

UJI TOKSISITAS AIR LIMBAH PENYAMAKAN KULIT MENGUNAKAN METODE PENGHAMBATAN PERTUMBUHAN *LEMNA SP.*

Budhi Priyanto

Balai Teknologi Lingkungan
Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi

Abstract

Various organisms, including Lemna sp., have been employed in the toxicity test of waste, soil, and water. In this experiment Lemna sp. were exposed to waste water collected from tanneries in Garut, West Java. The experiment system includes liquid medium (macro and micro salts of Murashige and Skoog), to which a series of concentrations of the pre-filter-sterilized tannery waste water were added aseptically. Aseptic grown Lemna sp. were placed on the medium in a density of 10 fronds per medium container. The system was then incubated for 7 days under continuous daylight fluorescent lamps and the number of fronds, fresh weight and chlorophyll content of the plants were determined. The results show that EC50 of the tannery waste water is 0.66% of waste water. The LOEC value is 0.1% and the NOEC value could not be determined but should below 0.1%. This experiment suggests that tannery waste water is dangerous to aquatic plants if it was discharged to public water body without appropriate pre-treatment.

Key words: *Lemna, waste water, tannery, EC50*

1. PENDAHULUAN

Air limbah penyamakan kulit merupakan salah satu kelompok zat pencemar yang digolongkan sebagai bahan berbahaya dan beracun, terutama karena kandungan krom di dalam air limbah. Proses produksi pada kebanyakan industri kecil penyamakan kulit di Indonesia tidak menerapkan pemisahan arus krom dengan yang lain. Hal ini menimbulkan resiko tingginya kadar krom dalam air limbah yang dilepas ke lingkungan, yang akhirnya dapat membahayakan kehidupan di perairan dan tanah.

Pengujian toksisitas suatu air limbah atau zat polutan dapat dilakukan dengan tumbuhan tingkat tinggi, baik tumbuhan terestrial¹⁾ maupun tumbuhan akuatik, misalnya *Lemna sp.*²⁾ atau makrofit lain^{3,4)}, algae^{4,5)} dan hewan akuatik⁵⁾. *Lemna gibba* telah dipakai untuk menguji dampak senyawa farmasi, termasuk antibiotika⁶⁾, senyawa fenol⁷⁾, hidrokarbon aromatik^{8,9,10)}, dan asam haloasetat¹¹⁾. *Lemna minor L.* telah digunakan oleh Zhang dan Jin¹²⁾ untuk menguji toksisitas air limbah akrilik dan oleh Weltje *et. al.*¹³⁾ untuk menguji toksisitas logam lantanum.

Untuk menduga dampak dari air limbah penyamakan kulit yang dibuang

ke perairan umum dengan tanpa didahului pengolahan limbah dan pemisahan krom, sebuah penelitian uji toksisitas telah dilakukan dengan menggunakan galur *Lemna* yang disimpan di Balai Teknologi Lingkungan BPPT. Dalam makalah ini akan disampaikan hasil pengujian toksisitas air limbah penyamakan kulit yang mengandung kromium terhadap *Lemna* sp. dengan pendekatan metode penghambatan pertumbuhan.

2. METODOLOGI

2.1. Biakan *Lemna* sp.

Lemna sp. diisolasi dari kolam musiman di kampung Prumpung, kecamatan Gunung Sindur, kabupaten Bogor. Setelah dicuci dengan air steril, fron direndam dalam larutan hipoklorit. Setelah dibilas tiga kali dengan air steril, fron ditanam dalam medium MSmod (unsur makro dan mikro dari resep Murashige dan Skoog¹⁴), kecuali besi diberikan sebanyak 42 mg/l NaFeEDTA); setiap botol diisi dengan 10 fron. Biakan *Lemna* sp. diperbaharui setiap 2 minggu atau setelah seluruh permukaan botol kultur dipenuhi oleh fron (antara 150 hingga 300 fron).

