

STUDI DESTRUKSI SIANIDA OLEH BAKTERI *Pseudomonas pseudoalcaligenes*

Study on Cyanide Destruction by Pseudomonas pseudoalcaligenes

ISMI HANDAYANI¹, BIMO P. HAPSORO¹ DAN NGURAH ARDHA²

¹ Program Studi Teknik Metalurgi, Institut Teknologi Bandung
Jl. Ganesha 10, Bandung 40132
Telp. & Fax: +62-22-250 0935
e-mail: bimoputrohapsoro@gmail.com

² Puslitbang Teknologi Mineral dan Batubara
Jalan Jenderal Sudirman 623, Bandung 40211
Telp. 022 6030483, Fax. 022 6003373

SARI

Proses sianidasi bijih emas umumnya menghasilkan limbah sianida yang beracun dan harus diolah sampai di bawah ambang batas yang diizinkan. Untuk itu diperlukan proses destruksi ion sianida menjadi senyawa yang lebih aman terhadap lingkungan. Salah satu mikroorganisme yang bisa mendestruksi sianida adalah bakteri. Dalam penelitian ini digunakan bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes* yang diketahui mampu mencerna sianida sebagai sumber nitrogen untuk kehidupannya, sehingga konsentrasi sianida diharapkan dapat menurun. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kemampuan bakteri tersebut mendestruksi sianida. Percobaan pertama dilakukan dengan variasi persen volume larutan kultur 1, 5, 10 dan 20%. Setelah diperoleh hasil paling baik, percobaan kedua memvariasikan konsentrasi asetat 25, 50, 75 dan 100 mM serta waktu tinggal proses 1, 3, 5, dan 7 hari. Percobaan ketiga dilakukan dengan memvariasikan persen volume larutan kultur lebih rendah menjadi 0,1; 0,5; 1 dan 2%. Hasilnya, bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes* mampu menurunkan konsentrasi sianida dari 700 menjadi 590 ppm dengan perlakuan volume larutan kultur bakteri 0,1% , pH sekitar 10, konsentrasi asetat 25 mM, waktu tinggal 7 hari.

Kata kunci : limbah, destruksi, sianida, bakteri, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*

ABSTRACT

Gold cyanidation process would generate waste of toxic cyanide and that must be processed until the concentration reaches below the limit of the regulation. Hence, destruction of the cyanide ions into such compound that environmentally acceptable level is required. In this study, microbial species of *Pseudomonas pseudoalcaligenes* was used, which is considerably capable to digest cyanide as the sole source of nitrogen for its living to produce less harmful product, so the cyanide concentration in the solution could be reduced. The purpose of the present study is to understand the capability of the bacteria to destruct cyanide. The first experiments were performed with the variation of percent volume of culture solution 1, 5, 10 and 20 %. The second experiments varied the acetate concentration of 25, 50, 75 and 100 mM for 1, 3, 5 and 7 days of the process. The third experiments were conducted again by varying the percent volume of the culture solution into the lower concentration of 0.1, 0.5, 1 and 2 %. The results confirmed that the bacterial species could detoxify cyanide from initially 700 ppm down to approximately 590 ppm under experimental conditions of using bacterial culture solution 0.1%, pH of about 10, acetate concentration of 25 mM within 7 days of the process.

Keywords : waste, destruction, cyanide, bacteria, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*

PENDAHULUAN

Proses pengolahan bijih emas dengan cara sianidasi umumnya akan mengeluarkan limbah dalam jumlah tertentu yang masih mengandung senyawa sianida. Jika konsentrasi sianida dalam limbah berada di atas ambang batas yang telah ditentukan maka akan berbahaya terhadap lingkungan, karena itu limbah tersebut perlu diolah terlebih dahulu. Proses pengolahannya dapat dilakukan melalui destruksi senyawa sianida, baik secara kimia maupun menggunakan mikroba (bakteri, jamur, algae). Beberapa proses destruksi sianida yang paling banyak diaplikasikan saat ini adalah destruksi secara kimia, seperti proses INCO (menggunakan sulfur dioksida), proses Degussa (menggunakan hidrogen peroksida), proses asam Caro (menggunakan campuran asam sulfat dan hidrogen peroksida) dan proses klorinasi asam-basa (menggunakan reagen yang menjadi sumber klorida seperti kaporit) (Botz, 1999). Bila dilihat dari reagen-reagen kimia yang digunakan, proses-proses destruksi tersebut di atas secara kimia merupakan proses menghilangkan senyawa berbahaya utama, tetapi masih berpotensi membahayakan lingkungan karena masih menggunakan oksidator kimia. Selain itu, proses destruksi cara kimia relatif mahal (Labarge Env. Serv, 2001).

