

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tembaga dan Toksisitasnya

Tembaga (cuprum) adalah logam yang berbentuk kristal dan pada tabel periodik unsur kimia termasuk dalam elemen transisi yang terletak pada orbital D. Secara kimia, senyawa yang dibentuk oleh logam tembaga mempunyai nilai valensi 1 dan 2.

Berbagai industri mempergunakan tembaga sebagai bahan dasar, diantaranya industri pelapisan dan peleburan logam, industri cat, industri tekstil dan industri pertanian. Dalam bidang pertanian tembaga dipergunakan sebagai bahan aktif penyusun fungisida dan algasida (Suharni, 1991 dan Cano, 1986).

Tembaga dalam perairan dapat termasuk dalam logam yang essential dan dapat juga termasuk dalam logam yang bersifat toksid (Sears and Gordon, 1990). Menurut Gandjar (1984), toksisitas dari logam tergantung pada jumlahnya, bentuk fisiko-kimia serta faktor-faktor yang lain. Tembaga dalam bentuk ion cuppri (Cu^{2+}) merupakan bentuk toksik, misalnya $\text{Cu}^{2+}\text{-Fe}_2\text{O}_3$, Cu^{2+} -asam humat. Bentuk ini merupakan bentuk yang mudah terserap oleh koloid organik.

Menurut Gandjar (1984), suatu elemen disebut toksis jika dapat merusak fungsi kehidupan suatu organisme, seperti pertumbuhan, reproduksi dan metabolisme. Dari segi toksikologi pencemaran logam tembaga dapat berakibat serius dan berlanjut, sehingga memberikan ancaman bagi manusia melalui proses bioakumulasi dan transfer pada rantai makanan. Toksisitas tembaga pada manusia dapat menimbulkan berbagai macam penyakit, diantaranya :

- ◆ Penyakit Wilson disease, penyakit ini adalah akibat kelebihan dalam mengakumulasi Cu^{2+} . Pada keadaan ini konsentrasi Cu^{2+} pada liver, otak, ginjal dan kornea mata tinggi. Gejala dari penyakit ini adalah terjadinya abnormalitas pada sistem saraf, liver, ginjal dan kornea mata.
- ◆ Penyakit Menken's disease (Menken's kinky hair syndrome), pada penyakit ini konsentrasi Cu^{2+} dalam liver dan otak rendah tetapi konsentrasi Cu^{2+} dalam jaringan lain tinggi, bahkan dalam sel dengan kenaikan konsentrasi Cu^{2+} akan mengurangi aktifitas beberapa enzim yang tergantung pada Cu. Adapun penderita penyakit ini mempunyai sifat seperti rambut khas (aneh), penghambatan mental, perubahan sistem saraf dan biasanya penderita meninggal pada umur tiga tahun.

(Casareet dan Doll's, 1986)

B. Mekanisme Toksisitas Tembaga Pada Organisme

Menurut Sears and Gordon (1990), formasi kompleks organik adalah faktor yang terpenting dalam menentukan toksisitas tembaga (Cu^{2+}) pada lingkungan. Toksisitas tersebut terletak pada kekuatan reaksi antara tembaga (Cu^{2+}) dengan makro molekul seluler. Protein mempunyai affinitas besar untuk membentuk ikatan kompleks dengan tembaga (Cu^{2+}) (Harwood dan Gordon, 1994).

Mekanisme utama toksisitas tembaga terjadi, karena tembaga bertindak sebagai oksidan dan berikatan dengan molekul organik seperti DNA dan protein (Harwood and Gordon, 1994). Menurut Cano and Colome (1986), di dalam sel tembaga terikat pada gugus sulfhidril dari protein, sehingga mengakibatkan terjadinya perubahan struktur molekuler protein dan menyebabkan terjadinya inaktivasi pada sistem enzima.

