PENGHILANGAN/PENURUNAN KADAR PHENOL PADA AIR LIMBAH DENGAN MENGGUNAKAN ENZIM PEROKSIDASE DAN KOAGULAN

Oleh

Aida Soelaeman *)

Abstract :

Phenols are effectively removed by treatment with peroxidase and a cationic polymer coagulant. The coagulant precipitated enzymatic products of phenol, and reduced the inactivation of peroxidase caused by reaction of products from phenol with the enzyme.

I. PENDAHULUAN

Dalam air limbah industri banyak kita jumpai komponen phenol, didalam komponen ini bersifat racun. Karena itu pada penelitian ini, dicoba untuk menghilangkan komponen phenol dengan cara proses enzimatik. Pada proses enzimatik ini digunakan juga koagulan sebagai additive. Adapun jenis -

enzim yang dapat digunakan adalah jenis tyrosinase dan peroksidase, sedangkan koagulan yang digunakan adalah hexamethylenediamine - epichlorohydrin polycondensates. Secara umum reaksi penghilangan phenol dalam air limbah adalah sebagai berikut :

II. TUJUAN PENELITIAN

Tujuan penelitian ini adalah untuk menge-

*) Staf Peneliti

Balai Penelitian Kimia Organik & Fermentasi
Balai Besar Industri Kimia

tahui beberapa besar turunnya kadar phenol dalam air limbah yang mengandung phenol, dengan penambahan enzim peroksidase dan koagulan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

Peroksidase yang berasal dari horseradish -

(jenis tumbuhan) merupakan substrat yang spesifik dan merupakan katalis untuk mengoksidasi phenol dan amin aromatik dengan menambahkan hidrogen peroksida (PUTTER dan BECKER, 1983).

Penggunaan katalis untuk menghilangkan komponen aromatik telah dicoba KLIBANOV'S group (KLIBANOV et.al., KLIBANOV dan MORRIS, 1980). Radikal phenoxy dan amin aromatik dihasilkan dari proses reaksi oksidasi (WALSH, 1979) yang akhirnya akan menghasilkan zat yang sangat reaktif (berupa polimer) yang tidak larut dalam air yang dapat dipisahkan dengan cara

pengendapan yang selanjutnya dapat disaring.

KLIBANOV et.al (1983) telah berhasil membuat enzim peroksidase yang berasal dari horseradish, yang mana telah dibuktikan dalam influen yang mengandung phenol dapat dihilangkan dengan reaksi polimerisasi, dan ia telah memperlihatkan bahwa reaksi enzimatik ini sangat efektif untuk berbagai kondisi pH, suhu dan konsentrasi dari phenol (KLIBANOV et.al, 1983). Reaksi penambahan amino group untuk membentuk quinone melalui reaksi enzimatik :

Sedangkan reaksi oksidasi phenol dengan peroksidase :

Peroksidase banyak terdapat pada tumbuh-tumbuhan dan hewan. Pada tumbuh-tumbuhan misalnya terdapat pada horseradish, nanas, pohon ara, kentang, tumbuhan polong, wortel, tembakau, ragi, jamur, bakteri dan lain-lain. Sedang pada hewan banyak terdapat pada leukosit, susu, hati, limpa, air liur, paru-paru dan lain-lain. Juga ditemukan pada cell mamalia yaitu pada cytoplasma, mitochondria, microsomes dan lysosomes. Phenol dapat diuraikan dengan proses bioenzimatik. Hasil percobaan ini merupakan indikasi bahwa pengolahan air limbah secara enzimatik dapat menggantikan

cara lain sebelumnya yang biasanya menggunakan cara penyerapan penggunaan karbon aktif, ekstraksi dan oksidasi biologi. Agar supaya proses pengolahan air limbah dengan cara enzimatik berlangsung ekonomis, maka perlu mengurangi biaya pengolahan dengan cara mengurangi jumlah penggunaan peroksidase. Telah dijelaskan bahwa terjadinya enzim tidak aktif karena terbentuknya polimer pada akhir proses dari substrat ke enzim aktif, sehingga polimer yang terbentuk menghambat enzim untuk tidak aktif. Dengan penambahan protein atau polimer sintesis (additive), enzim yang

terserap akan tertahan dan pada akhirnya keaktifan enzim akan berkurang secara dramatis sehingga akan mengurangi enzyme yang dibutuhkan. Additive ini menghalangi terjadinya interaksi antara enzyme dan polimer phenol. Katalis peroksidase dan additive dapat digunakan untuk menghilangkan phenol yang terkandung dalam larutan sebesar 10 - 30 gram/liter dalam air limbah.