Melihat kenyataan di atas, diperlukan alternatif proses pengolahan limbah sianida menggunakan metode bioremediasi dengan memanfaatkan mikroba bakteri. Diketahui bahwa senyawa sianida terdapat secara alami di dalam makhluk hidup dalam jumlah tertentu, hal ini menunjukkan bahwa sebenarnya sianida dapat dimanfaatkan oleh makhluk hidup. Dari berbagai makhluk hidup atau mikroorganisme yang bisa mendestruksi sianida adalah bakteri (Mudder dkk, 1998). Sianida merupakan senyawa yang mampu didestruksi secara alami, artinya ada mikroorganisme/bakteri yang mampu mencerna, mengoksidasi, mentransformasi atau mengkonversi senyawa sianida menjadi amonia dan/atau asam format, sehingga konsentrasi sianidanya menjadi berkurang dibandingkan konsentrasi semula. Syarat utama yang dibutuhkan untuk proses destruksi sianida adalah bakteri harus mampu hidup di lingkungan alkali (basa). Suasana basa sangat diperlukan karena menurut diagram Eh-pH sianida diketahui kesetimbangan ion sianida dan hidrogen sianida berada pada angka pH 9,2. Jika lingkungan memiliki pH di bawah 9,2, ion sianida cenderung menjadi hidrogen sianida yang mudah menguap dan rawan bagi kualitas udara dan lingkungan sekitarnya.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Luque-Almagro dkk (2011) maupun oleh Igeno dkk (2007), menyatakan bahwa bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT 5344 telah dapat digunakan dengan baik untuk mendestruksi limbah yang mengandung sianida. Bakteri ini diisolasi dari sungai Guadalquivir tempat pembuangan limbah proses *electroplating*. Mengacu pada hasil-hasil riset di luar negeri tersebut, maka penelitian ini akan mencoba menguji kemampuan bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes* untuk keperluan yang sama di daerah tropis seperti di Indonesia, namun dengan bibit (*strain*) yang tidak diketahui sumber asalnya. Bakteri ini diperoleh dari koleksi Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati – ITB.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes* dalam hal mendestruksi ion sianida dari senyawa sianida buatan (700 ppm) di laboratorium. Harapan dari penelitian ini adalah mendapatkan alternatif untuk mendegradasi limbah sianida selain cara kimia yaitu dengan cara bioremediasi oleh bakteri.

METODOLOGI

Penyiapan Larutan Sianida Baku.

Larutan baku sianida 1.000 ppm dibuat dengan cara menyiapkan 800 mL akuades ke dalam gelas Erlenmeyer berukuran 1 L. Setelah itu ditambahkan 100 mL larutan natrium hidroksida encer ke dalam gelas Erlenmeyer untuk mengatur kebasannya hingga menjadi pH 10,5. Selanjutnya ditambahkan 2,504 g kalium sianida. Akuades ditambahkan lagi hingga volume larutan tepat 1 L, lalu dikocok (hasilnya konsentrasi sianida = 1.000 ppm).

Pembuatan Larutan AgNO₃

Larutan AgNO₃ digunakan untuk analisis gravimetri. Akuades 800 mL dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer berukuran 1 L, dan ditambahkan 1,698 g AgNO₃, kemudian ditambahkan lagi akuades hingga volume larutan tepat 1 L dan dikocok (hasilnya konsentrasi larutan AgNO₃ = 0,01 M).

Penyiapan Kultur Bakteri

Bakteri yang diperoleh dari Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati – ITB berbentuk koloni dalam agar miring. Agar dapat digunakan untuk percobaan, bakteri tersebut harus diperbanyak (dikultur)

menggunakan media tumbuh nutrient broth (NB). Akuades 100 mL dituangkan ke dalam gelas Erlenmeyer 150 mL, kemudian bahan nutrisi berupa 0,5 g *beef extract* dan 0,3 g pepton dimasukkan ke dalamnya. Kedua bahan tersebut merupakan nutrisi bagi pertumbuhan bakteri. Setelah itu ditambahkan akuades sampai volume 150 mL dan larutan dibuat homogen. Sebelum digunakan untuk mengkultur bakteri, NB disterilisasi dengan Otoklaf terlebih dahulu. Setelah larutan NB steril, bakteri yang telah diperoleh diambil sedikit dan dilarutkan dalam NB kemudian digoyang-goyang selama 24 jam.

Pembuatan Inokulan

Inokulasi merupakan bentuk perlakuan percobaan terhadap bakteri yang telah dikultur. Tahap percobaan dimulai dengan inokulasi dan larutan yang berisi larutan bakteri, nutrisi, dan sianida pada percobaan ini disebut larutan inokulan. Percobaan dilakukan dengan menyiapkan 4 buah gelas Erlenmeyer yang telah dibilas dengan akuades. Konsentrasi sianida di dalam masing-masing gelas Erlenmeyer diatur menjadi 700 ppm dengan mencampurkan larutan sianida baku, akuades, dan kultur bakteri (volume masing-masing bahan campuran seperti tercantum pada Tabel 1).

Tabel 1. Komposisi larutan sianida 700 ppm dari 3 larutan berbeda

	%Volume			
	1	5	10	20
Sianida baku (mL)	105	105	105	105
Akuades (mL)	43,5	37,5	30	15
Larutan kultur (mL)	1,5	7,5	15	30
Total (mL)	150	150	150	150

Percobaan dan Pengambilan Percontoh

Pada percobaan tahap pertama, memipet larutan kultur bakteri yang telah dibuat menggunakan mikropipet untuk persen volume larutan kultur bakteri 1, 5, 10, dan 20%. Pada percobaan tahap kedua, larutan kultur bakteri yang ditambahkan adalah terhadap persen yang paling baik. Langkah berikutnya menambahkan larutan natrium asetat (teknis) masing-masing 1,417 g ke dalam 4 gelas Erlenmeyer (diperoleh konsentrasi natrium asetat awal 50 mM untuk percobaan tahap pertama). Untuk percobaan tahap kedua natrium asetat yang ditambahkan 0,5;