C. Interaksi Logam Dengan Bakteri

Logam dapat bersifat esensial dan dapat juga bersifat toksik bagi bakteri. Logam esensial sangat berperan dalam metabolisme sel. Logam esensial dibutuhkan dalam konsentrasi yang sangat rendah (kurang dari 0,001 % berat organisme). Tembaga merupakan logam esensial bagi bakteri tetapi pada konsentrasi yang melebihi kebutuhan akan menghambat pertumbuhan bakteri. Tembaga merupakan grup prostetik enzim oksigenase yang berperan dalam proses reduksi oksidasi (Cha dan Cooksey, 1991).

Menurut Hughes dan Poole (1989), toksisitas logam dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri, yaitu dapat mengurangi kecepatan pertumbuhan, memperpanjang lag fase dan menyebabkan adanya gangguan morfologi serta fisiologi, sedangkan Gadd (1990) menyatakan bahwa logam dapat mempengaruhi kelimpahan mikroorganisme serta reduksi jumlah bakteri. Menurut Edwards (1990), kemampuan bakteri untuk hidup dan berkembang dalam lingkungan mengandung logam tergantung pada adaptasi genetik dan fisiologi. Toleransi bakteri terhadap logam dapat disebabkan faktor intrinsik bakteri.

Mekanisme resistensi bakteri dalam menanggapi toksisitas logam, dapat terjadi melalui beberapa cara, yaitu pengikatan logam pada permukaan sel dan translokasi logam ke dalam sel, transformasi logam menjadi bentuk yang tidak toksik, kompleksasi ekstraseluler dan presipitasi (Hughes dan Poole, 1989; Gadd, 1990).

C. 1. Pengikatan logam pada permukaan sel bakteri dan Translokasi logam ke dalam sel bakteri

Pembentukan kompleks antara logam dan membran paling luar dari sel bakteri adalah hal yang terpenting dalam pengikatan logam oleh bakteri. Pengikatan logam pada permukaan sel bakteri terjadi karena kation logam terikat pada sisi reaktif muatan negatif polimer ekstra seluler (Beveridge dan Murray, 1980).

Menurut Hughes dan Poole (1989), permukaan sel bakteri bersifat anionik dikarenakan adanya gugus terionisasi seperti karboksil, hidroksil dan fosfat dalam berbagai polimer sel. Pada gugus tidak bermuatan seperti peptida, mempunyai atom N yang dapat berfungsi sebagai ligan untuk mengikat ion logam dengan ikatan koordinasi.

Translokasi logam secara intraseluler pada umumnya diawali dengan pengikatan logam pada permukaan sel dan dalam keadaan tertentu dilanjutkan dengan transpor logam melalui membran ke dalam sel. Transpor logam ke dalam sel dapat diikuti dengan akumulasi logam pada ruang tertentu dalam sel (Hughes dan Poole, 1989). Menurut Gadd (1990), di dalam sel logam diikat oleh protein pengikat logam atau metallothionin. Metallothionin berperan dalam detoksifikasi, deposisi dan pengaturan konsentrasi ion logam dalam sel. Metallothionin merupakan protein dengan BM rendah dan kaya sistein.

Transpor logam ke dalam sel berlangsung lebih lambat dibandingkan dengan proses pengikatan logam pada permukaan sel. Kecepatan transpor dipengaruhi oleh tingkat metabolik sel (Hughes and Poole, 1989; Gadd, 1990).

C. 2. Transformasi logam menjadi bentuk tidak toksik.

Bakteri dapat melakukan perubahan logam secara kimiawi dengan oksidasi, reduksi, metilasi dan demetilasi. Mekanisme tersebut dapat dijumpai pada *Pseudomonas* sp., *E. coli* dan *Staphylococcus aureus* yang resisten

terhadap senyawa organomerkuri, dengan menyusun mekanisme detoksifikasi yang melibatkan enzim merkuri reduktase dan organomerkurilias. Hasil penelitian Ishibashi (1990), *Pseudomonas putida* PRS 2000 mampu mereduksi Cr (VI) menjadi Cr (III) dengan melibatkan aktivitas khromat reduktase (Hughes and Poole, 1989; Gadd, 1990).

