Pada Uji Tumbuh I



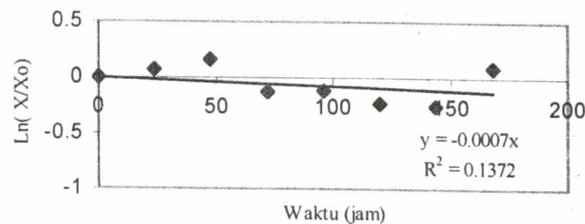
Gambar 4.7(b) Laju Pertumbuhan Pada Uji Tumbuh II



Gambar 4.7(c) Laju Pertumbuhan Pada Uji Tumbuh III



Gambar 4.7(d) Laju Pertumbuhan Pada Uji Tumbuh IV



Gambar III Grafik laju pertumbuhan spesifik *Pseudomonas fluoresces* pada media uji I (a), media uji II (b), media uji III (c) dan media uji IV (c)

Menurut Hinshelwood (1946), sifat adaptif bakteri dapat memengaruhi pola pertumbuhan, yaitu terjadinya:

- Kurva pertumbuhan gabungan, menyebabkan tidak adanya fasa lag, tetapi pertumbuhan langsung eksponensial, atau adanya 2 kurva pertumbuhan gabungan, dan sebagainya
- Adaptasi pada Mean Generation Time

Mean Generation Time dapat menjadi lebih lama karena adaptasi bakteri terhadap kondisi yang baru.

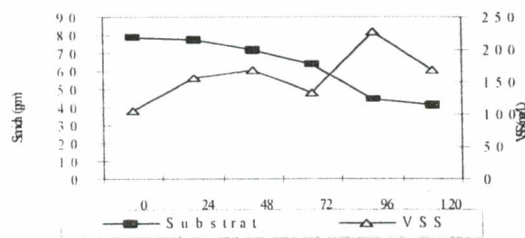
- Fase lag yang luar biasa panjang
- Kegagalan adaptasi, yang dapat mengakibatkan kematian bakteri.

Tidak tumbuhnya bakteri yang ditanam dalam media uji IV, disebabkan karena kemungkinan adanya kegagalan adaptasi dalam media KSCN

yang dijadikan sebagai sumber karbon dan nitrogen. Dalam hal ini, mikroba membutuhkan media pendukung yang dapat dijadikan sebagai sumber energi untuk terjadinya pertumbuhan. Terlihat dari adanya pertumbuhan pada media uji III, yaitu selain dari KSCN, pada media tersebut ditambahkan glukosa. Sedangkan bakteri yang ditanam pada media uji II, pertumbuhan terjadi setelah membutuhkan waktu adaptasi yang agak lama yaitu sekitar 40 jam. Konstanta laju pertumbuhan spesifik *Pseudomonas fluoresces*

dalam masing-masing media uji dapat diperoleh dari Gambar III.

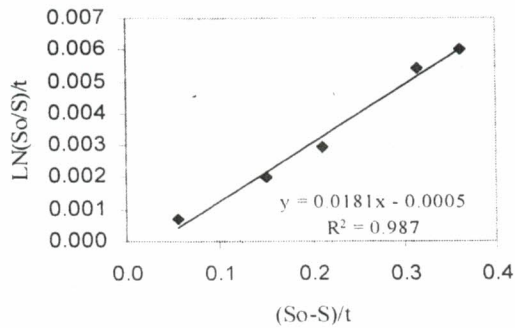
Perolehan harga μ pada media uji III dari gambar tersebut adalah 0.0085 Jam^{-1} . Sedangkan pada media IV, karena bakteri tidak mengalami pertumbuhan, nilai μ yang diperoleh adalah -0.0007 Jam^{-1} . Selama pertumbuhan dalam media uji III, yaitu media dengan KSCN digunakan sebagai sumber nitrogen, penggunaan substrat oleh bakteri *Pseudomonas fluorescens* terlihat seperti dalam Gambar IV