1; 1,5; dan 2 kali massa percobaan tahap pertama, dan untuk tahap ketiga dilakukan variasi pada persen volume larutan kultur bakteri 0,1; 0,5; 1 dan 2%. Untuk mengurangi kontaminasi bakteri dan/atau jamur dari udara, serta membiarkan oksigen bisa tetap masuk ke dalam gelas Erlenmeyer, bagian atas gelas ditutup dengan aluminium foil dan plastik. Lalu ke 4 gelas Erlenmeyer dikocok (*shaking*) dengan kecepatan 250 rpm. Pada percobaan tahap pertama, pengambilan percontoh dilakukan pada hari-hari ke 0, 2, 3, 4, dan 5. Pada percobaan tahap kedua dan ketiga pengambilan percontoh dilakukan pada hari-hari ke 0, 1, 3, 5, dan 7 (sekaligus menjadi variabel waktu). Pengambilan percontoh dilakukan dengan memipet tiga mililiter larutan dari masing-masing gelas Erlenmeyer ke dalam 4 buah gelas-gelas Vial untuk dianalisis pH-nya, juga diukur absorbansinya dengan Spektrofotometer. Untuk analisis gravimetri diambil larutan sekitar 13,5 mL dari masing-masing gelas Erlenmeyer dan dimasukkan ke dalam 4 buah tabung sentrifugal untuk proses sentrifugal selama 15 menit.

Analisis Kadar Sianida

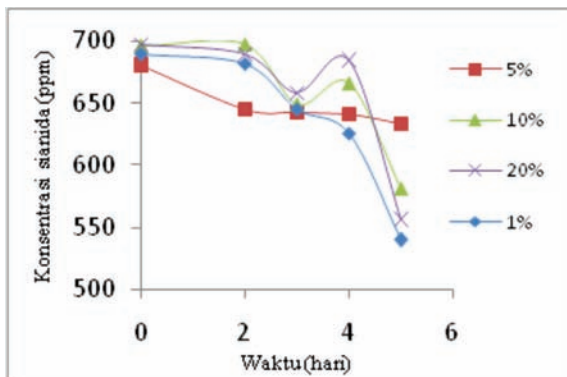
Analisis kimia kuantitatif dilakukan berdasarkan metode gravimetri (Basset dkk., 1994) sebagai berikut: Empat kertas saring Whatman dipanaskan dalam oven 100°C selama 2 jam. Kertas saring tersebut langsung dimasukkan ke dalam desikator setelah diambil dari oven selama 20 menit dan segera ditimbang untuk mendapatkan massa awal kertas saring. Setelah itu 10 mL dipipet dari larutan inokulan dan menuangkannya ke dalam *beaker glass* agar terbentuk endapan dan bisa ditimbang. Larutan inokulan ditetesi larutan AgNO₃ 0,01 M, selanjutnya dikocok sampai larutan menjadi berwarna putih dan terbentuk endapan. Endapan yang terbentuk pada *beaker glass* disaring dengan kertas saring Whatman. Setelah penyaringan selesai, kertas saring Whatman dikeringkan dalam oven 100°C selama 2 jam. Setelah pengeringan selesai, kertas saring langsung dimasukkan ke dalam desikator selama 20 menit dan ditimbang segera untuk diperoleh massa akhir kertas saring. Langkah terakhir mencatat selisih massa kertas saring awal dan akhir sebagai massa garam AgCN, dengan demikian konsentrasi sianida dalam larutan baku dapat dihitung dengan rumus perbandingan berat molekul.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Alur grafik pada Gambar 1 menunjukkan bahwa pada hari ke-5 konsentrasi sianida untuk semua

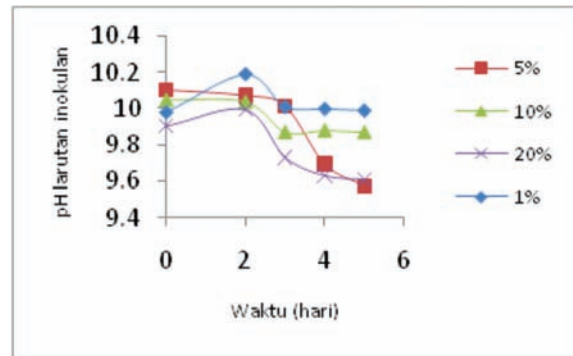
variasi persen volume larutan kultur bakteri nampak menurun. Hal ini menunjukkan bahwa ada kecenderungan bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes* dapat mendegradasi sianida.

Hasil terbaik diperoleh pada persen volume larutan kultur bakteri 1%. Fenomena ini menunjukkan bahwa belum tentu semakin banyak bakteri yang digunakan akan semakin banyak sianida yang terdegradasi. Bahkan sebaliknya pada volume larutan kultur bakteri 5% menghasilkan laju degradasi sianida sangat lambat. Hal ini mungkin disebabkan karena jika terlalu banyak bakteri dalam larutan menyebabkan kebutuhan nutrisi semakin banyak. Nutrisi dalam percobaan ini tidak berubah sehingga bakteri dalam jumlah besar akan beradaptasi hanya untuk hidup saja dalam kondisi lingkungan yang minim. Hal ini mendorong bakteri untuk menurunkan kecepatan metabolismenya yang akhirnya menyebabkan kecepatan degradasi sianida berlangsung lambat.