C. 3. Kompleksasi ekstraseluler

Beberapa bakteri memproduksi polimer ekstraseluler yang bersifat anionik, yaitu berupa protein, polisakarida dan asam nukleat. Polimer ini berfungsi sebagai penyerap biologis yang efisien dalam penyisiran kation logam, sehingga akan dihasilkan presipitat senyawa kompleks disekitar dinding sel bakteri dan medium. Mekanisme ini dapat mencegah masuknya ion logam ke dalam sel. Produk metabolit lain yang mampu mengikat logam dalam proses detoksifikasi logam, yaitu asam sitrat dan asam oksalat (Hughes and Poole, 1989; Gadd, 1990).

C. 4. Presipitasi

Bakteri pereduksi sulfat, Misalnya *Disulfovibrio* sp. mampu membentuk sulfit, yang berperan untuk mengikat logam Fe, Ni, Al dan Cr dari larutan dengan presipitasi pada permukaan sel sebagai logam sulfida. Sel dapat mengandung logam sampai 20 % berat kering sel (Gadd, 1990).

Biosorpsi logam berat ke permukaan sel secara nyata mengurangi kadar logam berat pada larutan tetapi tingkat pengurangan ini jauh diluar kendali metabolisme permukaan sel dan tergantung pada banyak faktor, seperti kadar logam dan biomassa, pH, kompetisi antara anion dan kation.

D. Bioremediasi Tembaga Oleh Bakteri

Atlas dan Bartha (1992), mendefinisikan bioremediasi sebagai bentuk pengontrolan lingkungan untuk membebaskan polutan atau untuk memperkecil pengaruh bahan-bahan toksik terhadap lingkungan dengan mempergunakan mikrobia. Menurut Beveridge dan Murray (1980), sifat kation toksik tembaga pada lingkungan tergantung dari interaksi ion tembaga dengan permukaan materi organik dan anorganik. Salah satu material organik yang berpotensi dalam pemindahan tembaga adalah permukaan sel bakteri.

Bakteri mempunyai beberapa tipe struktur permukaan sel, yaitu polimer ekstra seluler berupa lapisan atau kapsula serta dinding sel. Macam struktur permukaan tersebut merupakan bagian tunggal atau merupakan kombinasi sebagai komponen penyusun sel bakteri (Beveridge, 1989). Menurut Mclean (1994), dengan adanya sifat ionik dari permukaan bakteri menyebabkan bakteri mampu mengikat kation tembaga.

Sistem detoksifikasi tembaga pada bakteri dapat berlangsung melalui dua tahap, yaitu : pengikatan logam pada permukaan sel, kemudian dilanjutkan dengan transpor logam secara aktif ke dalam sel dan dilanjutkan dengan proses akumulasi (Mullen *et al.*, 1989).

Dinding sel bakteri gram positif mempunyai kapasitas yang tinggi dalam pengikatan ion tembaga. Hal ini dikarenakan adanya ketebalan dan karakter ionnya yang spesifik. Dinding sel bakteri gram positif terdiri dari kumpulan yang sangat terorganisir dari homopolimer dan heteropolimer ionik yang sebagian besar adalah peptidoglikan, serta adanya struktur polimer asam teikhonat yang juga bermuatan negatif (Mclean, 1994; Beveridge dan Murray, 1980). Hasil penelitian Mullen *et al.* (1989) menunjukkan bahwa dinding sel *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformes* mengikat 1 mM tembaga 28 sampai 33 kali lebih banyak daripada pengikatan tembaga yang dilakukan oleh dinding sel *E. coli*. Pengikatan tembaga pada dinding sel *Bacillus* tersebut paling reaktif terjadi pada gugus karboksil dan gugus fosfodiester asam teikhonat, sedangkan Mclean (1994) dari hasil penelitiannya menunjukkan bahwa tembaga yang diikat oleh dinding sel *Bacillus subtilis* menyebabkan adanya perubahan warna pada dinding sel menjadi hijau. Hal tersebut dikarenakan adanya satu atau lebih oksida tembaga dalam dinding sel *Bacillus subtilis*. Kunito *et al.* (1997), menunjukkan bahwa isolat bakteri gram positif yang diisolasi dari lingkungan tercemar tembaga mempunyai kemampuan tinggi mengikat tembaga daripada bakteri gram negatif.