2.2. Limbah penyamakan kulit

Tabel 1. Karakteristik air limbah penyamakan kulit dari Sukaregang, Garut

Parameter	Konsentrasi, mg/l
BOD ₅	1.265,05
COD	8.541,67
Cu	0,30
Cr	8.554,05
Cr(VI)	2,81
N-Kjeldahl	701,83
N-amoniak	0,22
TSS	3.676,00

Air limbah penyamakan kulit diambil dari kolam penampungan bersama dari beberapa industri kecil penyamakan kulit di Sukaregang, Garut, Jawa Barat. Dari hasil analisis terhadap air limbah yang dilakukan oleh Laboratorium Analitik, Balai Teknologi Lingkungan, BPPT, di Puspiptek Serpong, karakteristik air limbah tersebut adalah seperti yang disajikan dalam Tabel 1.

2.3. Prosedur pengujian

Botol biakan diletakkan dalam rak pertumbuhan dengan diberi pencahayaan lampu TL tipe cool *daylight* yang datang dari samping sebesar ± 7.000 lux secara terus menerus selama 24 jam sehari. Biakan dipelihara selama 7 hari dan pada hari ke-1, ke-3, ke-5, dan ke-7 dilakukan penghitungan jumlah fron. Pengamatan kualitas fron dilakukan setiap hari.

Pada hari ke-7, keenam botol pada setiap perlakuan dibagi dua kelompok, yaitu 3 botol untuk penetapan berat basah dan 3 botol untuk penetapan kandungan klorofil. Untuk penetapan berat basah, fron dipanen dan , setelah ditiriskan di atas kertas saring selama beberapa menit, semua fron ditimbang berat basahnya. Untuk penetapan kandungan klorofil a dan klorofil b, fron dari tiap botol dipanen dan dipindahkan langsung ke dalam mortar. Setelah ekstraksi dengan 2 ml aseton 80%, volume ekstrak dijadikan 10 ml dengan H₂O. Kandungan klorofil a dan klorofil b dihitung dengan pendekatan yang dijelaskan dalam Gros¹⁵.

Nilai laju pertumbuhan dan waktu mengganda biakan *Lemna* sp. ditetapkan dengan cara yang diterangkan dalam OECD². Data kemudian diplot dan regresi dihitung dengan cara yang diterangkan dalam Steel dan Torrie¹⁶. Nilai EC50, LOEC dan NOEC ditetapkan menurut cara².

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Air limbah yang dikoleksi di Sukaregang, Garut, berasal dari proses penyamakan kulit yang tidak memisahkan arus kromium dan arus limbah yang lain. Seperti terlihat dalam Tabel 1, air limbah penyamakan kulit yang dipakai dalam percobaan ini mengandung sejumlah besar logam berat kromium. Seperti yang tampak pada Tabel 2, dugaan kandungan logam kromium (total) di dalam medium uji yang digunakan pada percobaan ini berada dalam selang antara 0 dan 171,08 mg/l medium, dan konsentrasi logam Cr(VI) berkisar antara 0 dan 1,2 mg/l.

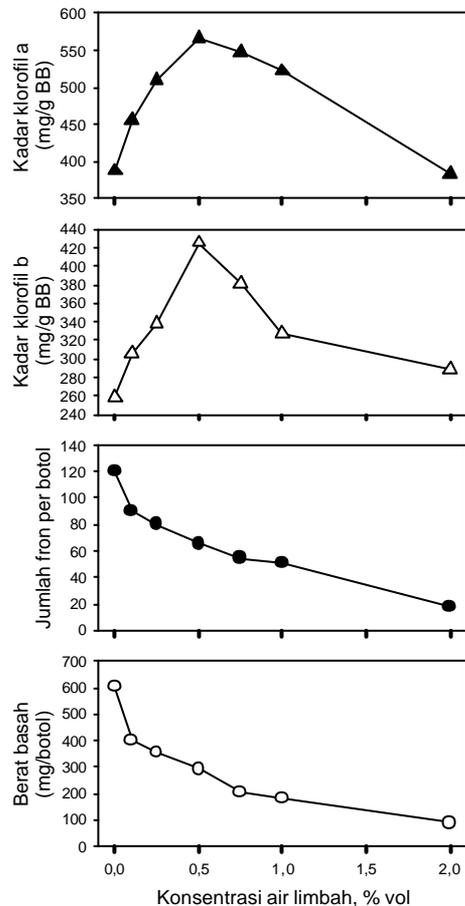
Tabel 2. Dugaan kadar Cr dan Cr(VI) dalam medium pertumbuhan *Lemna* sp.