Gambar 1. Pengaruh volume kultur dan waktu proses terhadap konsentrasi sianida

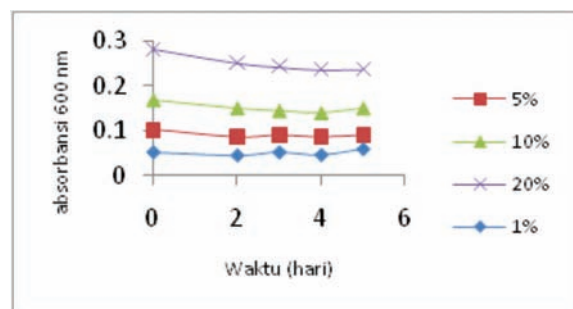
Dari grafik Gambar 2 dapat diamati bahwa penurunan pH untuk volume 1% tidak signifikan yaitu pH larutan tetap terjaga di level 10. Kondisinya berbeda untuk volume 20% yaitu pH larutan inokulan turun hingga ke level 9,6. Penurunan pH hingga 9,2 dihindari karena rawan terbentuk gas HCN yang diketahui berbahaya terhadap lingkungan sekitar. Penurunan pH ini mungkin disebabkan karena terbentuknya asam dari proses metabolisme banyaknya bakteri itu sendiri. Respirasi glukosa akan menghasilkan asam sitrat yang tentu akan menurunkan pH larutan. Untuk menghindari menguapnya sianida menjadi gas sianida dapat ditambahkan kapur ke dalam larutan ketika pH larutan turun hingga mendekati angka 9,2. Untuk



Gambar 2. Pengaruh waktu dan volume kultur terhadap pH larutan inokulan

peningkatan pH pada hari kedua disebabkan oleh banyaknya bakteri yang mati. Bakteri yang mati akan mengalami lisis (pemecahan sel) pada protein di dalam selnya yang akan melepaskan ion amine. Ion-ion amine ini akan mengonsumsi H^+ dan menyebabkan pH larutan inokulan turun (Clayden dkk, 2001).

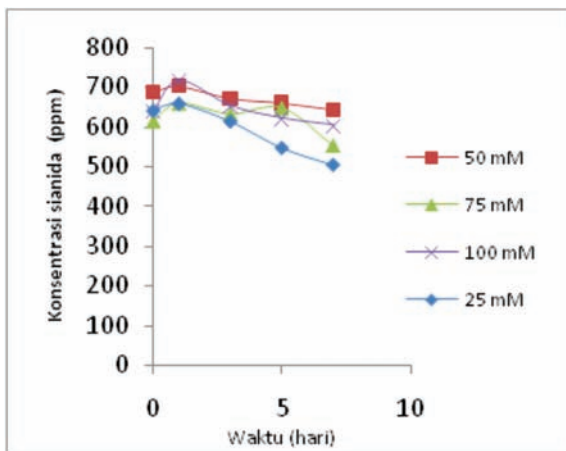
Pengamatan berikutnya menunjukkan bahwa semakin besar persen volume larutan kultur bakteri menyebabkan nilai absorbansi larutan menjadi semakin besar karena larutan menjadi semakin keruh dan bakteri yang ada dalam larutan juga semakin banyak seperti ditunjukkan oleh Gambar 3. Namun nilai absorbansi pada larutan inokulan berbeda kecenderungannya bila dibandingkan dengan larutan kultur. Pada larutan kultur nilai absorbansi cenderung meningkat secara drastis dalam satu hari. Sebaliknya pada larutan inokulan ini memiliki nilai absorbansi yang relatif tetap, adanya perubahan pun tidak drastis. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri dalam larutan inokulan tidak berkembang sebaik di larutan kultur yang terbuat dari *nutrient broth* (NB). Dari hasil ini, dapat dijelaskan bahwa bakteri yang dikembangkan secara in situ dari ling-



Gambar 3. Pengaruh waktu dan volume kultur terhadap absorbansi

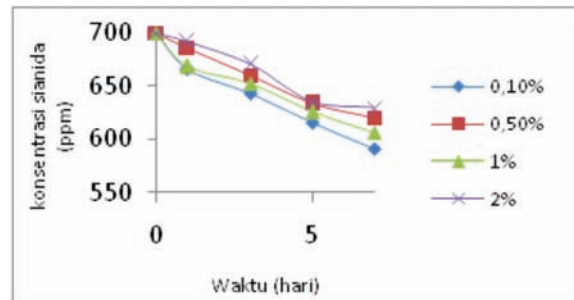
kungan sekitar limbah pabrik emas bisa memiliki kemampuan berkembang yang lebih baik seperti pada hasil penelitian yang telah dilakukan Huertas dkk. (2006) yakni menggunakan *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT 5344. Adapun bakteri yang digunakan dalam percobaan ini memiliki kemampuan yang berbeda untuk mencerna sianida yaitu memiliki nilai absorpsi yang lebih rendah bila dibandingkan dengan kemampuan bakteri yang dikembangkan secara in situ (Huertas dkk, 2006).