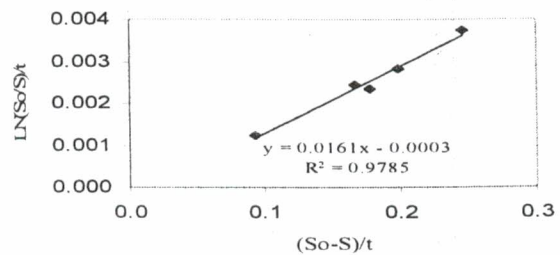
Gambar. IV Kurva pertumbuhan *Pseudomonas fluorescens* dan penyisihan substrat pada Media Uji III

Dari kurva tersebut tampak bahwa kemampuan bakteri dalam penyisihan substrat berkisar 50%, karena substrat pada akhir pertumbuhan, kadarnya sekitar 40 ppm dari konsentrasi awal yang diberikan sebanyak 80 ppm. Berdasarkan

hasil penghitungan dengan menggunakan persamaan Henri, laju penggunaan substrat pada media uji tersebut adalah 0.0085 mg/L/Jam . Kurva dari persamaan tersebut, dapat dilihat seperti pada Gambar V(A)



A



B

Gambar.V. Grafik Penentuan Laju Penggunaan Substrat Oleh *Pseudomonas fluorescens* Pada Media Uji III (A) Pada Media Uji III(B)

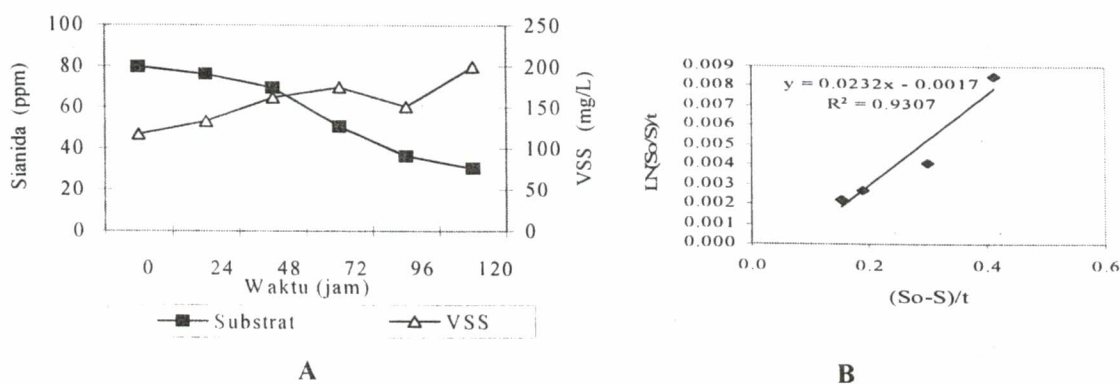
Berdasarkan grafik tersebut Selain diperoleh harga laju penggunaan substrat juga dapat ditentukan harga K_m , yaitu 55.243 mg/L . Angka ini relatif lebih kecil jika dibandingkan dengan harga K_m pada media uji II, yaitu 62.118 mg/L , seperti yang terlihat dari Gambar V(B)

Dari perbandingan harga tersebut bahwa afinitas substrat terhadap mikroba pada media uji III relatif lebih besar dibandingkan dengan pada media uji II. Kemungkinan yang terjadi pada media uji III, menurut Page (1985) dimana glukosa sebagai sumber energi, dari hasil metabolisme glukosa akan dilepaskan energi. Sebagian dari perubahan energi bebas yang besar

akan disimpan dalam bentuk molekul koenzim NADH yang tereduksi yang bertindak sebagai bahan bakar untuk rantai respirasi setelah mengalami oksidasi. NADH juga merupakan salah satu enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme untuk mendegradasi senyawa sianida (Knowles, J.C, 1988). Tidak tumbuhnya bakteri yang ditanam dalam media uji IV, disebabkan karena kemungkinan adanya kegagalan adaptasi dalam media KSCN yang dijadikan sebagai sumber karbon dan nitrogen. Dalam hal ini, mikroba membutuhkan media pendukung yang dapat dijadikan sebagai sumber energi untuk terjadinya pertumbuhan.