Konsentrasi air limbah % vol	Konsentrasi terhitung logam berat, mg/l	
	Cr	Cr(VI)
0	0	0
0,1	8,55	0,06
0,25	21,39	0,15
0,5	42,77	0,30
0,75	64,16	0,45
1	85,54	0,60
2	171,08	1,20

Analisis parameter uji toksisitas dapat dilakukan berdasar pada data berat kering dan berat basah, jumlah fron, maupun indikator fisiologi seperti kadar klorofil. Gambar 1 memperlihatkan respon dari 4 parameter biakan *Lemna* sp. yang diamati dalam percobaan ini, yaitu jumlah fron, berat basah, kandungan klorofil a dan klorofil b.

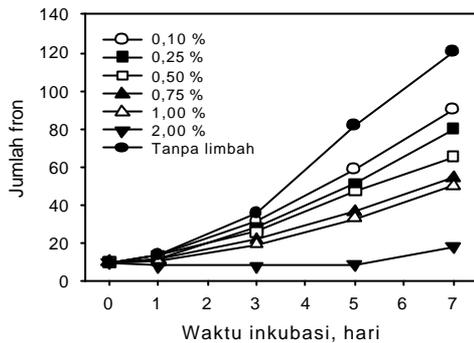
Tampak dalam Gambar 1, bahwa jumlah fron dan berat basah menghasilkan pola yang menunjukkan kepekaan respon yang baik pada seluruh konsentrasi air limbah yang dicobakan. Walaupun kandungan klorofil a dan

klorofil b menunjukkan kepekaan yang baik, namun responnya di atas respon kontrol dan pola yang dihasilkan sukar untuk dibahas. OECD²⁾ menganjurkan bahwa respon pada konsentrasi polutan tertinggi harus secara nyata lebih rendah daripada kontrol. Hal ini jelas tidak terpenuhi bila yang dinilai adalah klorofil a dan klorofil b. Dengan demikian hanya parameter jumlah fron dan berat basah yang akan digunakan dalam perhitungan EC50 dan LOEC. Hasil ini sejalan dengan yang diperoleh Brain *et al.*⁶⁾ pada *Lemna gibba* yang dipaparkan terhadap antibiotika.



Gambar 1. Respon dari 4 parameter uji pertumbuhan *Lemna* sp. terhadap konsentrasi air limbah penyamakan kulit.

Biakan *Lemna* sp. yang dipakai dalam percobaan ini merupakan biakan aseptik yang telah dipelihara secara terus menerus dalam medium buatan selama lebih dari 3 tahun. Untuk memenuhi persyaratan kecepatan pertumbuhan (waktu ganda) kurang dari 2 hari²⁾, maka dalam 6 minggu terakhir sebelum percobaan biakan diremajakan setiap 2 minggu. Dengan demikian biakan yang dipakai dalam percobaan akan cepat beradaptasi dengan medium baru.



Gambar 2. Pola pertumbuhan *Lemna* sp. dalam medium MSmod yang diberi tambahan air limbah penyamakan kulit.

Seperti yang tampak pada Gambar 2, pertumbuhan *Lemna* sp. hanya mengalami sedikit lag di antara hari ke-2 dan ke-3, dan setelah itu pertumbuhan menunjukkan pola eksponensial. Laju pertumbuhan (μ) dan waktu mengganda (T_d) dari biakan *Lemna* sp. pada kontrol adalah masing-masing $0,354 \pm 0,022$ dan $2,0 \pm 0,1$ pada hari ke-7. Waktu mengganda yang dicapai tersebut memenuhi persyaratan kualitas pertumbuhan yang ditetapkan oleh OECD²⁾.