Dari grafik pada Gambar 4 tampak bahwa proses degradasi sianida terbaik adalah dengan penambahan 25 mM asetat (0,5 kali konsentrasi asetat pada percobaan pertama), diikuti dengan penambahan asetat 75 mM dan 100 mM. Penambahan 50 mM asetat merupakan hasil terburuk proses degradasi oleh bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes*. Karbon yang diambil dari asetat merupakan senyawa struktural penyusun sel hidup. Bila organisme kekurangan senyawa penyusunnya, dapat dipastikan bakteri tidak dapat hidup secara normal. Pada percobaan ini diketahui bahwa asetat yang diperlukan bakteri untuk dapat hidup dan mendegradasi ion sianida sekitar 25 mM.



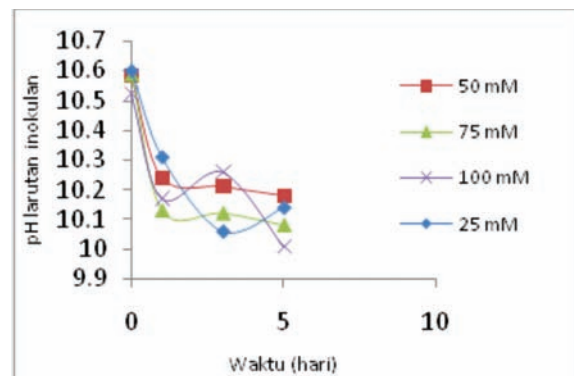
Gambar 4. Pengaruh konsentrasi asetat dan waktu terhadap konsentrasi sianida

Gambar 5 menunjukkan bahwa persen volume larutan kultur 0,1% memberikan hasil terbaik. Meskipun tidak berbeda jauh jika dibandingkan dengan persen larutan kultur 1%, namun dari segi jumlah dan harga, tentu persen volume yang lebih kecil (0,1%) akan lebih menguntungkan (lebih hemat) karena biaya untuk pembuatan mediumnya akan lebih murah.



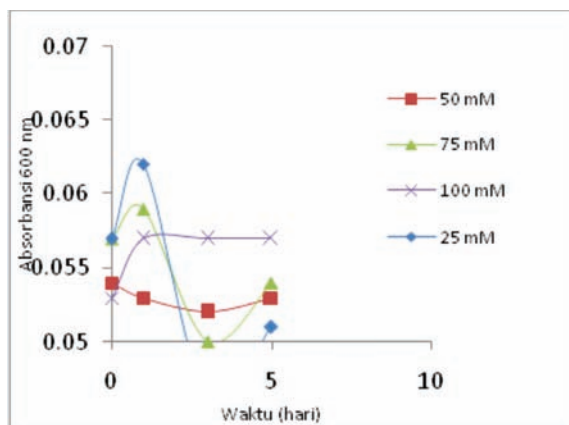
Gambar 5. Pengaruh volume kultur dan waktu terhadap konsentrasi sianida.

Dari grafik Gambar 6 dapat dilihat bahwa pengaturan pH awal larutan inokulan antara 10,5-10,6, sedangkan pada percobaan pertama antara 9,9-10,1. Meski pada akhirnya pH larutan turun hingga level sekitar 10-10,2, namun data ini menunjukkan bahwa pH memengaruhi aktivitas bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes*. pH optimum untuk pertumbuhan *Pseudomonas pseudoalcaligenes* adalah 8,5 (Luque-Almagro dkk, 2008). Dengan demikian, bakteri tersebut bersifat alkaliphile karena pH maksimum pertumbuhannya sekitar 10,1. Hal ini ditunjukkan dari hasil percobaan pertama dan kedua, yaitu dengan varian persen volume larutan kultur bakteri dan konsentrasi asetat yang sama bisa menunjukkan hasil yang berbeda cukup signifikan. Pada kondisi pH mencapai 10,5 nampaknya banyak bakteri yang tidak tahan dengan lingkungan larutan yang terlalu basa, akibatnya banyak bakteri yang mati. Hanya bakteri yang mampu beradaptasi yang bisa bertahan hidup. Kehidupan ini dibuktikan dengan sedikit menurunnya pH larutan yang dapat digunakan sebagai indikator. Penurunan pH mengindikasikan kehidupan bakteri yang sehat dengan menghasilkan asam sitrat dan asam format (Michael dan Martinko, 2006).



Gambar 6. Pengaruh konsentrasi asetat dan waktu terhadap pH larutan inokulan

Gambar 7 menunjukkan kecenderungan yang sama dengan grafik pada Gambar 3, yaitu tidak terjadi perubahan nilai absorbansi secara radikal. Perlakuan yang sama diberikan pada percobaan tahap pertama dan tahap kedua, yaitu tidak ditambahkan nutrisi mikro pada larutan inokulan. Kekurangan nutrisi mikro pada bakteri menyebabkan bakteri tidak mampu tumbuh berkembang secara optimal, sehingga proses degradasi sianida terjadi lebih dikarenakan oleh bakteri yang sudah dilarutkan dalam larutan inokulan. Untuk penambahan asetat 25 mM menunjukkan peningkatan absorbansi di hari ke-1, kemudian absorbansinya naik pada hari ke-3, dan turun pada hari ke-5. Kecenderungan ini bisa disebabkan karena bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes* bisa tumbuh pada kondisi ini, namun juga bisa cepat mati. Kecenderungan ini juga ditunjukkan oleh penambahan 75 mM. Berbeda dengan penambahan 25 mM dan 75 mM, penambahan asetat 50 dan 100 mM relatif menunjukkan absorbansi yang tetap.



