



Tesis - RE142541

**Karakterisasi Bakteri *Brochothrix thermosphacta* dan
Vibrio alginolyticus serta Potensinya untuk
Mereduksi Aluminium dalam Air Limbah**

SETYO BUDI KURNIAWAN

03211650010007

DOSEN PEMBIMBING

Harmin Sulistiyaning Titah, S.T., M.T., Ph.D.

DOSEN CO-PEMBIMBING

Ipung Fitri Purwanti, S.T., M.T., Ph.D.

PROGRAM MAGISTER TEKNIK LINGKUNGAN

DEPARTEMEN TEKNIK LINGKUNGAN

FAKULTAS TEKNIK SIPIL, LINGKUNGAN DAN KEBUMIHAN

INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER

SURABAYA

2018



Thesis - RE142541

**Characterization of *Brochothrix thermosphacta* &
Vibrio alginolyticus and Its Potential to Reduce
Aluminium in Wastewater**

SETYO BUDI KURNIAWAN

03211650010007

SUPERVISOR

Harmin Sulistiyaning Titah, S.T., M.T., Ph.D.

CO-SUPERVISOR

Ipung Fitri Purwanti, S.T., M.T., Ph.D.

MASTER OF ENVIRONMENTAL ENGINEERING PROGRAM

DEPARTEMENT OF ENVIRONMENTAL ENGINEERING

FACULTY OF CIVIL ENGINEERING, ENVIRONMENT AND GEOLOGY

INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER

SURABAYA

2018

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

**Tesis disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Magister Teknik (M.T.)**

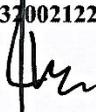
**di
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
oleh:**

**SETYO BUDI KURNIAWAN
Nrp. 03211650010007**

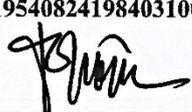
**Tanggal Ujian: Rabu, 03 Januari 2018
Periode Wisuda: September 2018**

Disetujui oleh:


Harmin Sulistiyaning Titah, S.T., M.T., Ph.D. (Pembimbing I)
NIP. 197505237002122001


Ipung F. Purwanti, S.T., M.T., Ph.D. (Pembimbing II)
NIP. 197111142003122001


Prof. Dr. Ir. Sarwoko Mangkoedihardjo, M.Sc.ES. (Penguji)
NIP. 195408241984031001


Bieby Voiyant Tangahu, S.T., M.T., Ph.D. (Penguji)
NIP. 197108181997032001


Adhi Yuniarto, S.T., M.T., Ph.D. (Penguji)
NIP. 197306012000031001



**Dekan Fakultas Teknik Sipil, Lingkungan
dan Kebumihan,**


I.D.A.A. Warmadewanthi, S.T., M.T., Ph.D.
NIP. 197502121999032001

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis haturkan ke hadirat Allah SWT atas limpahan rahmat, berkah, dan hidayah-Nya sehingga tesis ini dapat diselesaikan tepat pada waktunya. Tesis berjudul “Karakterisasi Bakteri *Brochothrix thermosphacta* dan *Vibrio alginolyticus* serta Potensinya untuk Mereduksi Aluminium dalam Air Limbah” dibuat dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar magister teknik pada Departemen Teknik Lingkungan, FTSLK, ITS. Dalam penyusunan tesis ini, penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Ipung Fitri Purwanti, S.T., M.T., Ph.D. dan Ibu Harmin Sulistiyaning Titah, S.T., M.T., Ph.D. selaku dosen pembimbing tesis atas segala ilmu yang telah diberikan dan kesabarannya dalam membimbing penulis.
2. Bapak Prof. Sarwoko Mangkoedihardjo, Ibu Bieby Voijant Tangahu, S.T., M.T., Ph.D. dan Bapak Adhi Yuniarto, S.T., M.T., Ph.D. selaku dosen penguji tesis atas segala masukan serta bimbingan yang telah diberikan.
3. Sahabat penulis, Muhammad Fauzul Imron yang telah ada disaat suka maupun duka, yang selalu memberikan bantuan di masa terberat penulis.
4. Ibu Mery M. Soesilo dan Ibu Hurun In, selaku laboran yang selalu siap sedia membantu segala bentuk kerja laboratorium penulis.
5. Teman Laboratorium Remediasi Lingkungan, dan
6. Teman – teman magister TL angkatan 2016 atas segala *support* yang diberikan.

Ucapan terima kasih terbesar penulis haturkan kepada Ibuk Susiana Trisnawati dan Bapak Sholikodin tercinta, yang selalu mendukung dan memberikan doa serta kasih sayangnya selama ini. Berkat beliau berdualah penulis bisa menyelesaikan tesis ini tepat pada waktunya.

Penyusunan tesis ini telah penulis usahakan semaksimal mungkin, namun sebagaimana manusia biasa tentunya masih terdapat kesalahan. Untuk itu, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Surabaya, 20 Januari 2018

Penulis

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

KARAKTERISASI BAKTERI *Brochothrix thermosphacta* DAN *Vibrio alginolyticus* SERTA POTENSINYA UNTUK MEREDUKSI ALUMINIUM DALAM AIR LIMBAH

Nama Mahasiswa : Setyo Budi Kurniawan
NRP Mahasiswa : 03211650010007
Pembimbing : Harmin Sulistiyaning Titah, Ph.D.
Co-Pembimbing : Ipung Fitri Purwanti, Ph.D.

ABSTRAK

Industri daur ulang aluminium merupakan salah satu kegiatan yang sedang berkembang di Kabupaten Jombang. Salah satu industri daur ulang aluminium berada di Desa Bakalan, Kecamatan Sumobito, Kabupaten Jombang. Kegiatan daur ulang aluminium ini menimbulkan beberapa permasalahan, seperti gangguan pernafasan, pencernaan dan iritasi ringan. Gangguan lingkungan yang dikeluhkan adalah berubahnya warna air tanah serta menurunnya kesuburan tanah di sekitar lokasi industri. Salah satu metode yang dapat digunakan untuk mereduksi pencemaran akibat logam aluminium adalah pengolahan biologis. Pengolahan biologis menggunakan isolat bakteri *indigenus* telah terbukti efektif dalam mengolah pencemaran akibat logam. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan pengaruh pH terhadap proses penyisihan aluminium menggunakan dua jenis isolat bakteri kultur tunggal.

Penelitian ini terdiri atas beberapa tahapan yaitu uji ketahanan asam, uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*), uji MTC (*Maximum Tolerable Concentration*) serta uji bio-proses aluminium. Uji ketahanan asam dilakukan dengan metode uji OD (*optical density*) selama 24 jam. Uji MIC dilakukan dengan menggunakan metode penggoresan agar datar sedangkan uji MTC dilakukan dengan metode uji OD selama 24 jam. Uji bio-proses dilakukan selama 5 hari dengan menggunakan 2 jenis bakteri unggul yang didapatkan dari hasil uji ketahanan asam, MIC dan MTC. Uji bio-proses dilakukan dengan menggunakan media LB (*lactose broth*) yang terkontaminasi aluminium. Parameter OD, pH, suhu, jumlah koloni bakteri dan total aluminium dianalisis setiap 24jam selama waktu uji bio-proses.

Enam jenis bakteri potensial didapatkan dari hasil isolasi. Spesies bakteri *Vibrio alginolyticus* dan *Brochothrix thermosphacta* terbukti memiliki ketahanan terhadap paparan aluminium dan juga suasana asam. Kedua jenis bakteri mampu bertahan pada media asam dengan pH 5. Dengan konsentrasi awal adalah 100mg/L, bakteri *V. alginolyticus* mampu mereduksi hingga 59,72% aluminium pada pH 5 mengikuti model pseudo orde satu, dan 50,92% pada pH 8 mengikuti model pseudo orde dua. Sementara bakteri *B. thermosphacta* mampu mereduksi 53,87% aluminium pada pH 5 dan 49,60% pada pH 8 mengikuti model pseudo orde dua.

Kata kunci: *Brochothrix thermosphacta*, Bakteri, Bio-proses, Daur Ulang Aluminium, Jombang, Kinetik, *Vibrio alginolyticus*

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

CHARACTERIZATION OF *Brochothrix thermosphacta* & *Vibrio alginolyticus* AND ITS POTENTIAL TO REDUCE ALUMINIUM IN WASTEWATER

Student Name : Setyo Budi Kurniawan
Student ID : 03211650010007
Supervisor : Harmin Sulistiyaning Titah, Ph.D.
Co-Supervisor : Ipung Fitri Purwanti, Ph.D.

ABSTRACT

Aluminum recycling industry is one of the developing activities in Jombang District. One of the aluminum recycling industry is located in Bakalan, Sumobito Subdistrict, Jombang District. This aluminum recycling activity causes several issues such as respiratory, digestive and mild irritation. They are also complaining about some environmental problem such as the changing of the ground water color and the decreasing of soil fertility around the industrial site. One of the methods that can be used to reduce aluminum metal contamination is biological process. Biological process using indigenous bacterial isolates have been shown to be effective in treating metal contamination. The objective of this study was to determine the effect of pH to aluminium removal process using two types of single bacterial culture.

This research consists of several stages which are acidity resistant, MIC (Minimum Inhibitory Concentration), MTC (Maximum Tolerable Concentration) and aluminium bio-process test. Acidity resistant test was carried out by using OD (Optical Density) method during 24-hour of test period. MIC test was conducted using agar streaking method and MTC test was carried out using OD method for 24-hour. Aluminium bio-process was conducted over 5 days using two types of potential bacteria that obtained from acidity resistant, MIC and MTC tests. Bio-process test was carried out by using aluminium contaminated LB (Lactose Broth) medium. OD, pH, temperature, number of bacterial colonies and total aluminium parameters were analyzed every 24-hour during the test period.

Six types of potential bacteria were obtained from isolation process. *Vibrio alginolyticus* and *Brochothrix thermosphacta* species proven to have aluminium and acidity resistance. These bacteria could survive in acid medium up to pH 5. With 100mg/L of initial concentration, *V. alginolyticus* could reduce up to 59,72% aluminium in pH 5 following the pseudo first order reaction, and 50,92% in pH 8 following the pseudo second order reaction. *B. thermosphacta* could reduce 53,87% aluminium in pH 5 and 49,60% in pH 8 following the pseudo second order reaction.

Keywords: Aluminum Recycling, Bacteria, Bio-process, *Brochothrix thermosphacta*, Jombang, Kinetic, *Vibrio alginolyticus*

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
COVER PAGE.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN TESIS.....	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR TABEL.....	xix
BAB 1	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.5 Ruang Lingkup Penelitian	5
BAB 2	7
KAJIAN PUSTAKA DAN DASAR TEORI.....	7
2.1 Karakteristik Aluminium.....	7
2.2 Proses Pemurnian Primer Aluminium.....	8
2.3 Proses Daur Ulang Aluminium	10
2.4 Pencemaran oleh Limbah Daur Ulang <i>Slag</i> Aluminium.....	11
2.5 Pengertian Bioremediasi.....	12
2.6 Proses Isolasi Bakteri <i>Indigenous</i>	14
2.7 Uji Toksisitas.....	15
2.8 Proses Pengolahan Aluminium secara Biologis	16
2.9 Uji General Linear Model (GLM) ANOVA	17
2.10 Kinetika Reduksi Aluminium oleh Bakteri	17
2.11 Penelitian Terdahulu.....	18
BAB 3	21

METODE PENELITIAN	21
3.1 Kerangka Penelitian	21
3.2 Ide Penelitian	23
3.3 Studi Literatur	24
3.4 Pengambilan Sampel.....	24
3.5 Persiapan Penelitian	25
3.6 Peremajaan Isolat Bakteri	28
3.7 Uji Ketahanan Bakteri Terhadap Asam	29
3.8 <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC) dan <i>Maximum Tolerance</i>	30
3.9 Bio-proses Aluminium dengan Menggunakan Isolat Bakteri.....	31
3.10 Kinetika Reduksi Aluminium oleh Bakteri	34
3.11 Uji Statistik ANOVA.....	34
3.12 Hasil dan Pembahasan	35
3.13 Penarikan Kesimpulan dan Saran	35
BAB 4.....	37
HASIL DAN PEMBAHASAN	37
4.1 Peremajaan Isolat Bakteri	37
4.2 Karakterisasi Bakteri dan Uji Biokimia.....	37
4.3 Uji Laju Pertumbuhan Bakteri	39
4.4 Uji Ketahanan Bakteri Terhadap Asam	40
4.5 Uji <i>Minimum Inhibitory Concentration</i>	41
4.6 Uji <i>Maximum Tolerable Concentration</i>	44
4.7 Penentuan Jenis Bakteri Unggul	46
4.8 Penentuan Konsentrasi Aluminium, pH dan Persen Inokulum Bakteri untuk Penelitian Utama	46
4.9 Bio-proses Aluminium Menggunakan Isolat Bakteri	48
4.10 Kinetika Reduksi Aluminium oleh Bakteri	52
BAB 5.....	59
KESIMPULAN DAN SARAN	59
DAFTAR PUSTAKA.....	61
LAMPIRAN 1	71
KONSENTRASI ALUMINIUM PADA UJI BIO-PROSES	71
LAMPIRAN 2	72

pH PADA UJI BIO-PROSES	72
LAMPIRAN 3	73
OD PADA UJI BIO-PROSES	73
LAMPIRAN 4	74
CFU PADA UJI BIO-PROSES	74
LAMPIRAN 5	75
BERAT BAKTERI PADA UJI BIO-PROSES	75
LAMPIRAN 6	76
PERHITUNGAN KINETIKA REAKSI	76
LAMPIRAN 7	79
Penentuan pH dan Konsentrasi Aluminium untuk Uji Bio-Proses	79
LAMPIRAN 8	83
Uji ANOVA untuk Hasil Bio-proses Aluminium	83
BIOGRAFI PENULIS	89

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Logam Aluminium (Creative Common, 2016).....	7
Gambar 2. 2 Kelarutan Aluminium dalam Berbagai pH (ECCC, 1999)	8
Gambar 3. 1 Kerangka Penelitian	22
Gambar 4. 1 Enam Isolat Bakteri Indigenous Potensial	37
Gambar 4. 2 Laju Pertumbuhan Bakteri	40
Gambar 4. 3 Pertumbuhan Bakteri pada Berbagai pH dalam 72 Jam.....	41
Gambar 4. 4 Hasil RFT MIC untuk <i>Vibrio alginolyticus</i>	42
Gambar 4. 5 Hasil RFT MIC untuk <i>Brochothrix thermosphacta</i>	42
Gambar 4. 6 Hasil RFT MIC untuk <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	42
Gambar 4. 7 Hasil DT MIC untuk <i>Vibrio alginolyticus</i>	43
Gambar 4. 8 Hasil DT MIC untuk <i>Brochothrix thermosphacta</i>	43
Gambar 4. 9 Hasil DT MIC untuk <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	43
Gambar 4. 10 Konsentrasi Aluminium pada Masing-Masing Reaktor selama Uji Bio-proses	48
Gambar 4. 11 pH pada Masing-Masing Reaktor selama Uji Bio-proses.....	49
Gambar 4. 12 <i>Optical Density</i> pada Masing-Masing Reaktor selama Uji Bio- proses	50
Gambar 4. 13 CFU pada Masing-Masing Reaktor selama Uji Bio-proses	51
Gambar 4. 14 Pseudo Orde Satu B1K1A.....	53
Gambar 4. 15 Pseudo Orde Dua B1K1A	53
Gambar 4. 16 Pseudo Orde Satu B1K1N.....	54
Gambar 4. 17 Pseudo Orde Dua B1K1N	54
Gambar 4. 18 Pseudo Orde Satu B2K1A.....	55
Gambar 4. 19 Pseudo Orde Dua B2K1A	55
Gambar 4. 20 Pseudo Orde Satu B2K1N.....	56
Gambar 4. 21 Pseudo Orde Dua B2K1N	56

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Penelitian Terdahulu	18
Tabel 3. 1 Resistensi Isolat Bakteri terhadap Aluminium.....	29
Tabel 3. 2 Matriks Perlakuan Antar Variasi.....	32
Tabel 4. 1 Karakterisasi Bakteri.....	37
Tabel 4. 2 Uji Biokimia dan Spesies Bakteri	38
Tabel 4. 3 Persentase Luas Pertumbuhan Bakteri (RFT MIC) terhadap Kontrol .	42
Tabel 4. 4 Persentase Luas Pertumbuhan Bakteri (DT MIC) terhadap Kontrol ...	44
Tabel 4. 5 Persentase Pertumbuhan Bakteri (RFT MTC) Terhadap Kontrol	45
Tabel 4. 6 Persentase Pertumbuhan Bakteri (DT MTC) Terhadap Kontrol	45
Tabel 4. 7 Hasil Uji Persen Inokulum Bakteri untuk <i>Vibrio alginolyticus</i>	47
Tabel 4. 8 Hasil Uji Persen Inokulum Bakteri untuk <i>Brochothrix thermosphacta</i>	47
Tabel 4. 9 Rekapitulasi Hasil Perhitungan Konstanta Reaksi.....	57

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Aluminium adalah salah satu jenis logam golongan 3A yang dikategorikan sebagai zat berbahaya bagi lingkungan oleh USEPA pada tahun 2006. Menurut IARC (1987), aluminium adalah salah satu zat karsinogenik jika dikonsumsi dalam jumlah lebih dari 0,043 mg/kg massa tubuh/hari. WHO (2010) menetapkan kadar maksimum aluminium pada air minum adalah sebesar 0,1 mg/L. Menteri Kesehatan Republik Indonesia pada tahun 2010 juga telah menetapkan standar baku mutu untuk aluminium pada air minum yaitu maksimum 0,2 mg/L.