Reaksi polimerisasi Phenol Tanpa Additive

Perubahan keaktifan dan konsentrasi enzim peroksidase selama reaksi polimerisasi tanpa penambahan additive telah dibuktikan melalui suatu penelitian (5*). Dibuktikan bahwa aktifitas enzim peroksidase akan menurun secara logaritma sebesar 0,1 % dari keaktifan awal dan konsentrasi enzim pun akan menurun sejalan dengan keaktifan enzim. Hal ini dikarenakan enzim peroksidase dalam keadaan awal akan larut dalam reaksi campuran dan keaktifannya akan berkurang selama proses polimerisasi berlangsung. Keaktifan enzim akan berkurang, ini disebabkan karena pada keadaan awal molekul peroksidase melekat pada molekul phenol yang telah terpolimerisasi, sementara itu keaktifan enzim tertahan yang lama-kelamaan menjadi tidak aktif karena phenol yang terpolimerisasi tersebut mengurangi aktifitas enzim. Penelitian ini menunjukkan bahwa peroksidase itu sendiri tidak aktif selama reaksi berlangsung karena terjadinya interaksi antara radikal phenoxy dan enzim aktif.

Reaksi Polimerisasi Phenol Dengan Menggunakan Additive.

Melekatnya molekul peroksidase dengan molekul phenol pada proses polimerisasi membuktikan bahwa jumlah dan aktifitas enzim peroksidase untuk mengurangi kadar

phenol dalam air limbah akan berkurang, dan dari keterangan di atas pun diketahui bahwa keaktifan enzim tertahan karena enzim membentuk polimer phenol, sehingga konsentrasi phenol akan berkurang. Untuk memperlambat pembentukan enzim yang tidak aktif ini maka dipilih gelatin sebagai additive dengan maksud agar supaya dapat memperlambat pembentukan ketidakaktifan enzim tersebut, sehingga enzim peroksidase dapat menghilangkan/mengurangi kadar phenol yang terkandung dalam air limbah. Hubungan antara konsentrasi penggunaan gelatin (additive) dan efisiensi penurunan phenol dapat dilihat pada gambar berikut :

Gambar : Gelatin gr/l.

Di sini terlihat bahwa semakin besar konsentrasi gelatin yang ditambahkan kedalam pengolahan air limbah yang mengandung phenol maka akan semakin besar efisiensi penurunan kadar phenol dalam air limbah tersebut. Efisiensi penurunan digambarkan dalam bentuk prosentase penurunan kadar phenol dalam larutan. Untuk efisiensi penurunan phenol lebih dari 90 % terjadi pada konsentrasi gelatin lebih dari 4 gram / liter. Menurut hasil penelitian S. Nakamoto dan N.Nachida, mereka menetapkan pada percobaannya bahwa konsentrasi enzim peroksidase yang digunakan adalah 10 milli-gram/liter, dengan kadar ini enzim sudah dapat menurunkan/menghilangkan phenol

dalam air limbah, di samping itu ditambahkan nya pereaksi H_2O_2 dengan maksud sebagai pengoksid. Keaktifan enzim peroksidase akan menurun dengan adanya penambahan gelatin, dan konsentrasi protein dalam supernatan juga berlangsung menurun dengan penambahan H_2O_2 , ini dikarenakan melekatnya gelatin bersama dengan terbentuknya polimer phenol. Di samping itu semua, efisiensi penurunan kadar phenol dalam air limbah tergantung pada pH, adapun pH yang diharapkan adalah sekitar 5 - 10. Telah dibuktikan bahwa dalam campuran yang mengandung 4 gram/liter gelatin, 10 milligram/liter enzim-peroksidase dan 10 gram/liter phenol, maka akan dicapai efisiensi penurunan kadar phenol lebih dari 90 % pada pH antara 5 - 8. Bila pH lebih besar dari 9 maka efisiensi penurunan kadar phenol akan menurun dengan cepat. Pengaruh yang sama dapat pula terjadi pada penggunaan PEG 1000, dimana PEG 1000 dilarutkan dalam bermacam-macam konsentrasi dalam reaksi yang mempunyai pH 6. Konsentrasi awal dari enzim peroksidase adalah 10 mg/liter. Dari hasil penelitian diketahui bahwa efisiensi penurunan kadar phenol akan dicapai lebih besar dari 90 % pada penggunaan PEG 1000 dengan konsentrasi gram/liter. Pada konsentrasi ini, kira-kira 30 % dari PEG 1000 ditambahkan pada awal reaksi dan sisanya pada akhir reaksi dimana akan terbentuknya supernatan.