Gambar 7. Pengaruh konsentrasi asetat dan waktu terhadap absorbansi

Dalam metabolismenya, bakteri menghasilkan H^+ yang akan menurunkan pH larutan. Senyawa H^+ ini dihasilkan dari proses respirasi glukosa melalui siklus asam sitrat (Clayden dkk, 2001). Dengan demikian, apabila pH larutan semakin menurun, hal ini menunjukkan bahwa bakteri dalam larutan dapat tumbuh. Untuk pertumbuhannya, bakteri memerlukan respirasi metabolisme glukosa agar memperoleh energi dari reaktan dalam bentuk ATP (*Adenosine Triphosphate*). Proses biosintesis asam sitrat ini juga menghasilkan *oxaloacetate*, yang dibutuhkan bakteri untuk menghasilkan asam amino. Dalam hal ini, proses metabolisme *Pseudomonas pseudoalcaligenes* memanfaatkan

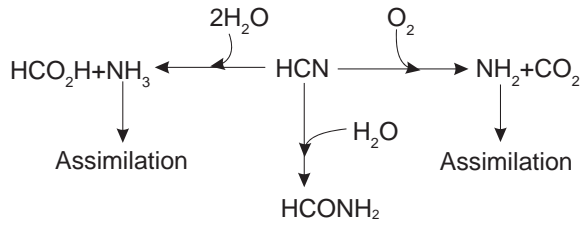
sianida sebagai sumber nitrogennya dalam menghasilkan asam amino.

Dalam percobaan ini bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes* yang diperoleh dari Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati - ITB kurang efektif bila dibandingkan dengan kemampuan destruksi *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT 5344 yang telah dilakukan oleh Igeno dkk (2007) yang mampu mengasimilasi seluruh sianida (2 mM) dalam larutan selama 90 jam.

Dalam proses degradasi sianida pada percobaan ini, bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes* hanya menggunakan sianida sebagai satu-satunya sumber nitrogen dan merespon terhadap senyawa ini kemungkinan dengan mekanisme pertahanan dari penghilangan unsur besi, kerusakan oksidatif, dan tekanan nitrogen seperti yang pernah dipaparkan oleh Victor dkk (2008). Kunz dkk (1998) menyatakan bahwa kemampuan bakteri strain CECT 5344 dengan adanya senyawa nitrogen yang diisolasi dari media yang mengandung sianida mengindikasikan bahwa degradasi sianida diawali dengan produksi *oxaloacetate*, yang bereaksi dengan sianida membentuk *cyanohidrin*. Secara umum dalam dunia mikrobiologi telah diketahui bahwa sianida bebas bereaksi dengan *2-oxoacids* untuk menghasilkan *nitrile*. Sementara itu, Fernandez dan Kunz (2005) mengemukakan bahwa sianida didegradasi menjadi asam format dan ammonia. Oleh karena itu, pembentukan *oxaloacetate* yang terinduksi oleh sianida dan akumulasi *nitrile* sementara dalam bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT 5344 dipercaya sebagai sumber informasi pertama keterlibatan *2-oxoacids* dan *nitrile* dalam proses degradasi sianida. Namun, demikian, pada penelitian ini, enzim *oxoacids* yang dihasilkan oleh bakteri yang digunakan dalam percobaan ini kemungkinan tidak sebanyak *strain* CECT 5344, sehingga hasil degradasi sianida tidak sebaik pada CECT 5344. Enzim *oxoacids* ini berperan dalam pembentukan *nitrile*, dan dengan adanya *oxaloacetate* akan mendegradasi sianida menjadi asam format dan amonia.

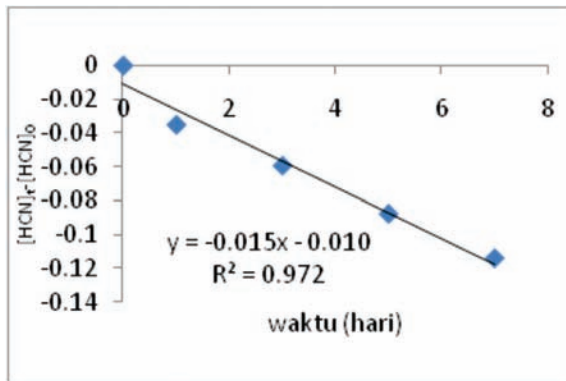
Berdasarkan Gambar 8, dapat dilihat bahwa dengan adanya H_2O asam sianida dapat diurai menjadi amonia dan asam format.

Reaksi hidrogen sianida dengan air yang menghasilkan amonia dan asam format sama dengan laju pengurangan hidrogen sianida dan H_2O . Reaksi ini merupakan reaksi homogen karena reaktan yang bereaksi adalah sama-sama dalam bentuk larutan.