Aluminium di alam bebas dapat ditemukan dalam bentuk mineral atau senyawa berikatan dengan valensi 3⁺ (Greenwood dan Earnshaw, 1997). Senyawa ikatan aluminium umumnya ditemukan di alam akibat adanya pencemaran aluminium oleh suatu industri (Binczewski, 1995). Pencemaran oleh aluminium banyak terjadi akibat adanya kegiatan industri pemurnian aluminium, pembuatan peralatan berbahan aluminium dan kegiatan daur ulang aluminium (Davy, 2009).

Proses pemurnian logam aluminium terdiri atas dua tahap yaitu pemurnian primer dan sekunder (Sainte-Claire Deville, 1859). Proses ini menghasilkan beberapa jenis limbah diantaranya *skimming*, *dross*, *slag* aluminium serta berbagai jenis impuritas (Tsakiridis, 2012). *Skimming* dan *dross* memiliki kandungan aluminium sebesar ±45% (Tsakiridis, 2012), sehingga beberapa industri masih memanfaatkan limbah ini untuk didaur ulang. Untuk limbah *slag* aluminium, kandungan logam aluminium hanya sebesar 5 hingga 7% (Tsakiridis, 2012). Limbah *slag* aluminium ini banyak dibuang oleh industri karena dianggap kurang memiliki nilai ekonomi. Sebanyak 200 hingga 500 kg limbah *slag* aluminium dapat dihasilkan untuk setiap ton produksi logam aluminium murni (Polmear, 2006).

Presipitasi, reaksi reduksi - oksidasi, *ion exchange* dan proses elektrokimia merupakan metode yang banyak digunakan untuk mengolah limbah aluminium (Martins *et al.*, 2012). Ahluwalia dan Goyal (2007) menyatakan pada konsentrasi 100 mg/L aluminium, metode tersebut kurang efektif serta biaya yang diperlukan

relatif mahal. Salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengurangi pencemaran oleh aluminium adalah daur ulang *slag* aluminium. Metode tersebut dinilai aplikatif mengingat jumlah limbah *slag* aluminium yang sangat melimpah.

Daur ulang *slag* aluminium adalah serangkaian proses pemurnian kembali limbah *slag* aluminium untuk mendapatkan logam murni (Tsakiridis, 2012). Tsakiridis (2012) menjelaskan bahwa daur ulang *slag* aluminium terdiri atas proses *sorting*, pembakaran, peleburan, pencetakan dan pendinginan. Pada proses peleburan, ditambahkan beberapa jenis fluks untuk mengikat logam aluminium. Dari proses ini didapatkan leburan aluminium serta impuritas hasil peleburan yang tidak dapat dimanfaatkan (Ingustald, 2012). Impuritas inilah yang memerlukan pengolahan lebih lanjut karena dapat menyebabkan pencemaran jika tidak dikelola dengan baik.

Salah satu lingkungan industri kecil (LIK) daur ulang *slag* aluminium yang cukup berkembang berada di Kecamatan Sumobito, Kabupaten Jombang. Setiap harinya, kurang lebih sekitar 27 industri kecil melakukan usaha terkait daur ulang aluminium (BLH Jombang, 2016). Akibat kegiatan ini, warga di lokasi LIK mengeluhkan timbulnya beberapa gangguan kesehatan dan lingkungan. Gangguan kesehatan yang dikeluhkan warga meliputi gangguan pencernaan, pernafasan dan iritasi ringan pada kulit dan mata (Laksono dan Muzayanah, 2012). Gangguan lingkungan yang terjadi adalah berubahnya warna dan rasa air sumur serta menurunnya kesuburan tanah (Laksono dan Muzayanah, 2012; BLH Jombang, 2016). Kuat dugaan hal ini dipicu oleh kurang baiknya pengelolaan limbah kegiatan industri daur ulang aluminium di daerah tersebut.

Limbah cair sisa kegiatan dibuang secara langsung ke badan air tanpa melalui proses pengolahan apapun. Impuritas bahan juga ditimbun secara terbuka di tanah sekitar lokasi industri. Konsentrasi aluminium dalam air limbah yang diambil dari kanal buangan adalah 0,67 mg/L. Konsentrasi aluminium yang terukur merupakan campuran antara limbah produksi dengan kegiatan domestik yang utamanya adalah mandi dan cuci. Aluminium dalam air limbah dapat berpotensi menimbulkan kerusakan lingkungan seperti efek toksik pada biota air, penurunan kesuburan tanah dan terganggunya aktifitas enzimatik organisme (Rosseland, 1990; Ding *et al.*, 2011).

Pengolahan biologis adalah salah satu metode yang banyak digunakan untuk mereduksi pencemaran akibat logam (Nath *et al.*, 2012). Prinsip utama pada teknologi ini adalah memanfaatkan metabolisme mikroorganisme untuk mengolah pencemaran logam (AlDisi *et al.*, 2016). Bakteri *indigenous* banyak digunakan sebagai agen remediator logam pada proses biologis. Nath *et al.* (2012) menyatakan bahwa bakteri yang diisolasi dari limbah yang terkontaminasi logam mampu beradaptasi untuk bisa lebih toleran terhadap logam tersebut. Proses *efflux*, kompleksasi, reduksi ion dan penggunaan sebagai akseptor elektron adalah beberapa mekanisme reduksi logam oleh mikroorganisme (Nath *et al.*, 2012). Pengolahan biologis dengan menggunakan bakteri *indigenous* yang diisolasi dari lingkungan tercemar dinilai efektif untuk mengolah limbah sisa daur ulang aluminium (Ahluwalia dan Goyal, 2007).

Beberapa faktor yang berpengaruh terhadap proses biologis meliputi jenis mikroorganisme yang digunakan dan faktor lingkungan seperti pH dan konsentrasi pencemar yang ada (Chau *et al.*, 2014). Mittal *et al.* (2003) menyatakan bahwa *Pseudomonas sp.* dan *Bacillus circulans* toleran terhadap logam aluminium. Hard *et al.* (2010) juga menyatakan bahwa *Bacillus sp.* mampu mengikat Al^{3+} ke dalam sel bakteri tersebut. Pada konsentrasi aluminium 2071 μM dan 3106 μM , bakteri *Pseudomonas sp.* masih dapat tumbuh dengan baik (Mittal *et al.*, 2003). Martins *et al.*, (2012) menyatakan bahwa bakteri *Desulfovibrio desulfuricans* mampu mereduksi aluminium hingga 85% dengan konsentrasi 0,9 mM selama 27 hari. Perbedaan penggunaan jenis kultur bakteri dapat mempengaruhi efisiensi penyisihan aluminium dari lingkungan tercemar. Hal ini terjadi akibat adanya perbedaan reaksi enzimatik kompleks untuk setiap jenis bakteri yang digunakan dalam proses pengolahan biologis (Deepali, 2011).

Tsakiridis (2012) menyatakan bahwa reaksi hidrolisis $AlCl_3$ menghasilkan suasana asam pada larutan. Ferreira *et al.* (2012) menyatakan bahwa *Rhizobium* dapat lebih toleran terhadap logam berat aluminium hingga konsentrasi 1 mM pada kondisi pH 5 dibanding dengan pH 6 dan 6,9. *Pseudomonas fluorescens* juga mampu mendegradasi aluminium hingga 65,1% dengan konsentrasi 15 mM selama 80 jam pada kondisi optimum dan ketersediaan nutrisi berlebih (Auger *et al.*, 2013). Chau *et al.* (2014) menyatakan bahwa *Bacillus sp.* mampu mereduksi hingga

44,5% aluminium pada media diperkaya nutrisi dengan konsentrasi awal sebesar 100 ppm.

1.2 Rumusan Masalah

Pencemaran akibat limbah daur ulang aluminium adalah salah satu masalah yang harus segera diselesaikan. Pengolahan biologis adalah salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mereduksi pencemaran akibat limbah daur ulang aluminium. Uji toksisitas pencemar terhadap isolat bakteri juga harus dilakukan guna mengetahui pengaruh paparan aluminium terhadap sistem metabolisme bakteri.

Faktor yang berpengaruh terhadap efisiensi proses biologis adalah penggunaan jenis bakteri, pH dan konsentrasi pencemar itu sendiri. Perbedaan jenis bakteri yang digunakan dapat mempengaruhi efisiensi penyisihan aluminium karena berkaitan dengan reaksi enzimatik kompleks dalam sel. Selain jenis bakteri, pH merupakan salah satu faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap pengolahan aluminium secara biologis. Variasi jenis bakteri, pH dan konsentrasi awal aluminium digunakan untuk menentukan jenis bakteri unggul serta pengaruh kondisi lingkungan dalam proses pengolahan aluminium secara biologis.

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Menentukan 2 jenis bakteri unggul yang digunakan dalam pengolahan aluminium secara biologis melalui uji ketahanan asam terhadap isolat bakteri.
2. Menentukan pH optimum dalam proses pengolahan aluminium secara biologis dengan menggunakan dua jenis isolat bakteri kultur tunggal.
3. Menentukan persentase penyisihan aluminium dengan menggunakan dua jenis bakteri *indigenus* kultur tunggal yang didapatkan dari hasil isolasi.
4. Menentukan kinetika reaksi oleh bakteri dalam proses penyisihan aluminium.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Sebagai salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mereduksi pencemaran oleh aluminium di lingkungan industri kecil daur ulang slag aluminium.
2. Sebagai acuan untuk penelitian lanjutan yang akan dilakukan mengenai remediasi tanah tercemar aluminium di lingkungan industri kecil daur ulang slag aluminium, Kecamatan Sumobito, Kabupaten Jombang.
3. Sebagai referensi untuk penelitian lain yang berkaitan dengan pengolahan aluminium secara biologis menggunakan bakteri.

1.5 Ruang Lingkup Penelitian

1. Sampel air limbah diambil dari lingkungan industri kecil daur ulang slag aluminium, Kecamatan Sumobito, Kabupaten Jombang.
2. Bakteri yang digunakan untuk penelitian adalah bakteri *indigenous* yang didapatkan melalui proses isolasi.
3. Limbah aluminium yang digunakan adalah limbah buatan.

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BAB 2

KAJIAN PUSTAKA DAN DASAR TEORI

2.1 Karakteristik Aluminium

Aluminium adalah salah satu unsur kimia dengan lambang Al yang memiliki nomor atom 13 dan nomor massa 27 (USEPA, 2006). Aluminium berada pada golongan 3A dan periode 3 pada susunan tabel periodik unsur. Aluminium bersifat padat dengan warna metalik (Gambar 2. 1) serta memiliki titik lebur 660 °C dan titik didih 2519 °C (Binczewski, 1995). Sebagai logam golongan 3A, aluminium memiliki 2 valensi yaitu 0 dan 3⁺.

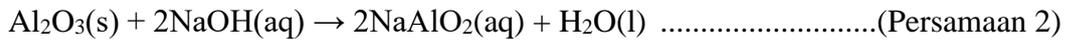
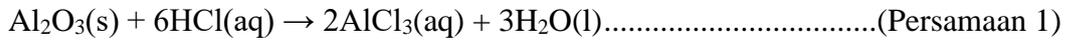


Gambar 2. 1 Aluminium (Deonath *et al.*, 1979)

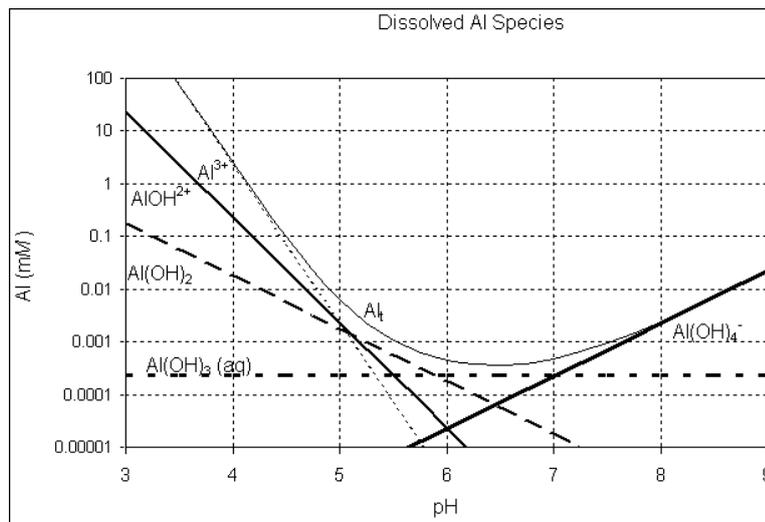
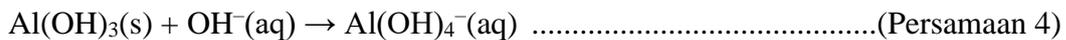
Aluminium adalah salah satu logam paling melimpah di kerak bumi. Logam ini menyusun sekitar 8% lapisan kerak bumi (Greenwood dan Earnshaw, 1997). Aluminium memiliki sifat yang kuat tetapi ringan serta bersifat konduktor kuat untuk listrik dan panas (Binczewski, 1995). Aluminium banyak digunakan dalam kehidupan sehari-hari karena beberapa sifatnya yang menguntungkan. Pemanfaatan aluminium diantaranya sebagai kabel listrik, peralatan rumah tangga, peralatan penerbangan dan bagian alat transportasi (Davy, 2009).