V.2 Uji Pertumbuhan Dan Penggunaan KSCN oleh Bakteri *Bacillus cereus*

Bakteri *Bacillus cereus* merupakan bakteri hasil isolasi dari limbah tapioka. Uji pertumbuhan dan penggunaan sianida dilakukan pada bakteri tersebut, karena termasuk bakteri dominan yang terdapat dalam limbah, juga dari hasil uji kualitatif menunjukkan adanya pertumbuhan pada media Uji IV, yaitu media yang menggunakan sianida dari KSCN sebagai sumber karbon dan sumber nitrogen. Hasil pengukuran absorbansi terhadap pertumbuhan mikroba, dan penyisihan substrat selama pertumbuhannya dalam media uji IV, dapat dilihat dalam Gambar VI.

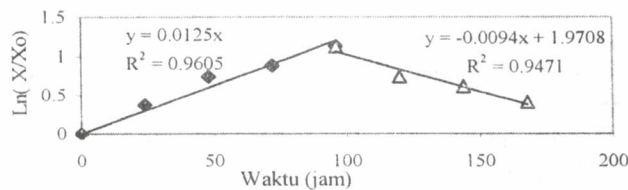


Gambar VI. Kurva Pertumbuhan (A) Dan Penentuan Laju Penggunaan Sianida(B) Bakteri *Bacillus cereus* Pada Media Uji IV

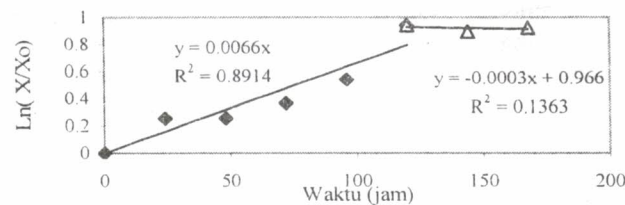
Laju penggunaan substrat oleh bakteri *Bacillus* pada media uji IV, yang didapat dengan menggunakan persamaan Henri, diperoleh seperti yang dalam Gambar VIB. Dari persamaan tersebut diperoleh harga $K_m = 43.1034$ mg/L dan harga laju penggunaan substrat, $V_m = 0.1038$ mg/L/Jam. Harga tersebut merupakan harga tetapan Michelis-Menten. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut dapat tumbuh pada media dengan KSCN sebagai sumber karbon dan nitrogen. Dan hal ini menunjukkan bahwa *Bacillus cereus* merupakan bakteri yang resisten terhadap efek toksik dari sianida.

Dalam media IV, yaitu media KSCN disiapkan sebagai sumber karbon dan nitrogen, mikroba tumbuh dengan laju 0.0057 Jam⁻¹ (Gambar VII d), merupakan laju tumbuh yang paling besar jika dibandingkan dengan laju pertumbuhan mikroba lainnya yang ditumbuhkan pada media yang sama, walaupun waktu yang dibutuhkan untuk mencapai fase eksponensialnya relatif lama. Pada media uji III yaitu media KSCN yang ditambah glukosa sebagai sumber energi, mikroba tumbuh dengan laju 0.0074 Jam⁻¹ (Gambar VII d), hal ini menunjukkan bahwa penambahan glukosa menghasilkan pertumbuhan bakteri dengan laju tumbuh yang lebih tinggi.