Pola pertumbuhan seperti tampak pada Gambar 2 tersebut menunjukkan terjadinya penghambatan pertumbuhan sebagai akibat pemaparan terhadap air limbah industri kulit. Tampak, bahwa penghambatan pertumbuhan akan semakin besar dengan meningkatnya

konsentrasi air limbah penyamakan kulit yang ditambahkan. Pada konsentrasi air limbah sebesar 2% vol. pertumbuhan hingga pada hari ke-7 bahkan negatif, artinya lebih banyak fron yang mati daripada yang tumbuh. Pada Gambar 3 ditunjukkan gejala yang tampak pada fron terkait dengan terhambatnya pertumbuhan, yaitu berupa nekrosis dan atau fron mengecil. Gejala ini sudah terlihat pada konsentrasi air limbah sebesar 0,25%. Kerusakan tampak semakin parah sejalan dengan makin tingginya konsentrasi air limbah. Pada konsentrasi air limbah sebesar 2% pertumbuhan terhambat total dan fron yang tersisa menunjukkan gejala penebalan dan pengecilan ukuran fron.

Untuk menetapkan nilai EC50, data jumlah fron dan berat basah masing-masing diplotkan lawan konsentrasi air limbah yang digunakan. Seperti yang terlihat pada Gambar 4, kurva respon pertumbuhan menunjukkan sifat logaritmik. Dari beberapa kemungkinan model yang biasa dipakai²⁾, model $\log Y = a + bX$ merupakan model yang tampaknya paling mendekati sebaran datanya.

Dari hasil perhitungan, diperoleh bahwa persamaan kurva untuk jumlah fron adalah:

$$\log Y = 2,028515 - 0,37972 X \dots \dots \quad (\text{Pers. 1})$$

$$r = -0,90142 (**)$$

Sedangkan persamaan kurva untuk berat basah adalah:

$$\log Y = 2,665016 - 0,38348 X \dots \quad (\text{Pers. 2})$$

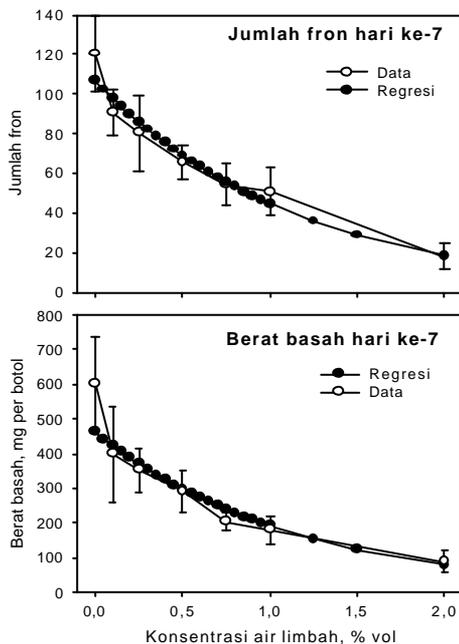
$$r = -0,86539 (*)$$

Kedua persamaan mempunyai nilai korelasi yang signifikan sehingga layak untuk dipakai dalam pendugaan nilai EC50.

Dari kedua persamaan kurva ini maka dapat dihitung dengan mudah nilai EC50, yaitu dengan memasukkan nilai jumlah fron yang sesuai dengan 50% nilai jumlah fron pada kontrol ke dalam persamaan. Hal yang sama dapat dilakukan untuk berat basah. Hasil perhitungan menghasilkan nilai EC50 sebesar 0,66% berdasarkan jumlah fron dan EC50 sebesar 0,48% berdasarkan berat basah. Dengan demikian nilai EC50 yang diperoleh dari basis jumlah fron adalah lebih besar daripada yang diperoleh dari basis berat basah. Brian *et. al.*⁶⁾ pada percobaan dengan antibiotika juga mendapatkan hasil yang mirip, yaitu bahwa nilai EC50 (jumlah fron) lebih besar daripada EC50 (berat basah). Demikian pula Eberius¹⁷⁾ melaporkan, bahwa perhitungan berbasiskan jumlah fron menghasilkan nilai EC50 yang lebih besar daripada berat kering serta luas area fron.