Aluminium memiliki sifat amfoter. Kelarutan dari aluminium dalam berbagai pH dapat dilihat pada Gambar 2. 2. Senyawa aluminium oksida (Al₂O₃) merupakan oksida yang bersifat amfoter karena dapat bereaksi dengan asam

maupun dengan basa meskipun berlangsung dengan lambat (ECCC,1999). Reaksi senyawa aluminium oksida terhadap asam dan basa adalah:



Aluminium hidroksida merupakan hidroksida yang juga bersifat amfoter, seperti halnya aluminium oksida. Padatan $\text{Al}(\text{OH})_3$ dapat larut dalam asam kuat maupun basa kuat (ECCC,1999). Reaksi aluminium hidroksida yang terjadi pada suasana asam dan basa adalah:



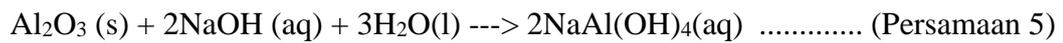
Gambar 2. 2 Kelarutan Aluminium dalam Berbagai pH (ECCC, 1999)

2.2 Proses Pemurnian Primer Aluminium

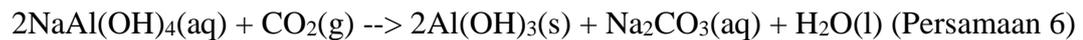
Proses pemurnian aluminium terdiri atas 2 tahap yaitu proses *bayer* dan proses *hall-heroult*. Davy (2009) menyatakan bahwa proses bayer adalah proses pertama pemurnian bijih bauksit untuk memperoleh aluminium oksida (alumina). Proses *hall-heroult* adalah lanjutan proses *bayer* di mana aluminium oksida dilebur untuk menghasilkan aluminium murni. Bahan yang digunakan adalah biji bauksit

yang mengandung 50-60% Al_2O_3 yang bercampur dengan zat-zat pengotor seperti Fe_2O_3 dan SiO_2 (Davy, 2009). Proses pemurnian dilakukan dengan memanfaatkan sifat amfoter dari Al_2O_3 .

Pada proses *bayer*, biji bauksit dipisahkan dari pengotor utama seperti SiO_2 , Fe_2O_3 , dan TiO_2 (Sainte Claire-Deville, 1859). Pemisahan dilakukan dengan melarutkan bauksit pada larutan natrium hidroksida sesuai reaksi berikut:



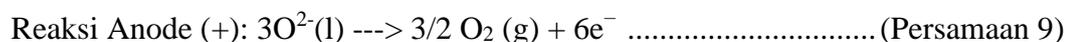
Aluminium oksida akan larut dalam NaOH sedangkan pengotornya tidak (Tsakiridis, 2012). Zat pengotor selanjutnya dipisahkan melalui proses penyaringan dan aluminium diendapkan dengan mengalirkan gas CO_2 sesuai reaksi berikut:



Hasil pengendapan ini disaring untuk kemudian dikeringkan dan dipanaskan. Hasil akhir dari proses ini berupa padatan aluminium oksida murni (Al_2O_3) sesuai reaksi berikut:



Tahap pemurnian selanjutnya adalah proses *hall-heroult*. Dalam proses *hall-heroult*, aluminium oksida dilarutkan dalam lelehan kriolit (Na_3AlF_6) dalam bejana baja berlapis grafit. Lapisan grafit pada bejana juga berfungsi sebagai katode (Davy, 2009). Setelah proses pelarutan, dilakukan proses elektrolisis pada suhu 950°C dengan menggunakan batang grafit sebagai anode. Pada proses elektrolisis, Al_2O_3 dicampur dengan CaF_2 dan 2-8% kriolit. Fungsi penambahan CaF_2 dan kriolit adalah untuk menurunkan titik lebur alumina dari 2000°C menjadi $850-950^\circ\text{C}$ (Davy, 2009). Reaksi pada anode dan katode berbahan grafit pada proses elektrolisis adalah:



Reaksi Katode (-): $2\text{Al}^{3+} (\text{l}) + 6\text{e}^{-} \rightarrow 2\text{Al} (\text{l})$ (Persamaan 10)

Reaksi sel: $2\text{Al}^{3+} (\text{l}) + 3\text{O}^{2-} (\text{l}) \rightarrow 2\text{Al} (\text{l}) + 3/2 \text{O}_2 (\text{g})$ (Persamaan 11)

Keseluruhan proses *hall-heroult* dilakukan dalam suatu sel elektrolisis yang biasa disebut pot reduksi. Pot reduksi terbuat dari baja yang bagian bawahnya dilapisi karbon sebagai konduktor arus listrik pada sistem (Davy, 2009). Bagian bawah dari pot reduksi juga berfungsi menampung aluminium murni hasil elektrolisis. Secara umum, 1 ton aluminium murni dapat dihasilkan dari pemrosesan 4 ton biji bauksit (Polmear, 2006). Dari proses pemurnian ini, dihasilkan beberapa jenis limbah seperti impuritas bahan baku, zat katalis, *scrap*, *dross* dan *slag* aluminium (Tsakiridis, 2012).

2.3 Proses Daur Ulang Aluminium

Daur ulang aluminium adalah serangkaian kegiatan yang dilakukan untuk mengambil sisa aluminium yang masih terdapat pada limbah pemurnian aluminium primer. Limbah pemurnian aluminium yang digunakan terdiri atas *dross*, *scrap* dan juga *slag* aluminium (Tsakiridis, 2012). Karena bahan baku yang digunakan kebanyakan adalah *slag* aluminium, maka proses ini banyak disebut sebagai daur ulang *slag* aluminium. Secara umum, daur ulang *slag* aluminium terdiri atas proses penghancuran, pengayakan, pelapisan alat, peleburan dan pencetakan aluminium (Tsakiridis, 2012).

Tahap pertama dalam proses daur ulang *slag* aluminium adalah penghancuran. Pada tahap ini, dilakukan penghancuran bongkahan *slag* aluminium menggunakan *crusher* untuk mendapatkan ukuran bongkahan yang lebih kecil. Setelah dihancurkan, bongkahan kecil kemudian digiling untuk mendapatkan butiran yang lebih halus. Hasil penggilingan kemudian diayak untuk mendapatkan ukuran butiran yang seragam. Residu dari ketiga proses ini adalah bahan berukuran besar dan beberapa impuritas (Ingustald, 2012). Bahan berukuran besar akan kembali melalui penghancuran sedangkan impuritas akan dikeluarkan dari proses (Tsakiridis, 2012). Untuk bahan jenis *scrap* aluminium/*foil*, tidak diperlukan proses penghancuran dan pengayakan. Bahan jenis ini terlebih dahulu dibakar untuk

memisahkan aluminium dengan zat pengotor seperti plastik (Tsakiridis, 2012). *Scrap* yang telah dibakar kemudian dilebur bersama dengan material bahan berupa *slag* aluminium.

Tahap berikutnya adalah pelapisan alat. Pelapisan alat dilakukan sebelum proses peleburan. Alat cetak dan tungku peleburan dilapis dengan bubuk kalsium agar lelehan aluminium tidak menempel (Polmear, 2006). Setelah dilakukan pelapisan, hasil ayakan bahan siap dibakar pada tungku. Pada proses ini, ditambahkan 2 sendok fluks untuk setiap 50 kg bahan yang dipanaskan (Ingustald, 2012). Fungsi penambahan fluks adalah untuk menurunkan titik lebur dari aluminium pada bahan. Ketersediaan oksigen selama proses pembakaran dijaga menggunakan *blower* agar dapat dicapai suhu tertinggi sekitar 700 °C (Tsakiridis, 2012).

Logam aluminium yang telah mencair kemudian dituang ke dalam cetakan. Cetakan yang digunakan terlebih dahulu ditaburi dengan bubuk kalsium atau kapur agar cairan logam yang menjadi padat nantinya tidak lengket pada cetakan (Polmear, 2006). Penuangan logam cair ke dalam cetakan dilakukan secara manual kontinyu sampai volume cetakan penuh. Jika penuangan terputus, maka proses pemadatan logam akan terganggu karena adanya perbedaan suhu pada logam cair yang menyebabkan cacat produk (BLH Jombang, 2016). Logam yang telah dicetak kemudian didiamkan selama 5 hingga 10 menit sebelum dikeluarkan dari cetakannya. Hasil cetakan ini masih memerlukan pendinginan karena suhunya masih cukup tinggi. Pendinginan lanjutan dilakukan dengan cara mengangin-anginkan hasil cetakan pada suhu ruang selama kurang lebih 5 jam.

2.4 Pencemaran oleh Limbah Daur Ulang *Slag* Aluminium

Daur ulang *slag* aluminium adalah kegiatan yang banyak dilakukan oleh industri skala kecil hingga menengah. Daur ulang aluminium menghasilkan logam murni aluminium yang kualitasnya tidak berbeda dari proses pemurnian aluminium primer (Polmear, 2006). Daur ulang aluminium juga banyak dilakukan mengingat banyaknya limbah proses pemurnian aluminium. Kemudahan untuk mendapatkan bahan baku dan kualitas produk yang dihasilkan membuat kegiatan ini banyak berkembang (Tsakiridis, 2012).

Proses daur ulang aluminium masih menghasilkan limbah sebagai hasil samping proses produksi. Limbah yang dihasilkan utamanya adalah impuritas bahan baku, sisa aluminium dan beberapa zat pengotor (BLH Jombang, 2016). Limbah ini dihasilkan dari proses penghancuran, pengayakan dan juga peleburan. Efektifitas daur ulang yang cukup rendah membuat logam atau senyawa aluminium masih tersisa pada limbah (Tsakiridis, 2012). Selain itu, penambahan beberapa zat untuk membantu proses produksi juga menjadi sumber limbah dari proses daur ulang slag aluminium (BLH Jombang, 2016).

Pada kondisi normal, aluminium berada di alam dalam bentuk mineral. Akibat adanya kegiatan industri, limbah aluminium dapat berada di lingkungan dalam bentuk senyawa ataupun ion (Binczweski, 1995). Pada limbah daur ulang slag aluminium, diketahui terdapat beberapa senyawa ikatan aluminium seperti kompleks sulfida dan alumina (Tsakiridis, 2012). Senyawa-senyawa ini memiliki kemungkinan untuk mencemari lingkungan ketika bereaksi dengan senyawa lain. Sisa aluminium dalam bentuk mineral juga dapat mencemari lingkungan jika terjadi proses *leaching* (BLH Jombang, 2016).

Impuritas bahan dan sisa aluminium dari proses dapat mengganggu stabilitas lingkungan. Beberapa kasus pencemaran yang telah terjadi diantaranya adalah perubahan warna dan rasa air tanah, gangguan kesehatan serta menurunnya kesuburan tanah. Perubahan warna dan rasa dapat diakibatkan oleh masuknya limbah proses daur ulang slag aluminium ke air tanah. Gangguan kesehatan seperti gangguan pernafasan disebabkan oleh emisi gas dari proses pembakaran bahan baku. Menurunnya kesuburan tanah terjadi akibat akumulasi aluminium dan impuritas yang menyebabkan turunnya pH tanah (BLH Jombang).

2.5 Pengertian Bioremediasi

Berdasarkan terminologi, bioremediasi terdiri atas dua kata yaitu bio dan remediasi. Bio berarti makhluk hidup dan remediasi berarti pemulihan. Secara umum, bioremediasi adalah upaya pemulihan suatu lingkungan tercemar dengan memanfaatkan kemampuan makhluk hidup tertentu. Dalam arti lain, bioremediasi dapat diartikan sebagai penurunan kadar pencemar dengan memanfaatkan suatu makhluk hidup tertentu (Cheung dan Gu, 2007).

Bioremediasi kebanyakan mengacu pada segala aktivitas pemulihan yang memanfaatkan mikroorganisme (Kumar *et al.*, 2011). Mikroorganisme yang dimaksud bisa berupa bakteri, *fungi*, *yeast*, maupun alga. Mikroorganisme digunakan dalam proses remediasi karena memiliki suatu kemampuan khusus yang tidak dimiliki organisme lain. Mikroorganisme memiliki kemampuan untuk melindungi diri terhadap pencemar yang ada (Kaur dan Kumar, 2014).

Mikroorganisme melindungi diri dari pencemar dengan berbagai mekanisme seperti adsorpsi, absorpsi, metilasi, oksidasi dan reduksi (Zahoor dan Rehman, 2009). Mekanisme ini melibatkan reaksi enzimatik kompleks yang ada dalam sel mikroorganisme. Reaksi enzimatik inilah yang nantinya akan mereduksi kadar pencemar. Penurunan kadar pencemar ini bisa terjadi akibat pemecahan struktur pencemar maupun penimbunan dalam sel mikroorganisme (Quintelas *et al.*, 2008).

Biosorpsi adalah mekanisme yang paling banyak ditemukan dalam proses bioremediasi (Oves *et al.*, 2013). Biosorpsi merupakan gabungan antara penyerapan pencemar oleh mikroorganisme serta reaksi enzimatik dalam sel mikroorganisme (Nath dan Ray, 2015). Sebagian pencemar terpecah atau berubah menjadi senyawa lain yang kurang toksik. Sebagian pencemar yang lain tetap berada di sel mikroorganisme dan terkumulasi.

Bioremediasi telah banyak digunakan untuk pengolahan lingkungan tercemar. Bioremediasi terbukti aman karena berlangsung murni secara biologik (Singh dan Bishnoi, 2015). Prinsip dari bioremediasi sebenarnya berlangsung sesuai dengan reaksi secara alami di alam. Reaksi secara alami yang dimaksud adalah pengolahan alamiah oleh mikroorganisme di alam bebas. Reaksi ini dipercepat dengan menambahkan mikroorganisme yang sesuai untuk mengolah pencemar tertentu. Penambahan nutrisi juga dilakukan jika dibutuhkan untuk meningkatkan efisiensi kerja mikroorganisme (Dhal *et al.*, 2013).

Bioremediasi memiliki beberapa kelebihan seperti biaya yang kompetitif dan lebih mudah dalam hal aplikasinya. Bioremediasi diketahui efektif dalam pengolahan lingkungan tercemar pada kadar tertentu. Bioremediasi juga dapat diaplikasikan apabila lahan yang tercemar luas. Jika dibandingkan dengan metode

pengolahan lain, bioremediasi cenderung lebih kompetitif dari segi biaya dan kemudahan aplikasi (Dhal *et al.*, 2013).

Bioremediasi juga memiliki segi kekurangan jika dibandingkan dengan metode pengolahan yang lain. Dhal (2013) menyatakan bahwa proses bioremediasi cenderung berlangsung lebih lambat. Dari segi *operation* dan *maintenance*, bioremediasi membutuhkan perlakuan khusus agar mikroorganisme dapat tetap hidup (Kumar *et al.*, 2011). Dari segi efisiensi pengolahan, bioremediasi memiliki batasan tertentu terhadap kadar pencemar. Batasan ini merupakan kemampuan mikroorganisme untuk tetap hidup pada kadar pencemar tertentu. Umumnya, kemampuan mikroorganisme untuk tetap hidup ini berada pada kadar rendah pencemar. Dapat disimpulkan bahwa bioremediasi kurang cocok jika diterapkan pada kadar pencemar yang tinggi.

2.6 Proses Isolasi Bakteri *Indigenous*

Isolasi bakteri adalah proses pengambilan bakteri dari media atau lingkungan asalnya dan menumbuhkannya di media buatan hingga diperoleh biakan murni (Besty dan Keogh, 2005). Pemandahan bakteri dari satu tempat ke tempat lainnya harus menggunakan prosedur aseptik. Beberapa alat yang digunakan untuk menjalankan prosedur isolasi adalah bunsen dan *laminar air flow*. Bila tidak dijalankan dengan tepat, ada kemungkinan isolat terkontaminasi oleh mikroorganisme lain sehingga akan mengganggu hasil yang diharapkan (Postletwait dan Hopson, 2006). Teknik aseptik juga melindungi praktikan dari kontaminasi bakteri (Singleton dan Sainsbury, 2006).

Bakteri di alam umumnya tumbuh dalam populasi yang terdiri dari berbagai spesies (Purves dan Sadava, 2003). Untuk mendapatkan biakan murni, sumber bakteri diperlakukan dengan menggunakan metode pengenceran. Fungsi pengenceran adalah untuk mengurangi jumlah bakteri per satuan volume. Sebanyak 25 hingga 250 bakteri diharapkan dapat ditransfer pada media baru untuk mempermudah klasifikasi secara fisik (Pranowo dan Titah, 2016).