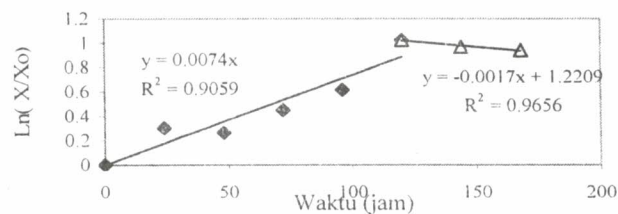
Gambar 4.18 (a) Laju pertumbuhan pada media uji I



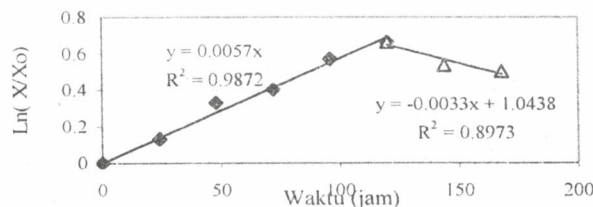
Gambar 4.18 (b) Laju pertumbuhan pada media uji II



Gambar 4.18 (c) Laju pertumbuhan pada media uji III



Gambar 4.18(d) Laju pertumbuhan pada media uji IV



Gambar VII. Grafik Laju pertumbuhan spesifik *Bacillus cereus* Pada Media Uji I (a), Media Uji II (b), Media Uji I (c) Dan Media Uji IV (d)

Suatu organisme dapat menggunakan berbagai variasi nutrisi untuk sintesis protoplasma dalam kondisi variasi lingkungan yang lebih besar atau pada lingkungan yang lebih spesifik. Untuk survivalnya terjadi 2 mekanisme (Oginsky dan Umbreit, 1959) sbb:

1. Mutasi dari sel untuk membentuk genotip yang baru dan secara bertahap dari genotip tersebut membentuk populasi yang baru yang berbeda dari aslinya. Seleksi akan terus terjadi sehingga terbentuk populasi dengan tipe yang baru.
2. Adaptasi dari semua sel pada populasi, dengan menggunakan kemampuan jalur

metabolisme yang dimiliki oleh genotipnya, serta dihasilkannya enzim adaptif oleh sel sebelum sel tersebut aktif tumbuh.

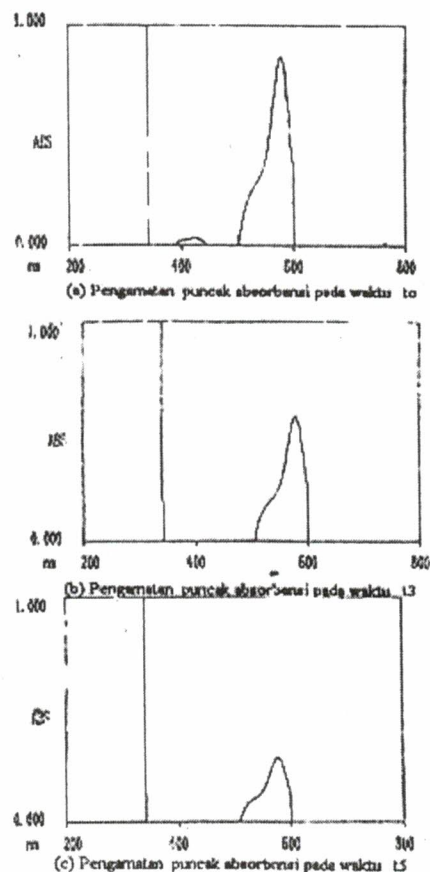
Pembentukan enzim adaptif tergantung kepada sumber energi yang dihasilkan dari suatu sumber "protein enzim" yaitu suatu asam amino yang berperan sebagai "building block". Secara fisiologi, bakteri tersebut mempunyai kemampuan untuk menghasilkan endospora (Oginsky dan Umbreit, 1959). Spora pada bakteri dapat dianggap sebagai bentuk istirahat (latent), karena didapatkan di dalam sel, berfungsi bukan

sebagai alat reproduksi seperti halnya pada jamur dan mikroalga, tetapi sebagai bentuk istirahat disaat lingkungan tidak memungkinkan untuk tumbuh, dan sifatnya sangat resisten terhadap faktor lingkungan yang buruk. Jika pada satu tingkat kehidupan suasana lingkungan sudah cocok, seperti kadar air, kelembaban, cahaya, temperatur sudah cocok atau memungkinkan, maka spora kemudian akan berkecambah.

Hasil perkecambahan akan menghasilkan individu baru .