LOEC dihitung sebagai nilai konsentrasi air limbah terendah yang menunjukkan beda nyata dengan kontrol²⁾. Dari perhitungan statistika (uji Duncan's) didapatkan, bahwa konsentrasi air limbah terkecil yang masih berbeda nyata dengan kontrol adalah 0,1% pada berat basah maupun jumlah fron. Dengan demikian nilai LOEC yang diperoleh dengan berbasiskan pada jumlah fron dan berat basah adalah masing-masing 0,1%. Karena konsentrasi terkecil yang dicobakan dalam percobaan ini adalah 0,1%, maka nilai NOEC, yang didefinisikan sebagai nilai konsentrasi air limbah tertinggi yang tidak beda nyata dengan kontrol²⁾, menjadi tidak dapat ditetapkan. Nilai NOEC ini tentunya lebih kecil dari 0,1% dan lebih besar dari 0%.

Angka EC50 menunjukkan konsentrasi air limbah penyamakan kulit yang menyebabkan penghambatan pertumbuhan *Lemna* sebesar 50% dibanding dengan kontrol. Implikasi praktis penemuan ini adalah bahwa jika air limbah penyamakan kulit dibuang dengan tanpa diperlakukan dahulu, maka pada konsentrasi final sebesar 0,48% hingga 0,66% di perairan umum akan menimbulkan penghambatan terhadap pertumbuhan *Lemna* sp. secara signifikan. Dengan demikian pengenceran air limbah dengan faktor 160 belum memberikan "perbaikan" terhadap kualitas perairan. Bahkan bila nilai LOEC dipakai sebagai batas ambang bawah dari konsentrasi limbah penyamakan kulit yang ada di perairan, maka bahkan pada tingkat pengenceran 1000 kali belum dapat diharapkan terjadi perbaikan kualitas air di perairan umum yang dicemari air limbah ini. Jadi pengolahan air limbah penyamakan kulit harus dilakukan sebelum air limbah dibuang ke perairan umum.



Gambar 4. Pola pertumbuhan *Lemna* sp. berbasiskan pada jumlah fron (grafik atas) dan berat basah (grafik bawah).

Merujuk pada Tabel 1, konsentrasi dugaan kromium pada konsentrasi air limbah sebesar 0,66% (nilai EC50) adalah sekitar 0,4 mg/l Cr(VI) atau 50

mg/l kromium total. Dari percobaan dengan kultur *Lemna minor* yang diberi tambahan kalium dikromat, LemnaTec¹⁷⁾ melaporkan bahwa nilai EC50 untuk logam Cr(VI) adalah 2,2 mg/l kalium dikromat. Secara kasar, 0,4 mg/l Cr(VI) yang diperoleh dalam percobaan ini setara dengan 1,2 mg/l kalium dikromat. Jadi nilai EC50 yang diperoleh dalam percobaan ini adalah lebih kecil daripada nilai EC50 yang dilaporkan oleh LemnaTec tersebut. Perbedaan ini, selain dapat dirujuk kepada perbedaan fisiologis galur *Lemna* yang dipakai, dapat dikaitkan dengan kandungan bahan lain dalam air limbah penyamakan kulit. Percobaan ini telah menunjukkan, bahwa air limbah penyamakan kulit mempunyai potensi penghambatan pertumbuhan tumbuhan akuatik seperti *Lemna* sp. dalam tingkatan yang lebih besar daripada logam Cr(VI) secara tunggal.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Air limbah penyamakan kulit ditemukan berbahaya bagi pertumbuhan tumbuhan indikator *Lemna* sp. Konsentrasi air limbah sebesar 0,1% telah menghambat secara signifikan pertumbuhan *Lemna* sp. Zat yang berbahaya yang terdapat di dalam air limbah itu antara lain kromium (Cr(VI)) dan kromium total.

Untuk mengurangi timbulnya dampak yang besar terhadap lingkungan, air limbah penyamakan kulit harus diolah.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Sati Suyanti atas kegigihannya memelihara biakan induk *Lemna* sp.