Beberapa metode dapat digunakan untuk menginokulasi bakteri tergantung dengan jenis media baru yang digunakan. Pada media agar tegak, dilakukan metode tusuk menggunakan jarum ose (Singleton dan Sainsbury, 2006). Pada medium agar

miring, dilakukan metode gores dengan menggunakan jarum ose. Pada medium datar, dapat digunakan metode *streak plate* (metode gores), *pour plate* (metode tuang) atau *spread plate* (metode sebar). Setelah inokulasi, dilakukan proses inkubasi, yaitu menyimpan media pada inkubator sehingga tercipta lingkungan yang cocok untuk pertumbuhan bakteri (Harley dan Presscot, 2002).

Inokulasi bakteri dilakukan hingga didapatkan bakteri kultur tunggal murni untuk selanjutnya dibiakkan pada media baru (Pranowo dan Titah, 2016). Jika terdapat lebih dari 1 jenis bakteri, maka masing-masing bakteri dipisahkan hingga didapatkan 1 jenis kultur tunggal. Karakteristik fisik menjadi acuan pemisahan bakteri saat isolasi. Setelah didapatkan bakteri kultur tunggal, dilakukan analisis gram untuk mengetahui jenis gram masing-masing isolat. Uji biokimia dapat dilakukan untuk mendapatkan *genus*, spesies dan *strain* dari isolat bakteri (Pranowo dan Titah, 2016).

2.7 Uji Toksisitas

Uji toksisitas adalah serangkaian tes yang dilakukan untuk mengetahui tingkat toksisitas suatu zat. Pada proses pengolahan secara biologis, dua metode uji toksisitas yang sering dilakukan adalah pengujian *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Maximum Tolerance Concentration* (MTC) (Mythili dan Karthikeyan, 2011). Kedua nilai ini dapat digunakan sebagai acuan dalam penentuan toksisitas suatu zat pencemar terhadap mikroorganisme uji. Kedua uji ini memanfaatkan serangkaian konsentrasi zat tertentu untuk dianalisis dampaknya terhadap metabolisme mikroorganisme uji (Mythili dan Karthikeyan, 2011).

Mythili dan Karthikeyan (2011) menyatakan bahwa nilai MIC adalah konsentrasi terendah di mana pertumbuhan mikroorganisme uji terhambat secara keseluruhan. Dengan kata lain, nilai MIC adalah konsentrasi terendah di mana mikroorganisme uji tidak dapat tumbuh. Nilai MTC adalah konsentrasi tertinggi di mana keseluruhan proses metabolisme mikroorganisme tidak mengalami gangguan. Nilai MIC dan MTC dapat dilihat dari perbandingan jumlah mikroorganisme yang tumbuh pada media tercemar dan reaktor kontrol. Reaktor kontrol yang digunakan adalah reaktor dengan media yang tidak mengandung pencemar. Nilai MIC adalah konsentrasi terendah di mana jumlah bakteri yang

tumbuh adalah nol (0). Nilai MTC adalah konsentrasi tertinggi di mana jumlah bakteri tumbuh pada lingkungan tercemar tidak berbeda jauh dengan kontrol.

2.8 Proses Pengolahan Aluminium secara Biologis

Aluminium merupakan salah satu logam yang pencemarannya dapat diolah dengan metode biologis. Terdapat banyak mikroorganisme yang dapat mereduksi kadar aluminium di lingkungan (Thatoi *et al.*, 2014). Mikroorganisme tersebut umumnya berupa bakteri yang telah diteliti mampu mengolah aluminium. Bakteri tersebut dapat berasal dari kultur laboratorium maupun berasal dari bakteri *indigenous*.

Proses pengolahan aluminium secara biologis dimulai dengan mendapatkan jenis bakteri yang akan digunakan. Sumber bakteri dapat berasal dari kultur laboratorium atau diisolasi dari lingkungan tercemar itu sendiri. Proses selanjutnya adalah aklimatisasi. Pada proses ini terjadi adaptasi oleh mikroorganisme uji terhadap lingkungan yang mengandung aluminium (Cheung dan Gu, 2007). Pertumbuhan bakteri pada fase ini relatif lambat karena bakteri masih menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan yang ada. Bakteri tetap melakukan pengolahan pada proses ini namun dengan efisiensi yang sangat rendah. Hal ini dikarenakan pertumbuhan bakteri yang belum optimum pada proses aklimatisasi.

Setelah proses aklimatisasi, berlangsung fase pertumbuhan eksponensial bakteri. Fase inilah yang paling dibutuhkan pada proses biologis (Das *et al.*, 2014). Pada fase ini, bakteri tumbuh secara berganda sesuai dengan ketersediaan nutrisi pertumbuhan. Meningkatnya pertumbuhan bakteri secara eksponensial ini sangat berpengaruh terhadap efisiensi penyisihan aluminium. Semakin banyak bakteri yang ada dalam reaktor, semakin banyak pula aluminium yang direduksi. Pada fase ini, bakteri melakukan proses biosorpsi secara optimum terhadap aluminium. Efisiensi penyisihan yang meningkat ini diakibatkan oleh adanya peningkatan aktivitas dan metabolisme bakteri.

Pada pengolahan aluminium secara biologis, ion-ion aluminium akan diserap dalam sel bakteri untuk kemudian diikat atau diproses secara enzimatik. Reaksi ini akan menghasilkan proses bioakumulasi mineral aluminium dalam sel bakteri (Chau *et al.*, 2014). Bioakumulasi aluminium dalam sel akan mengurangi kadar

aluminium di lingkungan tercemar. Proses bioakumulasi juga dapat mereduksi mobilitas pencemar untuk dilakukan pengolahan lebih lanjut (Chau *et al.*, 2014).

2.9 Uji General Linear Model (GLM) ANOVA

Analisis varian (*analysis of variance*) atau ANOVA adalah suatu metode analisis statistika yang termasuk ke dalam cabang statistika inferensi. Uji dalam anova menggunakan uji F karena dipakai untuk pengujian lebih dari 2 sampel. Dalam praktik, analisis varians dapat merupakan uji hipotesis maupun pendugaan (Sugiharto. 2009).

ANOVA digunakan untuk melakukan analisis komparasi multivariabel. General Linear Model (GLM) ANOVA digunakan bila sumber keragaman yang terjadi tidak hanya karena satu faktor (perlakuan). Faktor lain yang mungkin menjadi sumber keragaman juga harus diperhatikan. Faktor lain ini dapat berupa perlakuan lain atau faktor yang sudah terkondisi. Tujuan dari pengujian GLM ANOVA ni adalah untuk mengetahui apakah ada pengaruh dari berbagai perlakuan yang diuji terhadap respon yang diinginkan (Usman dan Akbar, 2000).

2.10 Kinetika Reduksi Aluminium oleh Bakteri

Kinetika reduksi aluminium oleh bakteri adalah model yang menggambarkan pola penurunan substrat oleh reaktan ataupun adsorben (Reynold dan Ricahrds, 1982). Kinetika reduksi logam berat oleh bakteri cenderung mengikuti orde semu yang umumnya merupakan pseudo orde satu (Vitasari *et al.*, 2009), namun tidak menutup kemungkinan proses yang terjadi dideskripsikan sebagai pseudo orde dua (Srivastava *et al.*, 2006). Reaksi orde semu menggambarkan kecenderungan reaksi yang tidak sama dengan orde satu maupun orde dua. Reaksi ini terjadi umumnya pada kondisi di mana salah satu reaktan tersedia dalam jumlah berlebih (Srivastava *et al.*, 2006).

Reaksi pseudo orde satu menunjukkan adanya pengaruh q equilibrium dan q pada waktu uji terhadap waktu. Sedangkan reaksi pseudo orde dua menunjukkan adanya pengaruh waktu per q pada waktu uji terhadap waktu. Persamaan linier dari reaksi pseudo orde satu dan pseudo order dua ditampilkan dalam Persamaan 12 dan Persamaan 13.

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - \frac{k_1}{2,303} t \dots\dots\dots \text{(Persamaan 12)}$$

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2(q_e)^2} + \frac{1}{q_e} t \dots\dots\dots \text{(Persamaan 13)}$$

Keterangan:

- t : waktu (jam)
- q_e : konsentrasi teradsorb pada kondisi equilibrium (mg substrat/g adsorben)
- q_t : konsentrasi teradsorb pada waktu t (mg substrat/g adsorben)
- k₁ : konstanta laju reaksi untuk pseudo orde satu (/ menit)
- k₂ : konstanta laju reaksi untuk pseudo orde dua (mg substrat/ g adsorben.jam)

2.11 Penelitian Terdahulu

Beberapa penelitian telah dilakukan terkait pemanfaatan bakteri dalam proses pengolahan aluminium secara biologis. Penelitian terdahulu ini dijadikan sebagai acuan dan pembelajaran dalam melakukan penelitian kali ini. Rangkuman tentang penelitian terdahulu dapat dilihat pada Tabel 2. 1.

Tabel 2. 1 Penelitian Terdahulu

No	Jenis Bakteri	pH	Konsentrasi Maksimum	Media Uji	Sumber, Tahun
1	<i>Bacillus sp.</i>	5-11	2071µM	Aquades	Mittal <i>et al.</i> , 2012
	<i>Pseudomonas sp.</i>	5-11	3106µM	Aquades	
2	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	6,4	0,9 µg/ml	Aquades	Martins <i>et al.</i> , 2012
3	<i>Rhizobium sp.</i>	5	1 mM	Aquades	Ferreira <i>et al.</i> , 2012
4	<i>Pseudomonas Fluorescence</i>	4,7	15 mM	<i>Enriched Medium</i>	Auger <i>et al.</i> , 2013

No	Jenis Bakteri	pH	Konsentrasi Maksimum	Media Uji	Sumber, Tahun
5	<i>Bacillus sp.</i>	4	100 ppm	<i>Lactose Broth</i>	Chau <i>et al.</i> , 2014
6	<i>Aspergillus oryzae</i>	6	200 mg/L	Aquades	Omeike <i>et al.</i> , 2013
7	<i>Chryseomonas luteola</i>	5	55,2 mg/g	Aquades	Ozdemyr dan Baysal, 2004
8	<i>Rhizopus oligosporus</i>	4	26,6 mg/g	<i>Lactose Broth</i>	Chuan, 1997
9	<i>Rhodococcus opacus</i>	5	41,59 mg/g	<i>Vetec Medium</i>	Cayllahua dan Torem, 2010

Berdasarkan Mittal *et al.* (2012), pada konsentrasi aluminium 2071 μM dan 3106 μM , bakteri *Bacillus sp.* dan *Pseudomonas sp.* masih dapat tumbuh dengan baik. Martins *et al.*, (2012) menyatakan bahwa bakteri *Desulfovibrio desulfuricans* mampu mereduksi aluminium hingga 85% dengan konsentrasi 0,9 mM selama 27 hari. Ferreira *et al.* (2012) menyatakan bahwa *Rhizobium* dapat lebih toleran terhadap logam berat aluminium hingga konsentrasi 1 mM pada kondisi pH 5 dibanding dengan pH 6 dan 6,9. *Pseudomonas fluorescens* juga mampu mendegradasi aluminium hingga 65,1% dengan konsentrasi 15 mM selama 80 jam pada kondisi optimum dan ketersediaan nutrisi berlebih (Auger *et al.*, 2013). Chau *et al.* (2014) menyatakan bahwa *Bacillus sp.* mampu mereduksi hingga 44,5% aluminium pada media diperkaya nutrisi dengan konsentrasi awal sebesar 100ppm.

Omeike *et al.* (2013) menyatakan bahwa *Aspergillus oryzae* mampu menyerap hingga 45% aluminium dengan konsentrasi awal sebesar 200 mg/L pada pH 6. Sejalan dengan penelitian Omeike *et al.*, Ozdemyr dan Baysal (2004) menyatakan adanya kemampuan adsorpsi aluminium oleh *Chryseomonas luteola* pada pH 5 dengan kapasitas adsorpsi sebesar 55,2 mg/g. *Rhizopus oligosporus* juga dinyatakan sebagai salah satu mikroorganisme yang mampu menyerap aluminium pada pH 4 dengan kapasitas adsorpsi maksimum 26,6 mg/g pada media LB (Chuan,

1997) sedangkan *Rhodococcus opacus* mampu menyerap aluminium hingga 41,59 mg/g dengan pH 5 pada *Vetec Enriched Medium* (Cayllahua dan Torem, 2010).