V.2.1 Penurunan kadar Sianida

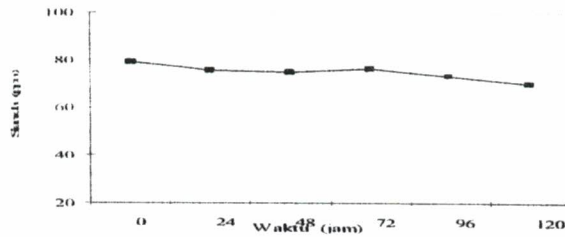
Berdasarkan hasil pengukuran serapan warna pada λ 578 nm untuk sianida, Pada media pertumbuhan *Bacillus cereus* jam pertama hingga jam ke 120 menunjukkan adanya penurunan puncak pada angka panjang gelombang tersebut, seperti terlihat dalam gambar VIII.



Gambar. VIII. Grafik Serapan warna Sianida Pada Media Uji IV dengan Waktu Pengamatan t_0 , t_3 dan t_5

Dari gambar VIII, nampak bahwa pada awal pengamatan t_0 , puncak absorbsi pada λ 578 adalah 0.84, pada pengamatan hari ke tiga (t_3) absorbsinya adalah 0.55, dan pada pengamatan hari ke 5 (t_5) absorbsinya adalah 0.32. Adanya penurunan puncak ini diduga karena digunakannya KSCN sebagai sumber karbon dan nitrogen oleh bakteri tersebut. Karena penurunan kadar sianida dari media yang

dijadikan sebagai kontrol, yaitu media yang tidak diinokulas bakteri, kemungkinan penurunan kadar sianida akibat adanya aerasi ataupun penguapan, tidak menunjukkan adanya penurunan kadar sianida yang cukup tajam, walaupun dari hasil pengukuran terjadi penurunan pula seperti yang terlihat dari grafik dalam Gambar IX.

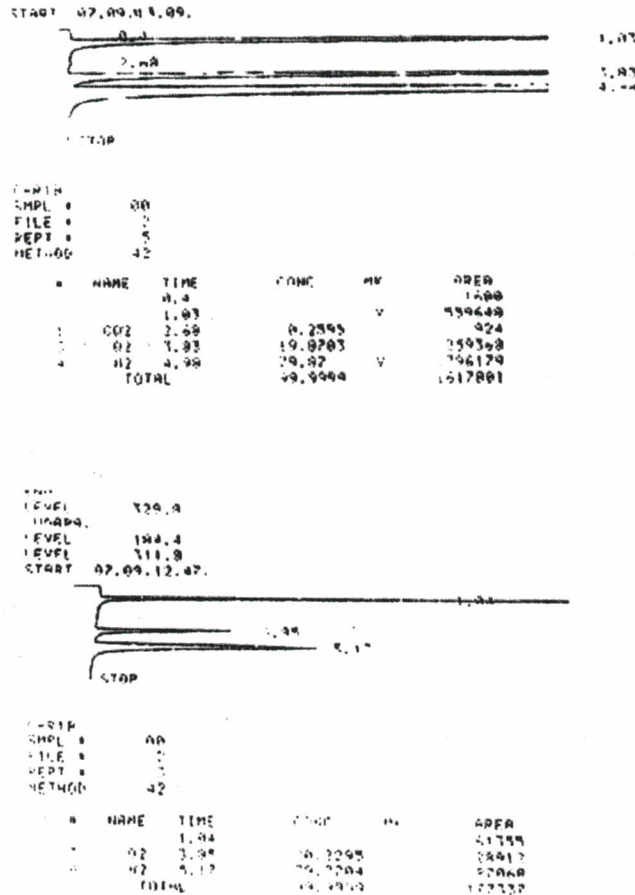


Gambar.IX Kurva Penurunan Kadar Sianida pada Media Yang Tidak Ditambah Bakteri (Kontrol)

Pada media yang digunakan sebagai kontrol, yaitu media tanpa *Bacillus*, awal pengamatan (to), di masukkan sianida 80 ppm, sampai pada akhir pengamatan kadar sianida terukur 75 ppm. Penurunan tersebut kemungkinan bisa terjadi karena adanya aerasi, karena sianida merupakan suatu senyawa yang mudah menguap.