III. BAHAN DAN METODA

Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain :

- Enzim Peroksidase berasal dari Wako Pure Chemical Industries Ltd, Japan yang mempunyai specific activity 100 unit/mg.
- H_2O_2 30 % didapatkan dari Mitsubishi Gas Chemical Co Ltd, Japan.
- ABTS (2,2 - azino - di [3 - ethylbenzthiazoline sulfonat (6)] yang diperoleh dari Wako

Pure Chemical Industries Ltd, Japan.

Pengujian Aktifitas Enzim Peroksidase :

Aktifitas enzim peroksidase diuji dengan menggunakan ABTS sebagai substrat pada temperatur 25 °C (Putter dan Becker, 1983). Campuran reaksi mengandung 12 mM K_2HPO_4 / 88 mM KH_2PO_4 (pH = 6,0), 18 mM ABTS dalam total volume 2,2 ml. 0,2 ml H_2O_2 10 mM ditambahkan langsung kedalam campuran sebelum pengujian. Konsentrasi H_2O_2 diuji pada spectrophotometer dengan panjang gelombang 240 nm, dan setelah penambahan 0,05 ml sample (contoh), panjang gelombang segera diubah menjadi 405 nm.

Analisa Chromatographi dan Spektroskopi :

Hilangnya phenol dapat dimonitor dengan menggunakan High Performance Liquid Chromatographic (HPLC), merk Jasco PU-980 (Japan Spectroscopic Tokyo, Japan), UV-detector (Jasco UV-970) dan integrator (Jasco 807 - IT). Reverse phase column, Cosmosil C_{18} (5 u, 4,6 mm, 1 d x 25 cm, Narakaiteque, Kyoto Japan). Kecepatan aliran adalah 1,0 ml/menit dengan perbandingan methanol dan air adalah 1 : 1.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penghilangan phenol dalam air limbah dapat dihilangkan/diturunkan kadarnya dengan menggunakan enzim peroksidase dan koagulan, dimana penurunan/penghilangan kadar phenol dalam air limbah tersebut sangat tergantung kepada jumlah enzim peroksidase dan koagulan yang kita gunakan.

Penurunan/Penghilangan Kadar Phenol.

Sebelum mengetahui berapa besar penurunan kadar phenol, komposisi dari larutan asal adalah sebagai berikut :

phenol : 1 mM
 Enzim peroksidase : bervariasi mulai dari 0,5
 u/ml - 1 u/ml.
 H_2O_2 : 1,2 mM.

Kemudian larutan ini diaduk selama 15 menit, setelah terjadi reaksi, larutan tersebut

diukur kadar phenolnya dengan menggunakan HPLC. Penghilangan/penurunan kadar phenol dengan menggunakan enzim peroksidase dan koagulan dapat dilihat pada tabel 1 dan gambar 1 (Penghilangan/penurunan kadar phenol dengan menggunakan enzim peroksidase).

Tabel 1 : Penghilangan/penurunan kadar phenol dengan menggunakan enzim peroksidase

Untuk Larutan	Enzim (u/ml)	% Penurunan	Absorbance 400 nm
Coklat, tidak ada endapan.	0,05	10,5	0,220
Bening, ada endapan	0,1	22,0	0,113
Bening, ada endapan	0,2	56,4	0,100
Bening, ada endapan	0,5	91,3	0,227
Bening, ada endapan	1,0	100,0	1,230

Gambar 1 : Penghilangan/Penurunan kadar phenol dengan menggunakan enzim peroksidase

Gambar 1 :