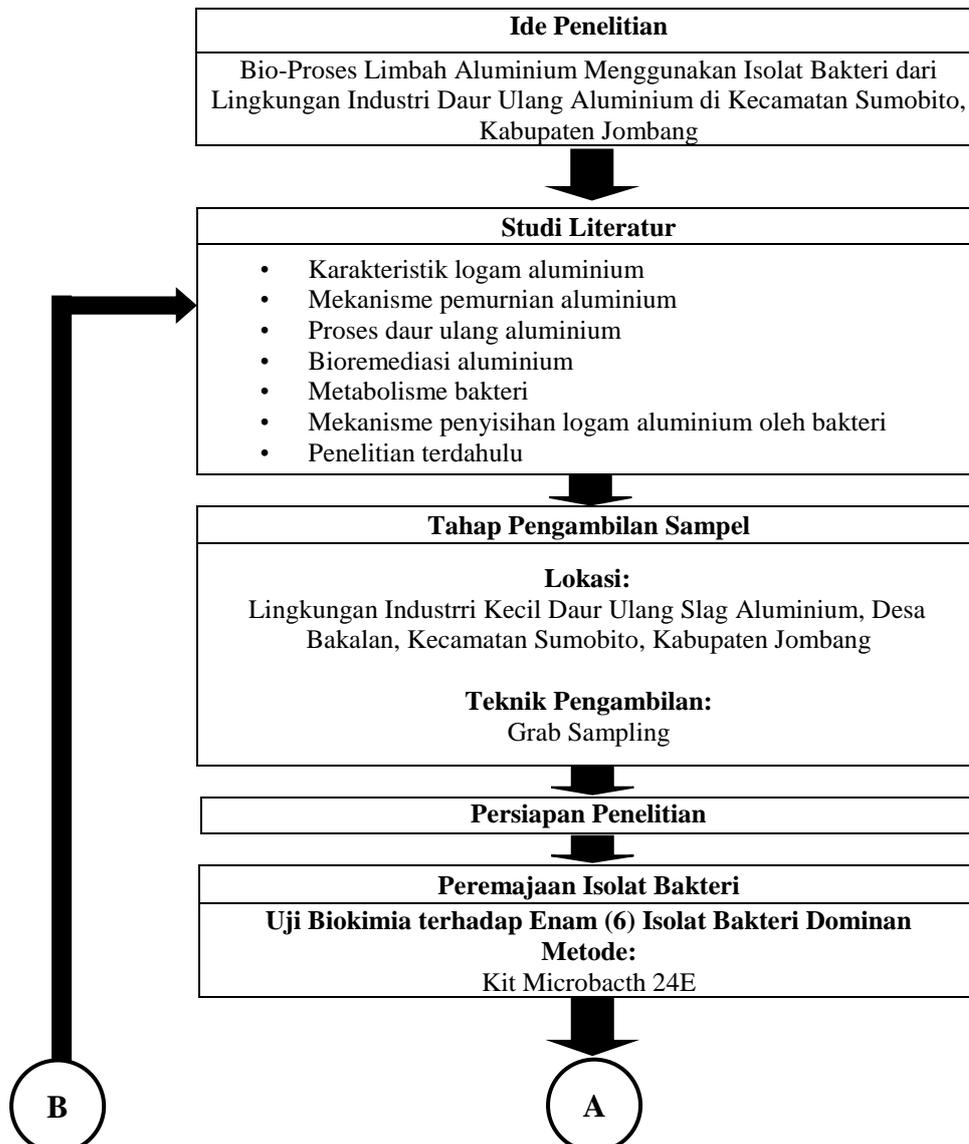
BAB 3

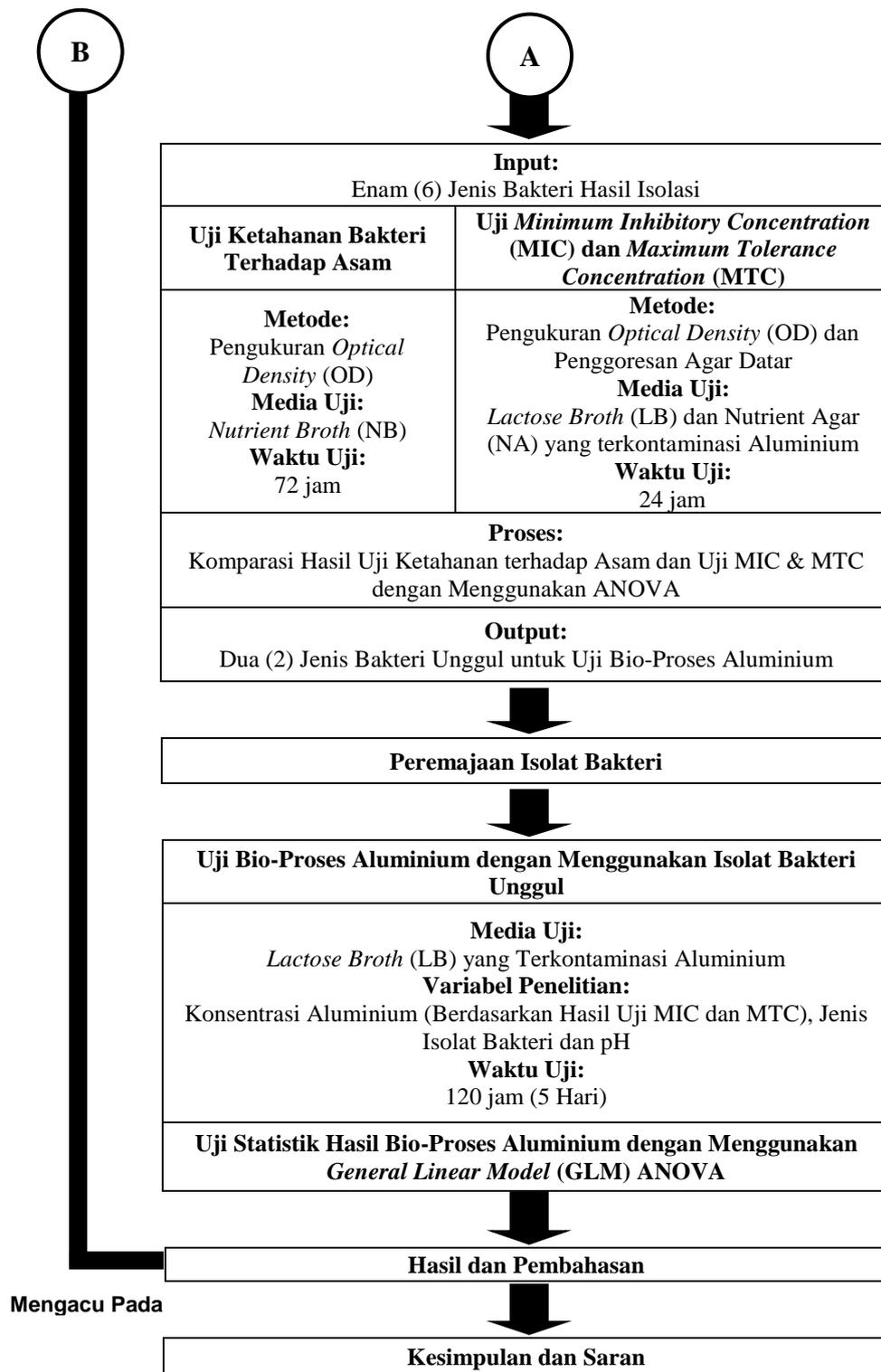
METODE PENELITIAN

3.1 Kerangka Penelitian

Metode penelitian digunakan sebagai acuan dalam melakukan penelitian. Metode penelitian ini disajikan dalam bentuk kerangka penelitian yang memiliki tujuan untuk memberikan gambaran dan langkah penelitian guna mempermudah dalam pelaksanaan penelitian serta penulisan laporan. Kerangka penelitian ini digunakan sebagai pedoman dalam penelitian sehingga kesalahan dapat diminimalisasi. Kerangka penelitian secara lengkap dapat dilihat pada Gambar 3.

1.





Gambar 3. 1 Kerangka Penelitian

3.2 Ide Penelitian

Kegiatan daur ulang aluminium adalah salah satu usaha yang cukup berkembang di Kabupaten Jombang. Setidaknya terdapat 2 Lingkungan Industri Kecil (LIK) daur ulang slag aluminium yang menaungi lebih dari 100 industri. Salah satu LIK dengan jumlah industri terbanyak berada di Desa Bakalan, Kecamatan Sumobito. LIK daur ulang slag aluminium Sumobito melakukan kegiatan pemurnian aluminium dari limbah *foil*, *dross*, *abu* dan *slag*. Selain menghasilkan logam aluminium murni, kegiatan ini juga memberikan hasil samping berupa limbah daur ulang aluminium. Limbah ini berupa abu hasil penggilingan, air bekas pendinginan serta berbagai impuritas. Limbah ini dikategorikan sebagai logam berbahaya karena mengandung logam jenis aluminium yang dapat menimbulkan gangguan kesehatan akut serta pencemaran lingkungan.

Sumber limbah cair utamanya berasal dari proses pencucian alat dan pendinginan hasil cetakan aluminium. Limbah cair ini tentunya mengandung aluminium dengan jumlah yang cukup tinggi. Limbah cair ini dibuang secara langsung menuju badan air bersama dengan limbah *grey water* tanpa melalui unit pengolahan air limbah. Badan air di mana limbah cair dibuang, digunakan sebagai sumber pengairan bagi persawahan di sekitar lokasi industri. Dari proses inilah didapati banyak permasalahan lingkungan yang terjadi di sekitar lokasi industri. Masalah lingkungan paling terlihat adalah perubahan warna air sumur dan penurunan hasil pertanian. Warna air sumur sekitar lokasi berubah menjadi keabuan, sedangkan hasil panen menurun hingga setengah kali panen sebelum adanya kegiatan industri daur ulang aluminium.

Pengolahan biologis merupakan salah satu metode yang dapat diterapkan untuk menangani pencemaran akibat logam. Prinsip pengolahan biologis adalah melakukan degradasi dan imobilisasi pencemar logam menggunakan metabolisme mikroorganisme. Isolat bakteri banyak digunakan sebagai mikroorganisme uji dalam proses pengolahan secara biologis. Isolat bakteri memiliki kemampuan untuk bertahan terhadap pencemar karena adanya adaptasi terhadap lingkungan yang terkontaminasi. Pada penelitian ini, digunakan 2 jenis isolat bakteri yang didapatkan dari lokasi daur ulang aluminium. Isolat bakteri tersebut diuji

kemampuannya dalam mereduksi konsentrasi aluminium pada air limbah dengan menggunakan variasi jenis bakteri, pH dan juga konsentrasi aluminium.

3.3 Studi Literatur

Studi literatur yang dilakukan pada penelitian ini bertujuan untuk membantu dan mendukung ide penelitian serta untuk meningkatkan pemahaman lebih lanjut terhadap ide penelitian yang telah diambil. Literatur yang telah dibaca nantinya dapat digunakan sebagai acuan dalam penentuan pH uji yang digunakan. Literatur juga bermanfaat untuk menentukan perlakuan yang paling optimum agar bakteri dapat tumbuh dengan baik.

Sumber literatur yang digunakan adalah jurnal, peraturan perundang-undangan, *text book*, tesis, disertasi, website dan makalah seminar. Isi dari literatur yang dimaksud berhubungan dengan karakteristik logam aluminium, mekanisme pemurnian aluminium, proses daur ulang aluminium, proses bioremediasi aluminium, metabolisme bakteri, mekanisme penyisihan logam aluminium oleh bakteri serta faktor-faktor yang berpengaruh dalam proses pengolahan aluminium secara biologis. Literatur yang telah dibaca digunakan sebagai acuan dalam pelaksanaan uji serta analisis hasil penelitian.

3.4 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di lokasi industri daur ulang aluminium di Desa Bakalan, Kecamatan Sumobito, Kabupaten Jombang. Sampel diambil pada air permukaan dan air tanah di sekitar lokasi industri. Sampel air permukaan diambil dari kanal efluen pembuangan air limbah industri. Sampel air tanah diambil dari sumur dalam dengan menggunakan pompa aksial. Sampel diambil sebanyak 1x dengan menggunakan metode *grab sampling*.

Sampel air permukaan diambil dengan menggunakan botol steril. Sampel diambil pada kedalaman 10cm dengan melawan arah aliran. Sampel air tanah diambil dari sumur dalam dengan menggunakan pompa. Sampel diambil pada keran pompa dengan menggunakan botol steril. Seluruh sampel disimpan pada *cool box* dengan suhu rata-rata 4 °C. Analisis parameter pH dilakukan di tempat dengan menggunakan pH meter (OneMed, Indonesia). Parameter suhu diukur di lokasi

pengambilan sampel menggunakan termometer alkohol (OneMed, Indonesia). Analisis kandungan aluminium dilakukan dengan menggunakan ICP-OES (ThermoFisher, USA) di Laboratorium Energi, LPPM ITS.

3.5 Persiapan Penelitian

Tahap persiapan dilakukan untuk melakukan persiapan sebelum penelitian dilaksanakan. Persiapan yang dilakukan terkait persiapan alat dan bahan yang dibutuhkan untuk penelitian. Beberapa persiapan penelitian yang dilakukan adalah:

1. Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

Pembuatan *Nutrient Broth* (NB) (Merck, Jerman) dilakukan sesuai dengan kebutuhan. Pada pembuatan satu liter media NB, dibutuhkan 8 gram NB bubuk. NB yang akan digunakan ditimbang terlebih dahulu sesuai dengan kebutuhan. NB yang telah ditimbang kemudian dilarutkan menggunakan aquades (OneMed, Indonesia) dengan cara diaduk menggunakan spatula kaca (Pyrex, Jerman). Setelah larut, dilakukan proses penuangan pada erlenmeyer (Pyrex, Jerman) sesuai dengan kebutuhan. Setelah penuangan selesai, proses dilanjutkan dengan sterilisasi pada media NB. Dalam penelitian ini, media NB dibutuhkan sebagai media tumbuhnya bakteri saat tahap uji ketahanan bakteri terhadap asam dan proses penumbuhan bakteri uji sebelum uji bio-proses.

2. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Pada pembuatan satu liter media *nutrient agar* (NA) (Merck, Jerman) dibutuhkan 20 gram NA bubuk. Nutrient agar yang akan digunakan ditimbang terlebih dahulu. NA yang telah ditimbang kemudian dilarutkan menggunakan aquades dengan cara diaduk dan dipanaskan di atas kompor listrik (Maspion S-301, Indonesia). Setelah larut, dilakukan proses penuangan pada tabung reaksi ataupun erlenmeyer sesuai dengan kebutuhan. Proses penuangan harus dilakukan secepat mungkin sebelum media NA mengeras. Setelah selesai, dilanjutkan dengan proses sterilisasi pada media NA.

Dalam penelitian ini, NA digunakan untuk pembuatan agar miring pada masing- masing tabung reaksi @5 ml dan media agar datar pada masing- masing cawan petri @10 ml. NA pada tabung reaksi digunakan sebagai media tumbuh inokulan bakteri dalam tahap peremajaan isolat bakteri. NA pada

cawan petri digunakan sebagai media tumbuh pada tahap perhitungan jumlah bakteri dengan *bacterial colony counter* (Stuart SC6, UK) serta pada tahap uji MIC dan MTC.

3. Pembuatan Media *Lactose Broth* (LB)

Pembuatan *Lactose Broth* (LB) (Merck, Jerman) dilakukan sesuai dengan kebutuhan. Pada pembuatan satu liter media LB, dibutuhkan 13 gram LB bubuk. LB yang akan digunakan ditimbang terlebih dahulu sesuai dengan kebutuhan. LB yang telah ditimbang kemudian dilarutkan menggunakan aquades lalu diaduk menggunakan spatula kaca. Setelah larut, dilakukan proses penuangan pada erlenmeyer sesuai dengan kebutuhan. Setelah penuangan selesai, proses dilanjutkan dengan sterilisasi media LB. Dalam penelitian ini, media LB digunakan sebagai media uji pada tahap bio-proses aluminium menggunakan isolat bakteri serta uji MIC dan MTC.

4. Pembuatan Media Agar Miring NA pada Tabung Reaksi

Pembuatan media agar miring dilakukan untuk menyediakan media bagi pertumbuhan bakteri uji. Media agar miring berguna untuk menjaga bakteri agar dapat hidup dengan rentang lebih lama. Pembuatan agar miring dilakukan dengan memiringkan tabung reaksi (Pyrex, Jerman) yang berisi media NA 5ml yang telah disterilisasi. Pembuatan media miring dilakukan dengan menggunakan landasan *ballpoint* atau batang yang diletakkan di dekat mulut tabung reaksi yang berisi media NA yang telah dicairkan. Media kemudian ditunggu hingga mengeras ±selama 15 menit. Bakteri kemudian diinokulasikan pada agar miring untuk kemudian disimpan di dalam inkubator (Memert+, Jerman) dengan suhu 37°C.

5. Pembuatan Media NA pada Cawan Petri

Pembuatan media pada cawan petri (Cover, USA) dilakukan dengan menuangkan 10ml media NA yang telah disterilisasi ke dalam masing-masing cawan petri steril. Cawan petri yang akan diisi media NA dikondisikan aseptis yaitu dengan mengapi-apikan mulut cawan ketika akan membuka cawan petri. Api yang digunakan berasal dari bunsen (Pyrex, Jerman). Setelah media padat, cawan kemudian dibungkus dengan kertas coklat. Cawan petri yang telah

berisi media dan inokulan bakteri disimpan di dalam inkubator dengan suhu 37 °C.

6. Pembuatan Larutan Fisiologis

Larutan fisiologis dibuat dengan cara melarutkan 8,5 gram NaCL (Merck, Jerman) dalam 1000 mL aquades (OneMed, Indonesia). Larutan fisiologis digunakan saat penelitian utama sebagai pencucian mikroorganisme, pengencer saat *trial and error absorbansi* serta pada pengujian koloni bakteri. Setelah dilakukan pelarutan, larutan fisiologis diaduk hingga homogen dan dilakukan sterilisasi dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C selama \pm 60 menit.

7. Pembuatan Larutan Stok Aluminium

Pembuatan larutan stok aluminium dilakukan dengan melarutkan *Aluminium Chloride* (SAP, Indonesia) bubuk dengan konsentrasi yang telah ditentukan pada 1 liter aquadest. Larutan tersebut digunakan saat penelitian utama sebagai substrat yang dihilangkan. Pada penelitian ini, dibuat larutan stok aluminium dengan konsentrasi 20.000 mg/L. Larutan stok yang telah homogen kemudian disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C selama \pm 60 menit.

8. Sterilisasi Alat Uji dan Substrat untuk Penelitian

Metode yang digunakan pada sterilisasi alat uji dan substrat merujuk pada Kubyshkina *et al.* (2011) yang telah disesuaikan. Setiap alat yang akan digunakan dalam proses penelitian harus dicuci terlebih dahulu. Alat itu kemudian dikeringkan dengan cara diangin-aginkan, untuk mempercepat proses pengeringan dapat dilakukan pengusapan semua alat menggunakan tisu. Setelah alat kering, dapat dilakukan pembungkusan semua alat uji yang akan disterilkan. Pembungkusan dilakukan dengan menggunakan kertas coklat dan karet sebagai perekat. Hal tersebut dilakukan untuk menghindari masuknya uap air pada alat yang akan disterilisasi di *autoclave*. Alat-alat yang telah terbungkus kertas coklat kemudian dimasukkan ke *autoclave* yang bagian bawahnya telah diisi aquades.