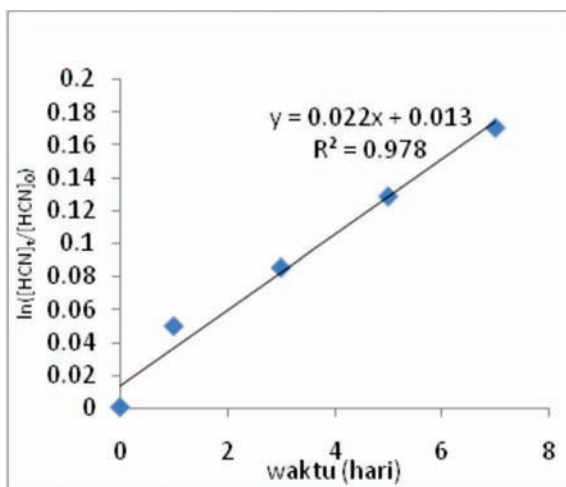


Gambar 8. Rute asimilasi sianida oleh *Pseudomonas fluorescens* NCIMB11764 (Kunz dkk, 1998)

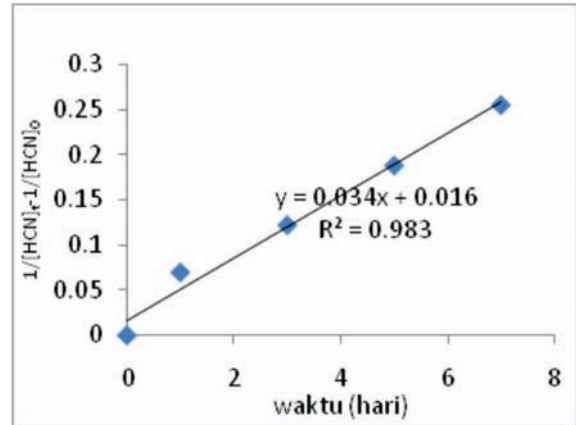
Untuk menentukan orde reaksi dari proses destruksi sianida dengan bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, pada Gambar 9 hingga 12 ditampilkan pengaluran grafik reaksi orde ke-nol sampai orde ke-dua dan reaksi yang orde reaksinya berubah dengan konsentrasi.



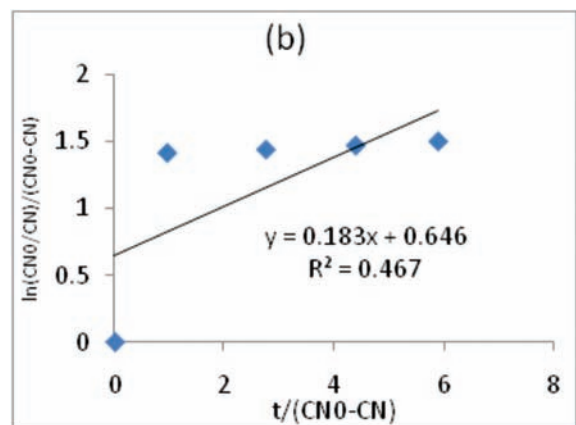
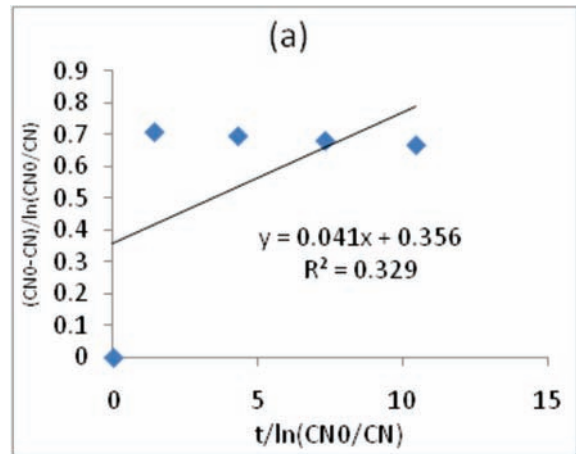
Gambar 9. Grafik [HCN] terhadap waktu untuk reaksi orde ke-0



Gambar 10. Grafik ln [HCN] terhadap waktu untuk reaksi orde ke-1.



Gambar 11. Grafik 1/[HCN] terhadap waktu untuk reaksi orde ke-2.



Gambar 12. (a) dan (b) orde reaksi berubah dengan konsentrasi

Selain reaksi orde 0, ke-1, dan ke-2, masih ada reaksi autokatalitik, reaksi ireversibel yang berlangsung seri, reaksi reversibel orde-1, dan reaksi yang orde reaksinya berubah dengan konsentrasi. Reaksi

autokatalitik tidak mungkin terjadi karena reaksi hidrogen sianida dengan air tidak menghasilkan produk yang menjadi katalis dalam reaksi. Reaksi ireversibel juga tidak mungkin terjadi karena reaksi yang terjadi bukan secara seri. Reaksi hidrogen sianida dengan air juga tidak bersifat reversibel, sehingga reaksi reversibel orde 1 juga tidak mungkin terjadi.

Oleh karena itu, berdasarkan alur grafik Gambar 9 sampai Gambar 12 diperoleh bahwa orde reaksi untuk reaksi hidrogen sianida dengan air dan dengan enzim yang dihasilkan adalah nol. Hal ini dikarenakan pada orde reaksi ke-0 memiliki nilai R² paling mendekati nilai satu. Dari Gambar 9 diperoleh persamaan garis:

$$\frac{1}{[\text{HCN}]_t} - \frac{1}{[\text{HCN}]_0} = 0,035x + 0,0168$$

Nilai tetapan untuk laju reaksi degradasi sianida dalam percobaan ini diperoleh sebesar 0,0345. Reaksi orde 2 ini menunjukkan bahwa konsentrasi HCN memengaruhi kecepatan destruksinya oleh bakteri, dan penambahan konsentrasi sianida juga akan meningkatkan kecepatan destruksinya.