Menurut Beveridge dan Murray (1980), pengikatan logam pada dinding sel bakteri terjadi melalui dua langkah, yaitu langkah pertama terjadi reaksi stoikiometri antara logam terlarut dan gugus kimia reaktif pada dinding sel bakteri, kemudian langkah kedua terjadi proses pengendapan logam.

Produksi polimer ekstra seluler merupakan salah satu cara untuk mengatur aktivitas ion tembaga oleh bakteri. Hasil penelitian Harwood dan Gordon (1994) menunjukkan bahwa pada kultur *Vibrio alginolitycus* yang telah diperlakukan dengan tembaga, ditemukan adanya protein dengan berat molekul 21 KDA pada bagian ekstraseluler sel. Protein ini tidak ditemukan pada perlakuan kontrol.

Mekanisme resistensi bakteri dalam menanggapi toksisitas tembaga dapat dilanjutkan dengan transpor logam ke dalam sel. Hasil penelitian Harwood dan Gordon (1990) menunjukkan bahwa *Vibrio alginolitycus* ada yang bersifat resisten dan ada yang sensitif terhadap tembaga. Profil protein pada kedua bakteri tersebut berbeda. *Vibrio alginolitycus* resisten tembaga mensintesis protein spesifik dengan BM 19 dan 21 KDA. *Vibrio alginolitycus* sensitif tembaga tidak mensintesis protein tersebut.

E. Faktor Yang Mempengaruhi Bioremediasi Tembaga Pada Bakteri

Menurut Mallick dan Rai (1993), faktor lingkungan yang mempengaruhi aktivitas mikrobia pada bioremediasi limbah logam berat, yaitu terdiri dari faktor lingkungan biotik dan faktor lingkungan abiotik. Faktor lingkungan biotik meliputi: sifat karakteristik mikrobia dan kepadatan sel sedangkan faktor lingkungan abiotik meliputi: pH, temperatur, kandungan nutrisi dan cahaya.

Faktor lingkungan yang sangat mempengaruhi pengikatan logam tembaga oleh bakteri, yaitu pH dan temperatur (Hughes dan Poole, 1989). Pengikatan tembaga oleh dinding sel atau polimer ekstra seluler secara kuat dipengaruhi oleh pH. Kondisi pH rendah dapat menyebabkan penurunan afinitas pengikatan logam tembaga pada dinding sel bakteri, hal ini disebabkan logam tembaga dan proton bersaing untuk mengikat gugus muatan negatif yang sama, sedangkan pada kondisi pH basa juga dapat menyebabkan penurunan aktivitas pengikatan logam tembaga pada dinding sel bakteri. Hal tersebut disebabkan logam tembaga secara spontan bereaksi dengan ion hidroksida membentuk ikatan logam hidroksida. Kondisi pH netral menyebabkan akumulasi logam tembaga oleh sel bakteri lebih besar dibandingkan dengan pH asam dan basa. (Mclean, 1994; Mallick dan Ray, 1993). Hasil penelitian Mclean (1994) menunjukkan bahwa pengikatan tembaga oleh dinding sel *Bacillus* sp. terjadi pada pH netral.

Proses pengikatan logam tembaga dengan dilanjutkan transpor tembaga ke dalam sel tergantung pada energi hasil metabolisme, jika temperatur tinggi akan menghambat proses tersebut (Hughes dan Poole, 1989). Hasil penelitian Kunito *et al.* (1997) menunjukkan bahwa akumulasi tembaga oleh isolat *Bacillus* sp. terjadi pada temperatur 30°C.

F. Hipotesis

Isolat *Bacillus* sp. yang diisolasi dari lumpur pengendap logam PT SIER, bersifat resisten terhadap tembaga. Resistensi disebabkan isolat *Bacillus* sp. mampu mengakumulasi tembaga.