DAFTAR PUSTAKA

1. OECD. 2000. Seedling Emergence and Seedling Growth Test. Draft Document, July 2000. Diunduh dari

- http://www.oecd.org/pdf/M00024000/M00024309.pdf pada 2 April 2002.
2. OECD. 2002. Lemna sp. Growth Inhibition Test (Draft Revised Guideline July 2002). Draft Guideline No. 221. Diunduh dari <http://www.oecd.org/dataoecd/16/51/1948054.pdf>. pada 26 Juli 2005.
3. Biernacki, M., J. Lovett-Doust and L. Lovett-Doust. 1997. Laboratory assay of sediment phytotoxicity using the macrophyte *Vallisneria spiralis*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 16:472–478.
4. Fairchild, J.F., D. Shane ruessler and R. Carlson. 1998. Comparative sensitivity of five species of macrophytes and six species of algae to atrazine, metribuzin, alachlor, and metolachlor. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 17:1830–1834
5. Sherry, J., B.Scott and B. Dutka. 1997. Use of various acute, sublethal and early life-stage tests to evaluate the toxicity of refinery effluents. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 16:2249–2257.
6. Brain, R.A., D.J. Johnson, S.M. Richards, H. Sanderson, P.K. Sibley, and K.R. Solomon. 2004. Effects of 25 pharmaceutical compounds to *Lemna gibba* using a seven-day static-renewal test. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 23:371–382.
7. Sharma, H.A., J.T. Barber, H.E. Ensley, and M.A. Polito. 1997. A comparison of the toxicity and metabolism of phenol and chlorinated phenols by *Lemna gibba*, with special reference to 2,4,5-trichlorophenol. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 16:346–350.
8. Duxbury, C.L., D.G Dixon and B.M. Greenberg. 1997. Effects of simulated solar radiation on the bioaccumulation of polycyclic

- aromatic hydrocarbons by the duckweed *Lemna gibba*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 16:1739–1748
9. Huang, X.D., B.J. McConkey, T. Sudhakar Babu and B.M. Greenberg. 1997. Mechanisms of photoinduced toxicity of photo-modified anthracene to plants: inhibition of photosynthesis in the aquatic higher plant *Lemna gibba* (duckweed). *Environmental Toxicology and Chemistry*. 16:1707–1715.
 10. McConkey, B.J., C.L. Duxbury, D.G Dixon and B.M. Greenberg. 1997. Toxicity of a PAH photooxidation product to the bacteria *Photobacterium phosphoreum* and the duckweed *Lemna gibba*: Effects of phenanthrene and its primary photoproduct, phenanthrene-quinone. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 16:892–899.
 11. Hanson, M.L., P.K. Sibley, S.A. Mabury, D.C. Muir, and K.R. Solomon. 2001. Chlorodifluoroacetic acid fate and toxicity to the macrophytes *Lemna gibba*, *Myriophyllum spicatum*, and *Myriophyllum sibiricum* in aquatic microcosms. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 20: 2758–2767.
 12. Zhang, T. and H. Jin. 1007. Use of duckweed (*Lemna minor* L.) growth inhibition test to evaluate the toxicity of acrylonitrile, sulphocyanic sodium and acetonitrile in China. *Environmental Pollution*. 98:143-147.
 13. Weltje, L., A. H. Brouwer, T. G. Verburg; Wolterbeek, and DeGoeij. 2002. Accumulation and elimination of lanthanum by duckweed (*Lemna minor* L.) as influenced by organism growth and lanthanum sorption to glass. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 21:1483–1489.
 14. Murashige, T. dan F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*. 15:473-497.
 15. Gros, J. 1991. Pigments in Vegetables Chlorophylls and Carotenoids. Van Nostrand Reinhold, New York.
 16. Steel, R.G.D. dan J.H. Torrie. 1989. Prinsip dan Prosedur Statistika. Suatu Pendekatan Biometrik. Edisi kedua. Alihbahasa: Bambang Sumantri. Penerbit PT Gramedia, Jakarta. 748 hal.
 17. Eberius, M. 2001. Observation parameters of the duckweed growth inhibition test. Frond number – total frond area – dry weight. LemnaTec, Woerselen, Germany.