V.2.2 Produksi Gas CO₂ Oleh *Bacillus cereus*

Gas yang terbentuk pada media pertumbuhan *Bacillus*, merupakan salah satu parameter adanya metabolisme sianida. Hasil penentuan dengan kromatografi gas CO₂, terlihat dari Gambar X (a), dan kromatografi gas pada kontrol terdapat pada Gambar X(b)



Gambar X. Data Kromatografi Gas pada t4 (a) dari Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereu* dan Kromatografi Gas pada Kontrol (b)

konsentrasi gas CO₂ yang terbentuk pada pengamatan t₃ (48 jam) terlihat sekitar 0.2472 % dari keseluruhan gas yang ada pada reaktor batch tersebut, dan pada pengamatan saat t₄ (96 Jam) adalah 0.2595 %.

Pada Gb X (b), dari hasil kromatografi gas pada media yang digunakan sebagai kontrol, tidak menunjukkan adanya gas CO₂ seperti yang terjadi pada media yang ditumbuhi oleh *Bacillus*. Adanya gas CO₂ di atmosfer udara kering yang kadarnya sekitar 0.033 % (Wark & Warner, 1981) tidak dapat terdeteksi oleh alat yang digunakan dalam penelitian ini, karena volumenya yang relatif sangat kecil dibandingkan dengan volume gas O₂ dan N₂ yang terdapat di udara, sehingga CO₂ yang terbentuk dalam data

kromatografi pada gambar X (a) merupakan gas yang dihasilkan oleh mikroba.

Gas CO₂ yang terlarut dalam air ditentukan dengan Metode titrasi asam-basa. Prinsip dari metode ini, bila larutan cair mengandung CO₂, dan terserap oleh NaOH, maka terjadi reaksi sbb:



Ion karbonat merupakan suatu basa, jika bereaksi dengan air yang bersifat asam, atau dengan ion hidrogen, maka bereaksi melalui 2 tahap sbb:



Berdasarkan hasil pengukuran terhadap media, diperoleh kadar senyawa tersebut seperti dalam tabel 1.

Tabel 1 Hasil Pengukuran kadar CO₂ kadar Amonium terlarut

Waktu Jam	Kadar CO ₂ Mg/L	Kadar HCO ₃ mg/L	pH	Kadar NH ₄ ⁺ mg/L
0	0.54		6.92	0.064
24	0.54	0.25	5.82	1.89
32	0.14	0.40	5.87	0.895
48	2.73	0.142	5.85	1.428
72	1.14	0.98	5.66	1.0116
108	0.0975	0.65	5.59	1.1741
				9

Berdasarkan kepada hasil pengukuran tersebut, terlihat bahwa dalam media terdapat CO₂ terlarut, dan mikroba tumbuh dengan kondisi media sedikit asam dengan kondisi pH seperti dalam tabel 1.

V.2.3 Produksi Gas Amonia (NH₃)

Penentuan gas amonia sebagai hasil aktivitas metabolisme mikroba merupakan satu data yang menunjang adanya penggunaan sianida oleh mikroba. Namun keberadaan amonia dalam larutan cair sangat tergantung kepada pH dan temperatur, karena dalam larutan cair tersebut amonia akan selalu berada dalam reaksi keseimbangan dengan reaksi NH₃ + H₂O ↔ NH₄⁺ + OH⁻ (Winkler, 1981).

Jumlah amonia bebas akan bertambah dengan adanya penambahan keasaman (pH) dan temperatur, sebaliknya jika dalam larutan cair lebih bersifat basa, maka dalam larutan tersebut

akan banyak terlarut Amonium (NH₄⁺). Metabolisme sianida tergantung kepada mikroorganisme yang digunakan untuk mendegradasi sianida tersebut. Namun dari hasil metabolisme tersebut, akan dilepaskan amonia, Mudder & Whitlock, (1984) dan Knowles, J.C, (1988).