Substrat atau media yang akan digunakan sebagai bahan penelitian juga harus disterilisasi. Bahan seperti larutan aquades sebagai pelarut media serta

larutan NA yang telah dibuat harus disterilisasi. Hal tersebut dilakukan untuk membebaskan alat dan substrat dari semua kehidupan mikroorganisme yang dapat mengakibatkan kontaminasi. *Autoclave* yang digunakan disetting pada suhu 121 °C selama \pm 60 menit. Proses ini bertujuan untuk menghilangkan semua kontaminan pada alat dan substrat, kontaminan yang dimaksud bisa berupa sel dan spora mikroba yang tidak diinginkan. Dengan proses sterilisasi akan tercipta keadaan yang steril pada semua alat dan substrat sebelum digunakan.

3.6 Peremajaan Isolat Bakteri

Peremajaan isolat bakteri merupakan tahap yang dilakukan sebelum melakukan uji pertumbuhan dan uji bio-proses logam aluminium. Metode yang digunakan pada peremajaan isolat bakteri merujuk pada Machmud (2001) yang telah disesuaikan. Pada tahap ini, bakteri uji diremajakan dengan tujuan untuk menjaga indukan bakteri uji agar tidak mati atau terkontaminasi. Dengan peremajaan, didapatkan cadangan persediaan bakteri jika terjadi kesalahan atau kebutuhan bakteri yang melebihi perkiraan. Pindahan bakteri dilakukan secara aseptik dengan menggunakan jarum ose dari kultur induk ke media agar miring baru. Setelah dilakukan pemindahan, bakteri diinkubasi selama 24jam. Hal ini dilakukan untuk mempersiapkan bakteri sebelum dapat digunakan dalam proses penelitian.

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini merupakan bakteri yang didapatkan dari hasil isolasi. Isolasi bakteri dilakukan pada lingkungan tercemar aluminium. Bakteri yang dipilih adalah bakteri air dan tanah yang memiliki resistensi tinggi terhadap aluminium. Uji resistensi dilakukan dengan metode *disk diffusion* pada rentang konsentrasi 0 hingga 15.000 mg/L $AlCl_3$. Dari seluruh isolat bakteri, dipilih 6 kode bakteri yang diuji ketahanannya terhadap asam. Dari hasil uji ketahanan terhadap asam, kemudian dipilih 2 jenis bakteri yang memiliki kemampuan hidup pada pH paling rendah. Kedua jenis bakteri yang tahan terhadap asam kemudian digunakan sebagai bakteri uji dalam tahap bio-proses aluminium. Resistensi bakteri terhadap aluminium dapat dilihat pada Tabel 3. 1.

Pada tahap peremajaan isolat sebelum uji ketahanan asam, dilakukan analisis spesies bakteri uji dengan menggunakan metode Biokimia - Kit Microbacth 24E. Analisis dilakukan untuk mengetahui spesies bakteri yang digunakan pada tahap uji ketahanan bakteri terhadap asam. Uji biokimia dilakukan di Unit Layanan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.

Tabel 3. 1 Resistensi Isolat Bakteri terhadap Aluminium

Kode Isolat Bakteri	Resistensi terhadap Aluminium (mg/L AlCl ₃)
S5	5.000
S6	5.000
W1	7.500
W2	10.000
W4	7.500
W5	15.000

3.7 Uji Ketahanan Bakteri Terhadap Asam

Uji ketahanan bakteri terhadap asam dilakukan karena adanya kecenderungan proses bio-proses yang lebih baik terjadi dalam suasana asam. Uji ketahanan terhadap asam mengacu pada Konishi *et al.* (2014) yang telah disesuaikan. Bakteri hasil isolasi diinokulasikan secara aseptik pada media NB yang telah diatur pH nya. Pengaturan pH dilakukan dengan menggunakan larutan HCl (Merck, Jerman) hingga didapatkan pH 3, 4 dan 5. Pada tahap ini, digunakan NB dengan pH normal sebagai kontrol untuk semua unit. Ketiga pH yang diujikan diambil berdasarkan tingkat kelarutan aluminium pada berbagai pH (Gambar 2.2) dan beberapa penelitian terdahulu (Tabel 2.1).

Bakteri diinokulasikan pada media NB sejumlah 2% v/v (Ibrahim *et al.*, 2010) OD₆₀₀ = 0,5A (Purwanti *et al.*, 2015). Media NB yang telah mengandung bakteri kemudian *dishaker* 150 rpm selama 72 jam. Parameter OD₆₀₀ dianalisis setiap 2jam sekali untuk 24 jam pertama. Setelah 24 jam, OD₆₀₀ dianalisis sebanyak 1x sehari setiap 24jam. Sebagai pembanding, kurva pertumbuhan bakteri pada media asam disejajarkan dengan kurva laju pertumbuhan bakteri (24jam) pada kondisi pH normal. Parameter jumlah koloni bakteri dianalisis setiap 1x sehari selama waktu uji. pH asam yang digunakan pada uji bio-proses mengacu pada pertumbuhan

terbaik yang didapatkan dari hasil uji ketahanan terhadap asam. Pertumbuhan yang baik ini diindikasikan oleh adanya nilai $OD_{600} \geq 0,2A$ (Ciric *et al.*, 2010) dan atau jumlah koloni bakteri yang paling mendekati kondisi normal.

3.8 Minimum Inhibitory Concentration (MIC) dan Maximum Tolerance Concentration (MTC)

Uji toksisitas aluminium dilakukan untuk mengetahui kadar minimum dari aluminium yang dapat menghambat pertumbuhan serta kadar maksimum yang dapat ditoleransi oleh bakteri uji. Metode yang digunakan pada uji toksisitas mengacu pada Mythili dan Karthikeyan (2011) dan Ruangpan (2004) yang telah disesuaikan. Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan 2 media yaitu media cair dan padat.

Pada pengujian toksisitas dengan media padat, bakteri uji ditumbuhkan pada media NA yang mengandung aluminium dengan konsentrasi 0, 50, 100, 500 dan 1000 mg/L. Rentang konsentrasi ini dipilih berdasarkan atas beberapa literatur terkait yang menyatakan bahwa konsentrasi aluminium dari limbah dapat ditemukan hingga 1000mg/L (Saigusa *et al.*, 1995). ECHA (2003) dan Okem *et al.* (2015) juga menyatakan bahwa akumulasi dalam organisme hidup ditemukan hingga 1000 mg/L. Proses penumbuhan bakteri dilakukan dengan metode *streaked* (penggoresan) pada media NA yang mengandung aluminium di dalam cawan petri. Kontrol yang digunakan adalah pertumbuhan bakteri media NA yang tidak mengandung aluminium. Setelah dilakukan inokulasi bakteri pada media NA, diamati pertumbuhan bakteri pada selang waktu 24jam setelah inokulasi. Pertumbuhan bakteri pada media yang mengandung aluminium dibandingkan dengan pertumbuhan pada media kontrol. Nilai MIC dan MTC media datar ditentukan dengan pengamatan visual ataupun dengan perhitungan luasan yang terbentuk pada cawan petri.

Pengujian toksisitas dengan media cair dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media LB yang terkontaminasi aluminium. Konsentrasi aluminium yang digunakan adalah 0, 50, 100, 500 dan 1000 mg/L dengan waktu inkubasi selama 1 hari (Kulkarni, 2014). Bakteri yang diinokulasi ke media LB yang terkontaminasi aluminium kemudian diukur nilai *Optical Density*nya (OD)

menggunakan UV-Spektrofotometer dengan panjang gelombang 600nm (Kulkarni, 2014). Jumlah bakteri awal yang diinokulasikan adalah 2% v/v (Ibrahim, 2016) $OD_{600} = 0,5A$ (Purwanti *et al.*, 2015). Ciric *et al.* (2010) menyatakan bahwa bakteri dapat tumbuh sangat baik terhadap polutan jika $OD_{600} > 0,2$. Adapun kriteria pertumbuhan bakteri dari uji toksisitas adalah OD_{600} 0,00–0,019: tidak tumbuh (-), $OD_{600} = 0,02–0,099$: pertumbuhan buruk (+), $OD_{600} = 0,1–0,2$: pertumbuhan baik (++) , $OD_{600} > 0,2$: pertumbuhan sangat baik (+++).

3.9 Bio-proses Aluminium dengan Menggunakan Isolat Bakteri

Uji bio-proses dilakukan untuk menentukan persentase penyisihan aluminium oleh isolat bakteri. Uji bio-proses juga dilakukan untuk menentukan pengaruh pH serta jenis bakteri terhadap persentasi penyisihan aluminium dalam air limbah. Uji bio-proses aluminium adalah tahap utama dalam penelitian ini. Metode yang digunakan pada tahap ini mengacu pada Chau *et al.* (2014) yang telah disesuaikan.

Pada tahap ini, parameter yang dianalisis adalah pH, suhu, OD, jumlah koloni bakteri, konsentrasi aluminium dan berat kering bakteri. Konsentrasi aluminium dianalisis sebanyak 6 kali yakni setiap 1 hari sekali selama 5 hari termasuk pada awal penelitian untuk reaktor yang mengandung aluminium. Sedangkan untuk reaktor tanpa aluminium, konsentrasi aluminium dianalisis sebanyak 2x yaitu pada awal dan akhir waktu uji. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan data untuk menunjang grafik penyisihan aluminium serta kinetika reaksi yang berlangsung pada reaktor yang mengandung aluminium. Uji OD digunakan untuk memastikan pertumbuhan bakteri selama proses pengujian dan perhitungan jumlah koloni dilakukan untuk mengkonfirmasi hasil pengukuran OD.

Konsentrasi aluminium yang digunakan adalah sebanyak 1 konsentrasi yang ditentukan dari hasil uji MIC dan MTC. Dua jenis isolat bakteri dan 1 kontrol berupa reaktor tanpa bakteri digunakan sebagai variasi jenis agen pereduksi aluminium. Inokulum bakteri awal yang dimasukkan ke reaktor uji adalah sebesar 2% v/v yang didapatkan dari hasil uji persen inokulum optimum. Terdapat dua variasi pH yang digunakan yaitu asam (didapatkan dari hasil uji ketahanan asam) dan netral (pH 6-9). Pengkondisian pH pada reaktor dilakukan dengan penambahan

HCl (Merck, Jerman) hingga pH yang diinginkan. Keseluruhan pengujian dilakukan secara duplo. Perlakuan antar variasi pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3. 2.

Tabel 3. 2 Matriks Perlakuan Antar Variasi

Jenis Bakteri	Konsentrasi Aluminium Awal (mg/L)	pH			
		Asam		Netral	
Bakteri 1	K0	B1K0A1	B1K0A2	B1K0N1	B1K0N2
	K1	B1K1A1	B1K1A2	B1K1N1	B1K1N2
Bakteri 2	K0	B2K0A1	B2K0A2	B2K0N1	B2K0N2
	K1	B2K1A1	B2K1A2	B2K1N1	B2K1N2
Tanpa Bakteri	K0	B0K0A1	B0K0A2	B0K0N1	B0K0N2
	K1	B0K1A1	B0K1A2	B0K1N1	B0K1N2

Keterangan:

- B0 : Tanpa Bakteri
- B1 : Bakteri Jenis 1
- B2 : Bakteri Jenis 2
- K0 : Tanpa Aluminium
- K1 : Konsentrasi Aluminium 1
- A : pH Asam
- N : pH Netral

Uji bio-proses aluminium dilakukan dalam reaktor erlenmeyer (Pyrex, Jerman) dengan volume 250 ml. Ukuran erlenmeyer dipilih dengan memperhitungkan kondisi reaktor yang mengalami proses *shaking* 150 rpm (Purwanti *et al.*, 2015) dengan volume total dalam reaktor adalah 100 ml. Volume inokulum awal adalah 2% atau sebesar 2 ml. Berdasarkan Tabel 3. 2 dapat diketahui banyaknya jumlah reaktor yang dibutuhkan selama uji bio-proses aluminium berlangsung yaitu sebanyak 24 reaktor. Analisis parameter yang dilakukan pada tahap uji bio-proses aluminium adalah:

a. Konsentrasi Aluminium

Konsentrasi aluminium dianalisis adalah sebanyak 6 kali. Analisis konsentrasi aluminium dilakukan setiap hari sekali selama waktu uji yaitu 5

hari untuk reaktor yang mengandung aluminium. Sedangkan untuk reaktor tanpa aluminium, konsentrasi aluminium dianalisis sebanyak 2x yaitu pada awal dan akhir waktu uji. Analisis konsentrasi aluminium dilakukan dengan menggunakan metode ICP-OES (ThermoFisher, USA) di Laboratorium Energi, LPPM ITS.

b. pH

Parameter pH dianalisis adalah sebanyak 6 kali yaitu setiap hari sekali selama waktu uji yaitu 5 hari. Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pHmeter (Cyberscan 510, USA) di Laboratorium Pemulihan Air, Jurusan Teknik Lingkungan ITS.

c. Suhu

Parameter suhu dianalisis adalah sebanyak 6 kali yaitu setiap hari sekali selama waktu uji yaitu 5 hari. Pengukuran suhu dilakukan dengan menggunakan termometer (EC 10 PHonLab, USA) di Laboratorium Manajemen Kualitas Lingkungan, Jurusan Teknik Lingkungan ITS.

d. *Optical Density* (OD)

Parameter OD dianalisis adalah sebanyak 6 kali yaitu setiap hari sekali selama waktu uji yaitu 5 hari. Pengukuran *optical density* dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer (Genesys 20, USA) di Laboratorium Sanitasi Lingkungan dan Fitoteknologi, Jurusan Teknik Lingkungan ITS.

e. Jumlah Koloni Bakteri

Analisis jumlah bakteri dilakukan untuk menentukan jumlah mikroba yang hidup saja. Analisis jumlah bakteri ini dilakukan pada awal, tengah dan akhir uji bio-proses aluminium. Dasar pehitungannya dengan mengencerkan suspensi dengan rentang pengenceran tertentu secara bertingkat sesuai metode *Colony Forming Unit* (CFU). Metode hitungan didasarkan pada setiap sel yang dapat hidup dan dikembangbiakan menjadi satu koloni. Sehingga jumlah koloni yang muncul mengandung indeks jumlah organisme hidup yang terkandung dalam sampel. Analisis jumlah koloni bakteri dilakukan untuk memastikan hasil pengukuran OD.

f. Berat Kering Bakteri

Pengukuran berat kering bakteri dilakukan untuk mengetahui jumlah adsorben dalam reaktor. Pengukuran berat kering mengacu pada Wang (2011). Sebanyak 10 ml sampel diambil dan kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring 0,2 mikron (Wattman, USA) yang telah dikeringkan dalam oven 105°C selama 24 jam dan telah diketahui beratnya. Residu dan kertas saring kemudian dikeringkan dalam oven 105°C selama 24 jam. Berat kering merupakan selisih residu kering+kertas saring dikurangi dengan berat kertas saring kosong.

3.10 Kinetika Reduksi Aluminium oleh Bakteri

Kinetika reaksi dibuat untuk mengetahui kecenderungan reduksi aluminium oleh dua jenis bakteri uji dalam kondisi asam dan netral. Kinetik dibuat dengan cara melakukan linearisasi persamaan kinetika pseudo orde satu dan pseudo orde dua (Persamaan 12 dan Persamaan 13). Hasil plot antara sumbu x dan y untuk masing-masing model kemudian dianalisis nilai R^2 -nya untuk mengetahui kecocokan hasil terhadap model (nilai R^2 mendekati satu). Perhitungan nilai k_1 (untuk model pseudo orde satu) dan k_2 (untuk pseudo orde dua) dihitung berdasarkan persamaan yang terbentuk dalam model. Nilai k_1 dan k_2 merepresentasikan laju reduksi aluminium oleh bakteri. Dua nilai k pada kondisi yang sama dapat dibandingkan untuk melihat kondisi mana yang lebih baik dalam proses reduksi aluminium (nilai k lebih besar).