Laju reaksi yang dihitung dalam percobaan ini adalah dalam kondisi percobaan yang dilakukan secara aerobik dalam suhu ruangan. Laju reaksi ini hanya melihat banyaknya pengurangan/degradasi sianida dalam bentuk hidrogen sianida, namun tidak mengamati jumlah pembentukan asam format maupun amonia.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes* mampu menurunkan konsentrasi sianida dari 700 menjadi 590 ppm dengan perlakuan volume larutan kultur bakteri 0,1% pada pH sekitar 10, konsentrasi asetat 25 mM, waktu proses 7 hari. Kinetika reaksi destruksi sianida oleh enzim bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes* merupakan reaksi orde nol.

Saran

Faktor yang memengaruhi efektivitas destruksi sianida selain persen volume larutan kultur dan kon-

sentrisi asetat adalah suhu lingkungan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Luque-Almagro dkk (2008), suhu optimum pertumbuhan bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes* adalah 65°C. Karena itu, perlu dilakukan percobaan lanjutan dengan memvariasikan suhu lingkungan untuk inokulasi. Suhu tidak perlu terlalu mendekati 65°C untuk menghindari penguapan sianida terlarut.

Konsentrasi senyawa sianida buatan (700 ppm) dalam penelitian ini mungkin terlalu tinggi, dalam hal ini kemampuan bakteri mendegradasinya kemungkinan juga terbatas. Oleh karena itu, perlu dicoba terhadap limbah pengolahan emas riil yang dibuang ke perairan yang ada di Indonesia saat ini dari semula belasan mg/L agar menjadi di bawah ambang batas 0,5 mg/L menurut Kementerian negara Lingkungan Hidup (2004).

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima disampaikan kepada Robi Suryaning Sulisty, Muhammad Alfi Arinanda, dan Yahdini Qornin yang telah membantu dalam proses penelitian mulai dari persiapan percontohan, pembelian bahan-bahan proses, hingga pengolahan data.

DAFTAR PUSTAKA

- Basset J., R.C.Denney, G.H. Jeffrey and J.Mendham, 1994. Buku ajar VOGEL – Analisis kimia kuantitatif anorganik. Jakarta: Penerbit buku kedokteran EGC, hlm 129 dan 580.
- Botz, Michael, 1999. Overview of cyanide treatment methods, Booklet by The Gold Institute, unpublished.
- Clayden J., N. Greeves, S. Warren and P. Wothers, 2001. *Organic chemistry*, 1st edition, Oxford University Press.
- Fernandez R.F. and D. A. Kunz, 2005. Bacterial cyanide oxygenase is a suite of enzymes catalyzing the scavenging and adventitious utilization of cyanide as a nitrogenous growth substrate. *Journal Bacteriol*, 187, p. 6396–6402.
- Huertas M.J., V.M. Luque-Almagro, M. Martinez-Luque, R. Blasco, C. Moreno-Vivian, F. Castillo, M.D. Roldan, 2006. Cyanide metabolism of *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT 5344: role of siderophores, *Biochemical Society Transactions*, 34 (pt. 1), p. 152-155.

- Igeno M.I., E. Orovengua, M. I. Guijo, F. Merchan, A. Quesada and R. Blasco, 2007. Biodegradation of cyanide containing wastes by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344, Universidad de Extremadura, Caceres, Unpublished.
- Kementerian Negara Lingkungan Hidup, 2004. Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup Nomor 202/2004 tentang baku mutu air limbah bagi usaha dan/atau kegiatan pertambangan bijih emas dan/atau tembaga, Lampiran II.
- Kunz D.A., J.L.Chen and G.Pan, 1998. Accumulation of a-keto acids as essential components in cyanide assimilation by *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 11764. *Applied Environmental Microbiology*, 64, p. 4452–4459.
- Labarge Environmental Services, 2001. Cyanide, the facts, Merg Report 2001-2, unpublished.
- Luque-Almagro V.M., Maria-J. Huertas, Lara P. Saez, Manuel Martinez Luque-Romero, Conrado Moreno-Vivian, Francisco Castillo, M. Dolores Roldan and Rafael Blasco, 2008. Characterization of the *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 Cyanase, an enzyme that is not essential for cyanide assimilation, *Applied Environmental Microbiology*, p. 6280-6288.
- Luque-Almagro V.M., F. Merchan, R. Blasco, M. I. Igeno, M. Martinez-Luque, C. Moreno-Vivian, F. Castillo and D. Roldan, 2011. Cyanide degradation by *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 involves a malate : quinone oxidoreductase and an associated cyanide-insensitive electron transfer chain. *Microbiology*, p. 742.
- Michael T. M. and J.M. Martinko. 2006. *Brock – Biology of microorganism*. New Jersey: Pearson Education, Inc. p. 127.
- Mudder T.I., F. Fox, J. Whitlock, T. F. Smith, R.G. Waterland and J. Vietl, 1998. Biological treatment of cyanidation wastewaters: design, startup, and operation of a full scale facility, *Cyanide Monograph*, London.
- Víctor M., Luque-Almagro, María-J. Huertas, Lara P. Saez, M. M. Luque-Romero, C. Moreno-Vivian, F. Castillo, M. D. Roldan and R. Blasco, 2008. Characterization of the *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344 Cyanase, an Enzyme that is not essential for cyanide assimilation. *Applied And Environmental Microbiology*, Oct, Vol. 74, No. 20, p.6280–6288.