Warna larutan diukur pada panjang gelombang 400 nm. Penurunan kadar phenol dan peningkatan warna pada larutan terjadi pada kadar enzim peroksidase diatas 0,5 u/ml. Pada kadar enzim peroksidase yang paling besar yaitu 1 u/ml, prosentase penghilangan phenol mencapai 100 %. Sedangkan warna larutan akan semakin tampak dikarenakan terbentuknya produk lain berupa endapan. Untuk mengetahui sejauhmana kadar phenol

dapat dihilangkan/diturunkan dengan menggunakan enzim peroksidase dan koagulan dapat dilihat pada tabel 2 dan gambar 2 (Penghilangan/penurunan kadar phenol dengan menggunakan enzim dan koagulan). Adapun komposisi larutan asal adalah sebagai berikut :

Koagulan = bervariasi dari 2 - 50 mg/l
Enzim = 0,2 u/ml
H₂O₂ = 1,2 mM
Phenol = 1 mM

Tabel 2 : Penghilangan/penurunan kadar phenol dengan menggunakan enzim dan koagulan

Bentuk Larutan	Koagulan (mg/l)	% Penurunan	Absorbance 400 nm
Berwarna, ada endapan	2	81,62	0,028
Berwarna, ada endapan	5	30,34	0,010
Berwarna, ada endapan	10	25,13	0,027
Berwarna, ada endapan	20	100,0	0,112
Berwarna, ada endapan	50	100,0	0,100

Gambar 2 : Penghilangan/penurunan kadar phenol dengan menggunakan enzim dan koagulan

gambar 2 :

Menggambarkan penghilangan kadar phenol dan penghilangan warna dengan penambahan koagulan. Pada konsentrasi koagulan 2 mg/l, prosentase penghilangan phenol dicapai sebesar 81 %. Untuk konsentrasi koagulan yang lebih besar, prosentase penghilangan kadar phenol lebih besar, juga warna dari larutan akan menurun, karena koagulan mencegah terjadinya peroksidase yang tidak aktif. Penghilangan kadar phenol mencapai 100 %, pada penggunaan koagulan sebanyak 20 mg/l. Pada reaksi ini banyak terbentuk endapan sehingga dapat dipisahkan dengan cara penyaringan.

V. KESIMPULAN

Dalam air limbah yang mengandung phenol, dapat kita hilangkan/diturunkan kadarnya dengan menggunakan enzim peroksidase dan koagulan. Untuk menghilangkan/menurunkan kadar phenol dimana tidak digunakan koagulan, hanya menggunakan enzim maka terbukti bahwa phenol dapat dihilangkan 100 % dalam air limbah tersebut dengan menggunakan enzim 1 u/ml. Dan apabila dalam proses pengolahan tersebut digunakan koagulan maka kadar phenol dapat dihilangkan 100 % dari air limbah dengan menggunakan enzim 0,2 u/ml dan koagulan 20 mg/l.

VI. DAFTAR PUSTAKA

1. Gregory F. Payne, Wei - Qiang Sun, and Afshin Sohrabi, Tyrosinase reaktion/chitosan adsorption for selectively removing phenols from aqueous mixtures. *Biotechnology and Bioengineering*, vol 40, p.1011 - 1018 (1992).

2. Klibanov A.M. and Morris E.D. (1980) Horseradish peroxidase for the removal of carcinogenic aromatic amines from water. *Enzyme Microb. Technol.* 3,119 - 122.

3. Putter J and Becker R (1983). Peroxidase in methods of enzymatic analysis (edited by Bergmeyer J and Gra BLM). 3 rd edition, Vol. 3.

4. Shinji Wada, Hiroyasu Ichikawa, and Kenji Tatsumi, 1993, Removal of phenol from waste water by soluble and immobilized tyrosinase, *Biotechnology and Bioengineering*, vol.42, p. 854 - 858 (1983).

5. S. Nakamoto and N. Machida, 1991. Phenol removal from aqueous solution by peroxidase - catalyzed reaction using additives. *wat.res* vol 26 No.1, p. 49 - 54, 1992.

6. Tasumi, K, Ichikawa, H, Wada.S, 1991. Dephenolization of waste water catalyzed by soluble and immobilized tyrosinase. *Proc. Asian waterqual.*

7. Walsh (1979) *Enzymatic reaction mechanisms*, p. 488 - 490. Freeman, San - Fransisco.

8. Wei - Qiang Sun, Gregory F. Payne, Monica S.G.L. Moas, Jenifer H.Chu, and Kimberlee K, wallace 1992, Tyrosinasereaction/chitosan adsorption for removing phenols from waste water. *Biotechnol Prog.* 8 = 179 - 187.

-----ooooo00000ooooo-----