3.11 Uji Statistik ANOVA

Analysis of variance atau ANOVA adalah metode statistika yang tergolong analisis komparatif lebih dari dua rata – rata. Penelitian ini menggunakan *General Linear Model* (GLM) ANOVA sebagai metode analisis hasil. Perhitungan GLM ANOVA dilakukan dengan menggunakan aplikasi MiniTab v16. Analisis dengan menggunakan ANOVA bertujuan untuk mengetahui signifikansi (pengaruh) faktor terhadap respon. Penggunaan ANOVA juga bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya interaksi antar faktor yang digunakan serta pengaruh perlakuan masing-masing unit eksperimen terhadap respon.

Pada penelitian ini, digunakan GLM ANOVA pada tahap pemilihan 2 jenis bakteri unggul, pH serta konsentrasi aluminium untuk tahap utama. Pemilihan jenis

bakteri unggul, pH dan konsentrasi aluminium dilakukan dengan uji signifikansi terhadap hasil untuk mendapatkan urutan kemampuan bakteri dalam mentoleransi asam dan juga pencemar aluminium pada media. GLM ANOVA dipilih karena adanya ketidakseimbangan n (jumlah sampel) untuk tiap faktor. Dengan menggunakan GLM ANOVA, urutan dan signifikansi hasil dapat dihasilkan dengan menggunakan data yang tidak seimbang jumlah sampelnya.

Untuk tahap uji bio-proses, dilakukan analisis statistik dengan 2 faktor yaitu jenis bakteri dan pH. Konsentrasi awal aluminium digunakan sebagai kelompok (blok) pada GLM ANOVA. Uji lanjut dilakukan dengan metode Tukey ketika didapati salah satu faktor memiliki pengaruh signifikan terhadap respon. Uji lanjut dilakukan untuk mengetahui level manakah dari faktor yang digunakan yang paling berpengaruh terhadap respon.

3.12 Hasil dan Pembahasan

Pada sub-bab ini, seluruh hasil penelitian ditampilkan dalam bentuk grafik dan tabel. Grafik dan tabel yang dimaksud adalah penggambaran hubungan antara jenis bakteri, pH dan persentase penyisihan aluminium untuk setiap perlakuan. Pada sub-bab ini juga dituliskan seluruh hasil penelitian secara deskriptif untuk menjelaskan gambar dan tabel yang ditampilkan. Analisis hasil dan pembahasan yang dituliskan meliputi beberapa hal berikut:

1. Uji toksisitas aluminium terhadap bakteri uji
2. Pengaruh jenis bakteri terhadap penyisihan aluminium
3. Pengaruh pH terhadap proses penyisihan aluminium
4. Interaksi dan korelasi antar variabel penelitian
5. Hubungan antar parameter dalam penelitian
6. Kinetika reaksi bio-proses aluminium oleh isolat bakteri
7. Uji signifikansi dengan *Analysis of Variance* (ANOVA)

3.13 Penarikan Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan disusun berdasarkan hasil analisis data penelitian serta pembahasan didukung dengan analisis statistic yang digunakan. Kesimpulan menjawab rumusan masalah dan sebanding dengan hasil yang didapatkan dalam

penelitian. Kesimpulan merupakan poin-poin yang dapat dibuat secara lugas dan ringkas dari pembahasan yang dibuat. Kesimpulan yang ditampilkan memberikan gambaran tentang jenis bakteri dan pH yang paling optimum untuk mereduksi aluminium pada kadar tertentu. Kesimpulan juga menunjukkan kinetika reaksi proses reduksi aluminium oleh isolat bakteri uji.

Saran disusun berdasarkan analisis data hasil penelitian. Saran berisi masukan terhadap penelitian terkait yang dilakukan setelah ini. Saran disusun dalam bentuk poin-poin singkat. Saran berisi rekomendasi terhadap penelitian terkait untuk meminimalisasi kesalahan dan untuk meningkatkan efisiensi penelitian.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Peremajaan Isolat Bakteri

Peremajaan isolat bakteri dilakukan untuk menjaga indukan bakteri dari kontaminasi. Peremajaan isolat bakteri juga dilakukan untuk menumbuhkan bakteri baru yang berumur 24 jam, sebelum digunakan dalam rangkaian penelitian. Sebanyak 6 isolat bakteri dengan kode S5, S6, W1, W2, W4 dan W6 kemudian diremajakan secara berkala. Hasil peremajaan isolat bakteri dapat dilihat pada Gambar 4. 1.



Gambar 4. 1 Enam Isolat Bakteri Indigenous Potensial

4.2 Karakterisasi Bakteri dan Uji Biokimia

Karakterisasi bakteri dilakukan terhadap 6 isolat bakteri potensial dengan menggunakan analisis morfologi bakteri baik secara makroskopis maupun mikroskopis yang mengacu pada Breakwell *et al.* (2007). Berdasarkan hasil karakterisasi, didapatkan 5 isolat bakteri gram negatif dan 1 isolat bakteri gram positif. Hasil analisis bentuk bakteri menunjukkan bahwa seluruh bakteri uji berbentuk rod. Hasil karakterisasi bakteri ditampilkan dalam Tabel 4. 1.

Tabel 4. 1 Morfologi Bakteri

Kode	Bentuk Sel	Bentuk Koloni	Gram	Elevasi	Tampilan	Sifat Optik	Pigmen	Teksture
S5	Rod	Tidak Beraturan	-	Convex	Kusam	Opaque	Putih	Lembut
S6	Rod	Tidak Beraturan	-	Convex	Kusam	Opaque	Hijau	Lembut
W1	Rod	Circular	+	Datar	Kusam	Opaque	Kekuningan	Lembut
W2	Rod	Circular	-	Raised	Kusam	Opaque	Putih	Lembut
W4	Rod	Tidak Beraturan	-	Convex	Berkilau	Opaque	Hijau	Lembut
W5	Rod	Tidak Beraturan	-	Convex	Berkilau	Opaque	Hijau	Lembut

Hasil karakterisasi bakteri kemudian digunakan sebagai acuan dalam uji spesies bakteri menggunakan metode biokimia. Bagian terpenting dari hasil karakterisasi bakteri adalah gram karena digunakan dalam menentukan pembacaan lanjutan dari hasil uji biokimia. Hasil uji biokimia dan spesies bakteri dapat dilihat pada Tabel 4. 2.

Tabel 4. 2 Uji Biokimia dan Spesies Bakteri

No	Parameter	Hasil Uji					
		S5	S6	W1	W2	W4	W5
1	Oxidase	+	+	+	+	+	+
2	Motility	+	+	-	-	+	+
3	Nitrate	+	+	+	-	+	+
4	Lysine	-	+	-	-	+	+
5	Ornithine	-	+	-	-	-	+
6	H2S	-	-	-	-	-	-
7	Glucose	-	+	+	-	+	+
8	Mannitol	-	+	+	-	+	+
9	Xylose	-	-	+	-	-	-
10	ONPG	-	-	+	+	-	-
11	Indole	-	-	-	-	-	-
12	Urease	-	+	-	-	+	+
13	VP	+	-	+	+	-	-
14	Citrate	-	+	+	-	+	+
15	TDA	-	-	+	-	-	-
16	Gelatin	-	+	-	-	+	+
17	Malonate	-	+	+	-	+	+
18	Inositol	-	-	-	-	-	-
19	Sorbitol	-	-	+	-	-	-
20	Rhamnose	-	-	-	-	-	-
21	Sucrose	-	-	+	-	-	-
22	Lactose	-	-	-	-	-	-
23	Arabinose	-	-	+	-	-	-
24	Adonitol	-	-	+	-	-	-
25	Raffinose	-	-	+	-	-	-
26	Salicin	-	-	+	-	-	-
27	Arginine	-	+	-	-	+	+
		91,31%	88,8%	81,82%	100%	88,8%	91,31%
28	Spesies	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	<i>Moraxella urethralis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Berdasarkan hasil uji biokimia, didapatkan 3 jenis bakteri dengan spesies yang sama yaitu *Pseudomonas aeruginosa* untuk kode S6, W4 dan W5. Jenis bakteri yang sama akan memberikan respon yang cenderung sama dalam pengujian. Dengan pertimbangan potensi resistensi tertinggi terhadap aluminium, digunakan

bakteri kode W5 sebagai spesies *Pseudomonas aeruginosa* dalam melaksanakan penelitian lanjutan.

Salah satu jenis bakteri dengan kode W2 teridentifikasi sebagai jenis bakteri pathogen tingkat berbahaya yaitu *Moraxella urethralis*. Jenis bakteri ini bersifat pathogen terhadap manusia dan dapat menyebabkan timbulnya gangguan saluran pembuangan air seni (Graham *et al.*, 1990). Dikarenakan penelitian ini tidak didasari dengan uji etis penggunaan jenis bakteri berbahaya, maka bakteri kode W2 (*Moraxella urethralis*) dikeluarkan dari rangkaian penelitian.

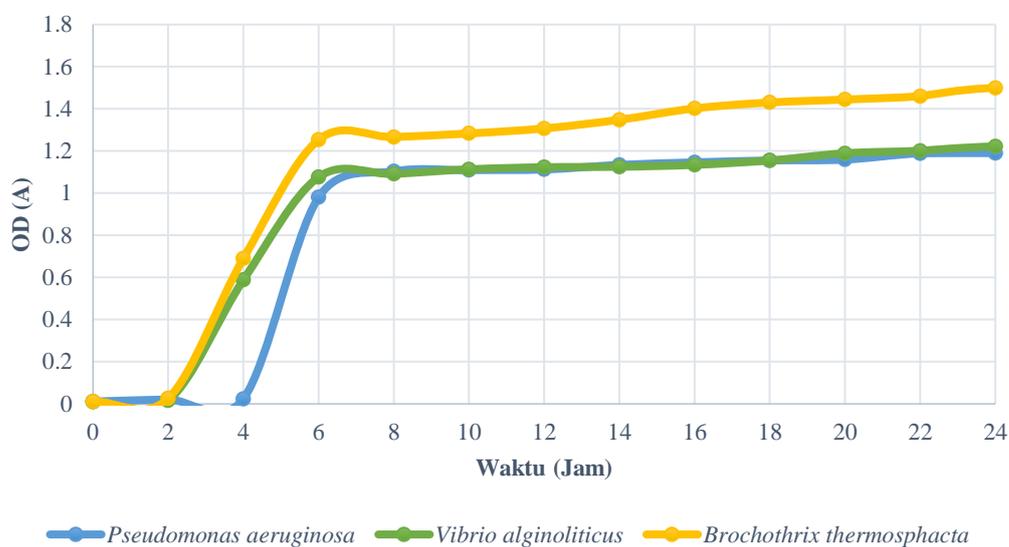
Tiga jenis bakteri yang dianalisis lebih lanjut adalah *Vibrio alginolyticus*, *Brochothrix thermosphacta* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Vibrio alginolyticus* adalah salah satu jenis bakteri perairan yang dapat diisolasi dari wilayah tercemar (Noguchi *et al.*, 1987). *Brochothrix thermosphacta* adalah jenis bakteri yang banyak didapatkan di wilayah perkebunan, pertanian dan peternakan. Bakteri ini tergolong jenis superior karena sifatnya yang mampu beradaptasi (Kilcher *et al.*, 2010). *Pseudomonas aeruginosa* merupakan jenis bakteri umum yang dapat diisolasi dari perairan (Hoiby *et al.*, 2010). Bakteri ini juga diketahui mampu melakukan biosorpsi dan bioakumulasi aluminium pada selnya (Tuzen dan Soylak, 2008).

4.3 Uji Laju Pertumbuhan Bakteri

Uji laju pertumbuhan bakteri dilakukan untuk mengetahui waktu pertumbuhan eksponensial dari masing-masing spesies bakteri uji. Waktu eksponensial ini digunakan sebagai acuan dalam proses pembuatan inokulum bakteri dengan OD tertentu pada rangkaian penelitian selanjutnya. Hasil uji laju pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada Gambar 4. 2.

Berdasarkan Gambar 4. 2, dapat dilihat bahwa ketiga bakteri uji memiliki waktu eksponensial yang sama yaitu 6 jam. Beberapa penelitian terkait memiliki hasil yang bervariasi untuk waktu eksponensial dari bakteri uji. Ketiga bakteri uji merupakan jenis bakteri yang memiliki waktu pertumbuhan eksponensial antara 4 hingga 8 jam (Ulitzur, 1974; Gordon *et al.*, 1992; Shigeta *et al.*, 1997; Leroi *et al.*, 2012). Setengah dari waktu eksponensial bakteri uji nantinya digunakan untuk

shaking awal dalam pembuatan inokulum bakteri yang diinokulasikan ke dalam reaktor.



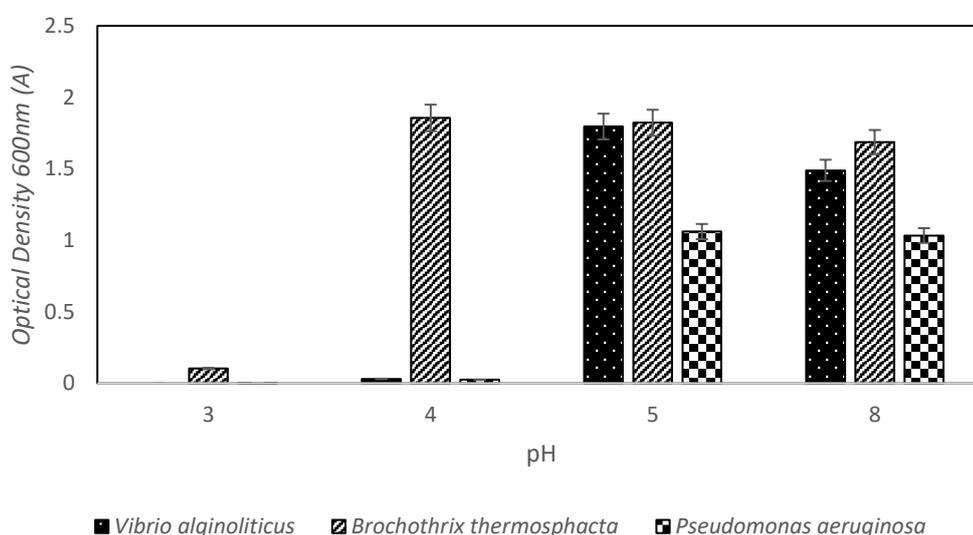
Gambar 4. 2 Laju Pertumbuhan Bakteri

4.4 Uji Ketahanan Bakteri Terhadap Asam

Uji ketahanan bakteri terhadap asam dilakukan untuk mengetahui potensi tumbuh masing-masing bakteri dalam suasana asam. Tahap ini dilakukan untuk mendapatkan pH terendah di mana bakteri masih dapat tumbuh optimum. Tahapan ini merujuk pada hasil penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa penyisihan aluminium dapat berlangsung optimum dalam suasana asam (Chuan, 1997; Ozdemyr dan Baysal, 2004; Cayllahua dan Torem, 2010; Ferreira *et al.*, 2012; Auger *et al.*, 2013; Chau *et al.*, 2014). Hasil uji ketahanan bakteri terhadap suasana asam dapat dilihat pada Gambar 4. 3.

Ciric *et al.* (2010) menyatakan bahwa bakteri tahan asam dicirikan dengan pertumbuhannya dalam medium asam dengan nilai $OD_{600} \geq 0,2$. $OD_{600} \geq 0,2$ menunjukkan bahwa metabolisme bakteri tidak terhambat oleh kondisi asam. Semakin tinggi OD yang diperoleh pada pH rendah, semakin banyak bakteri yang dapat bertahan dalam suasana asam. Berdasarkan Gambar 4. 3, semua bakteri menunjukkan pertumbuhan visual yang sangat minimal pada pH 3, hal ini

menunjukkan adanya penghambatan pH 3 terhadap metabolisme semua bakteri. OD tertinggi pada pH 4 dicapai oleh *Brochothrix thermosphacta* dengan 1,856 A. Hasil yang diperoleh untuk *Brochothrix thermosphacta* sesuai dengan Leroi *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa bakteri ini bisa tumbuh hingga pH 4,8. *Vibrio alginolyticus* dan *Pseudomonas aeruginosa* hanya bisa bertahan hingga pH 5. Farid dan Larsen (1981) serta Klein *et al.* (2009) menyatakan bahwa *Vibrio alginolyticus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dapat bertahan sampai pH 5. Berdasarkan hasil ini, *Brochothrix thermosphacta* menunjukkan ketahanan yang paling baik dalam suasana asam.