KSCN yang terdapat dalam air yang tercemar oleh mikroba akan didegradasi menjadi amonium (APHA, 1991). Data yang diperoleh dari hasil pengukuran yang ditentukan dengan metode Nessler, kadar amonium yang terdapat dalam larutan adalah seperti dalam tabel 1

VI. Kesimpulan

- Hasil uji kualitatif pada media padat dan media cair yang mengandung sianida, bakteri *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus cereus* merupakan mikroorganisme yang

mampu tumbuh dan beradaptasi dalam media yang mengandung sianida

- Hasil uji penggunaan sianida oleh bakteri *Bacillus cereus*, menunjukkan bahwa bakteri mampu menggunakan sianida sebagai sumber karbon dan nitrogen dengan laju pertumbuhan spesifik, $\mu = 0.0061/\text{Jam}$ dan *Pseudomonas fluorescens* mampu menggunakan sianida hanya sebagai sumber nitrogen dengan, μ dan $\mu = 0.0085/\text{Jam}$, untuk pertumbuhan dalam media sianida, bakteri tersebut perlu senyawa pendukung pertumbuhan, yaitu glukosa sebagai sumber karbon.

Saran

Untuk membuktikan digunakannya sianida (CN^-) sebagai sumber karbon (C) atau nitrogen (N) oleh bakteri, selain dilakukan melalui metode uji pertumbuhan pada media yang menggunakan sianida sebagai sumber karbon dan atau nitrogen, sebaiknya dilakukan secara radiologi yaitu melalui pemberian kode isotop pada C atau N dari sianida (CN^-) tersebut, kemudian dilakukan pemeriksaan kembali terhadap gas atau produk metabolime yang lainnya. Jika C pada gas atau pada produk metabolime tersebut mengandung C atau N yang ditandai, hal tersebut akan lebih membuktikan bahwa sianida digunakan sebagai sumber karbon dan atau nitrogen oleh mikroorganisme

DAFTAR PUSTAKA

1. Broderius, S.J. Determination of molekular Hydrocyanic Acidin Water, and Studies of The Chemistry and Toxoxicity to Fish of

- metal Cyanide Complexes. Jurnal Water Research. 1973
2. Buchanan, R.E, N.E. Gibbon. Bergey 's Manual of Determinated Bacteriology. 8 th Edition, William and Wilkins Co., Baltimore. 1975.
3. Coursey, D.G . Cassava as Food: Toxicity and Technology dalam Chronic Cassava Toxicity. London. 1973.
4. Cowan, S.T. Manual for identification of Medical Bacteria. Cambrige University Press. Cambrige. London. 1974.
5. Ermans. A.M., M. Vander Velden, J. Kinthaert, and F.Delange. Mechanisms of the Geotrogenic Action of Cassava. 1973.
6. Hosdhijarso, W. Pengaruh Umur Lumpur dan Resirkulasi Lumpur Dalam Proses Lumpur Aktif Pada Pengolahan Limbah Cair Sintesis Industri Tapioka. 1996.
7. Knowless. C.J . Cyanide Utilization and Degradation by Microorganisms. Dalam Cyanide Compounds in Biology. Ciba Foundation. 1988.
8. Mudder, T.I & J.L. Whitlock. Biological Treatment of Cyanidation Wastwater. Metals and Metallurgical Processing. 1984.
9. Nartey, Frederick. Biosynthesis of Cyanogenic Glukosides in Cassava (*Manihot* spp) dalam " Chronic Cassava Toxicity". London. 1973.
10. Underwood, A.L dan R.A. Day, Jr. Analisa Kimia Kuantitatif. Erlangga. Jakarta. 1980.
11. Winkler, Michael. Biological Treatment of Waste watwer. John Wiley and Sons. New York. 1981.

BIODATA PENULIS

Elin Nurlina, Dra., MT adalah Dosen Fakultas Teknik UNJANI