Gambar 4. 3 Pertumbuhan Bakteri pada Berbagai pH dalam 72 Jam

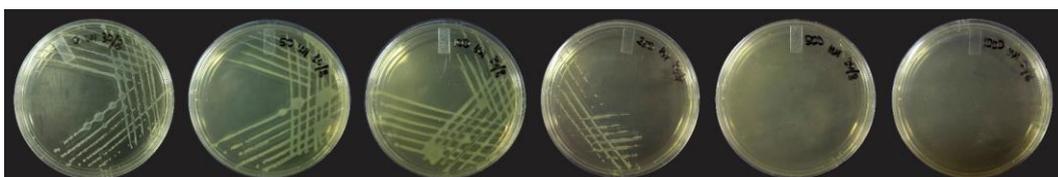
4.5 Uji Minimum Inhibitory Concentration

Uji Minimum Inhibitory Concentration (MIC) dilakukan untuk mengetahui konsentrasi maksimum di mana ketiga bakteri uji tidak dapat melakukan metabolisme sama sekali. MIC ditampilkan dalam bentuk grafik persentase pertumbuhan bakteri pada media padat (NA) terkontaminasi aluminium dalam berbagai konsentrasi. Pertumbuhan bakteri pada media terkontaminasi aluminium kemudian dibandingkan dengan media kontrol (Pertumbuhan pada media kontrol = 100%). Tahap ini terdiri dari 2 bagian yaitu *Range Finding Test* (RFT) dan

Definitive Test (DT). Hasil uji RFT ditampilkan pada Gambar 4. 4 hingga Gambar 4. 6 dan data disajikan dalam Tabel 4. 3.



Gambar 4. 4 Hasil RFT MIC untuk *Vibrio alginolyticus*



Gambar 4. 5 Hasil RFT MIC untuk *Brochothrix thermosphacta*



Gambar 4. 6 Hasil RFT MIC untuk *Pseudomonas aeruginosa*

Tabel 4. 3 Persentase Luas Pertumbuhan Bakteri (RFT MIC) terhadap Kontrol

Konsentrasi Aluminium (mg/L)	Persentase Luas Pertumbuhan Bakteri (%)		
	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
0 (Kontrol)	100	100	100
50	100	106	79
100	128	84	61
250	111	45	0
500	0	0	0
1000	0	0	0

Berdasarkan Tabel 4. 3, *Vibrio alginolyticus* menunjukkan resistensi tertinggi terhadap adanya kontaminasi aluminium pada media padat, diikuti oleh *Brochothrix thermosphacta* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Vibrio alginolyticus* menunjukkan lebih dari 100% pertumbuhan visual hingga konsentrasi 250 mg/L aluminium. Resistensi terendah ditunjukkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* yaitu

0% pertumbuhan visual pada konsentrasi 250 mg/L aluminium. Pertumbuhan bakteri dibanding dengan kontrol dapat melebihi 100% karena adanya perbedaan penggoresan pada masing-masing cawan. Hal ini juga dapat disebabkan oleh adanya reaksi enzimatik kompleks terkait pemanfaatan zat yang ada pada media (Maier, 2008). Pengamatan 24 jam dipilih sebagai hasil untuk MIC dikarenakan adanya pertumbuhan tidak signifikan pada waktu pengujian 48 maupun 72jam.

Berdasarkan hasil yang didapat dari uji RFT, dilakukan analisis lanjut untuk mengetahui konsentrasi yang lebih detail yang menyebabkan kematian 100% bakteri uji. Analisis lanjut dilakukan dengan menggunakan uji definitif (DT) pada rentang konsentrasi 250 – 500 mg/L untuk *Vibrio alginolyticus* dan *Brochothrix thermosphacta*, dan 100 – 250 mg/L untuk *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil uji definitif (DT) dapat dilihat pada Gambar 4. 7 hingga Gambar 4. 9, data rekapitulasi uji definitif ditampilkan pada Tabel 4. 4.



Gambar 4. 7 Hasil DT MIC untuk *Vibrio alginolyticus*



Gambar 4. 8 Hasil DT MIC untuk *Brochothrix thermosphacta*



Gambar 4. 9 Hasil DT MIC untuk *Pseudomonas aeruginosa*

Nilai MIC untuk ketiga jenis bakteri adalah nilai terendah di mana pertumbuhan bakteri terhambat 100% (Tidak ada pertumbuhan visual) jika dibandingkan dengan kontrol (95% selang kepercayaan). Berdasarkan hasil uji

definitif pada Tabel 4. 4, Nilai MIC aluminium untuk *Vibrio alginolyticus* adalah 425mg/L, *Brochothrix thermosphacta* adalah 325 mg/L dan *Pseudomonas aeruginosa* adalah 200 mg/L.

Tabel 4. 4 Persentase Luas Pertumbuhan Bakteri (DT MIC) terhadap Kontrol

Konsentrasi Aluminium (mg/L)	Persentase Luas Pertumbuhan Bakteri (%)	Konsentrasi Aluminium (mg/L)	Persentase Luas Pertumbuhan Bakteri (%)	Konsentrasi Aluminium (mg/L)	Persentase Luas Pertumbuhan Bakteri (%)
<i>Vibrio alginolyticus</i>		<i>Brochothrix thermosphacta</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
300	79	300	20	125	46
350	64	325	0	150	31
400	43	350	0	175	18
425	0	400	0	200	0
450	0	450	0	225	0

4.6 Uji *Maximum Tolerable Concentration*

Uji *Maximum Tolerable Concentration* (MTC) digunakan untuk mengetahui batasan maksimum di mana metabolisme dari bakteri uji tidak mengalami gangguan sama sekali. Hasil uji MTC ditampilkan dalam bentuk persentase pertumbuhan (OD pada media cair) dibandingkan dengan kontrol (Pertumbuhan pada media kontrol = 100%). Tahap ini terdiri dari 2 bagian yaitu *Range Finding Test* (RFT) dan *Definitive Test* (DT). Hasil uji RFT ditampilkan pada Tabel 4. 5.

Berdasarkan Tabel 4. 5, *Vibrio alginolyticus* menunjukkan resistensi tertinggi pada media cair terkontaminasi aluminium, diikuti oleh *Brochothrix thermosphacta* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Vibrio alginolyticus* menunjukkan pertumbuhan lebih dari 100% hingga konsentrasi 250 mg/L aluminium. Untuk *Brochothrix thermosphacta* dan *Pseudomonas aeruginosa*, pertumbuhan terukur lebih dari 100% hingga konsentrasi 100 mg/L aluminium. Dari hasil ini, uji definitif dilakukan pada rentang konsentrasi di mana pertumbuhan masih menunjukkan nilai 100% atau lebih hingga turun menjadi kurang dari 100%. Analisis lanjut dilakukan dengan melakukan uji definitif (DT) pada rentang konsentrasi 250 – 500 mg/L

untuk *Vibrio alginolyticus*, rentang konsentrasi 100 – 250 mg/L untuk *Pseudomonas aeruginosa* dan *Brochothrix thermosphacta*. Hasil uji definitif (DT MTC) dapat dilihat pada Tabel 4. 6. Pemilihan waktu uji 24 jam didasarkan pada kecenderungan pertumbuhan bakteri pada media terkontaminasi aluminium. Nilai MTC diambil pada waktu tertentu dimana masih didapati pertumbuhan bakteri pada media terkontaminasi aluminium. Untuk waktu 48 dan 72 jam, telah didapati pengaruh aluminium terhadap pertumbuhan mikroorganismenya yang ditandai dengan stagnansi nilai OD sehingga waktu uji MTC diambil sebelum waktu stagnan.

Tabel 4. 5 Persentase Pertumbuhan Bakteri (RFT MTC) Terhadap Kontrol

Konsentrasi Aluminium (mg/L)	OD600nm (A)	Persentase Pertumbuhan Bakteri (%)	OD600nm (A)	Persentase Pertumbuhan Bakteri (%)	OD600nm (A)	Persentase Pertumbuhan Bakteri (%)
	<i>Vibrio alginolyticus</i>		<i>Brochothrix thermosphacta</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
0 (Kontrol)	1.222	100	1.499	100	1.190	100
50	1.195	98	1.572	105	1.193	100
100	1.321	108	1.721	115	1.265	106
250	1.664	136	0.873	58	0.808	68
500	0.919	75	0.099	7	0.002	0
1000	0.080	7	0.091	6	0.002	0

Tabel 4. 6 Persentase Pertumbuhan Bakteri (DT MTC) Terhadap Kontrol

Konsentrasi Aluminium (mg/L)	Persentase Pertumbuhan Bakteri (%)	Konsentrasi Aluminium (mg/L)	Persentase Pertumbuhan Bakteri (%)	Konsentrasi Aluminium (mg/L)	Persentase Pertumbuhan Bakteri (%)
<i>Vibrio alginolyticus</i>		<i>Brochothrix thermosphacta</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
275	138	125	108	125	110
300	97	150	96	150	98
325	95	175	77	175	84
350	86	200	39	200	57
400	79	225	8	225	0

Nilai MTC untuk ketiga jenis bakteri adalah nilai tertinggi di mana pertumbuhan bakteri bernilai 100% (Tidak ada penghambatan oleh aluminium) jika dibandingkan dengan kontrol (95% selang kepercayaan). Berdasarkan hasil uji

definitif pada Tabel 4. 6, nilai MTC aluminium untuk *Vibrio alginolyticus* adalah 325mg/L, untuk *Brochothrix thermosphacta* dan *Pseudomonas aeruginosa* adalah 150 mg/L.

4.7 Penentuan Jenis Bakteri Unggul

Penentuan jenis bakteri unggul didasarkan pada hasil uji ketahanan terhadap asam, uji MIC dan uji MTC. Pemilihan jenis bakteri unggul dilakukan dengan melakukan pengujian statistik GLM ANOVA dan pembuatan matriks serta korelasi antar urutan dengan metode korelasi Spearman. Hasil uji lanjut Tukey dan GLM ANOVA terkait hasil uji asam, MIC dan MTC dapat dilihat pada Lampiran 7.

Berdasarkan hasil uji GLM ANOVA, diketahui bahwa ketiga jenis bakteri memiliki grup yang sama. Hal ini menandakan tidak adanya signifikansi respons yang ditunjukkan antara 3 jenis bakteri. Dikarenakan ketiga bakteri berada pada grup yang sama dan kemudian dipilih 2 jenis bakteri unggul, maka analisis dilanjutkan pada pengujian nilai rata-rata respons. Nilai rata-rata respons menunjukkan hasil yang identik terhadap masing-masing jenis bakteri. Nilai rata-rata tertinggi ditunjukkan oleh bakteri 1 yaitu *Vibrio alginolyticus* diikuti oleh bakteri kode 2 (*Brochothrix thermosphacta*) dan bakteri kode 3 (*Pseudomonas aeruginosa*). Berdasarkan hasil tersebut, maka *Vibrio alginolyticus* dan *Brochothrix thermosphacta* dipilih sebagai bakteri uji pada tahap penelitian utama.

4.8 Penentuan Konsentrasi Aluminium, pH dan Persen Inokulum Bakteri untuk Penelitian Utama

Penentuan konsentrasi dan pH untuk penelitian utama didasarkan pada hasil uji lanjut Tukey pada GLM ANOVA yang ditampilkan pada Lampiran 7. Hasil uji komparasi Tukey menunjukkan grup yang sama untuk konsentrasi 0 hingga 100 mg/L aluminium. Untuk konsentrasi di atas 100 mg/L tergabung pada grup yang berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa kecenderungan pertumbuhan bakteri untuk konsentrasi 0 hingga 100 mg/L adalah sama. Dari hasil berikut, konsentrasi 100 mg/L dipilih sebagai konsentrasi pada tahap penelitian utama dengan acuan kecenderungan pertumbuhan yang sama terhadap kontrol.

Hasil uji lanjut Tukey pada GLM ANOVA juga digunakan sebagai acuan penentuan pH yang digunakan pada tahap penelitian utama. Grup yang sama didapatkan pada pH 5 dan 8 (Kontrol), sedangkan grup berbeda didapatkan pada pH 4 dan 3. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri pada pH 5 memiliki kesamaan dengan kontrol, sedangkan pertumbuhan pada pH 4 dan 3 memiliki kecenderungan pertumbuhan yang berbeda. Berdasarkan hasil tersebut, pH 5 dipilih sebagai variasi pH asam pada tahap penelitian utama dengan acuan kecenderungan pertumbuhan yang sama terhadap kontrol.

Tabel 4. 7 Hasil Uji Persen Inokulum Bakteri untuk *Vibrio alginolyticus*

Konsentrasi Aluminium	Persentase Bakteri (v/v)				
	0%	1%	2%	5%	10%
Awal	38,4	36,4	38,5	38,4	37,05
Akhir	38,5	27,22	17,56	36,2	36,4
Penyisihan	0%	25,22%	54,39%	5,73%	1,75%

Tabel 4. 8 Hasil Uji Persen Inokulum Bakteri untuk *Brochothrix thermosphacta*

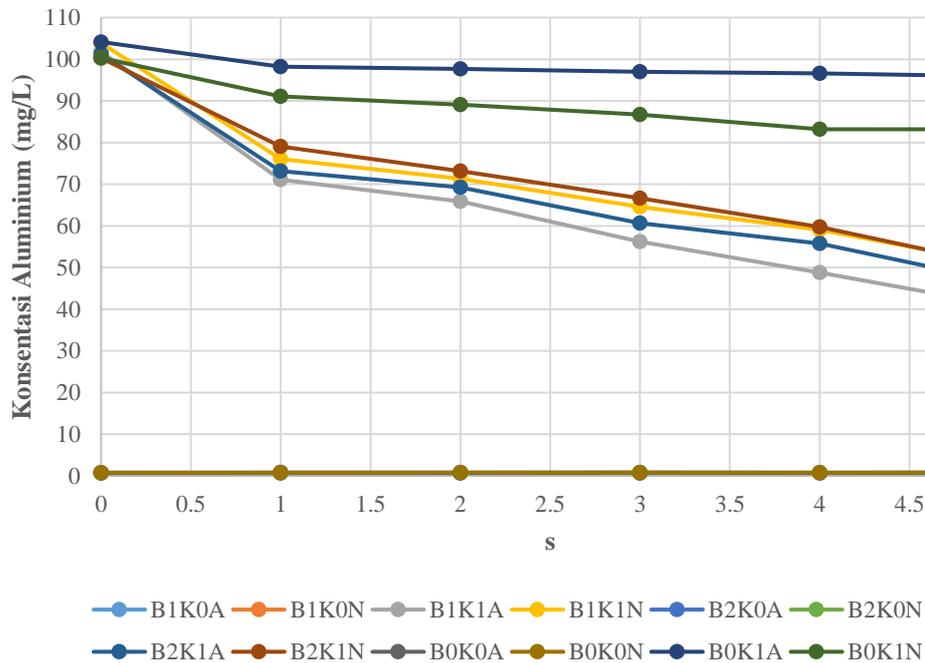
Konsentrasi Aluminium	Persentase Bakteri (v/v)				
	0%	1%	2%	5%	10%
Awal	38,4	36,6	38,0	38,2	37,4
Akhir	38,5	29,66	19,02	18,78	16,76
Penyisihan	0%	18,96%	49,95%	50,84%	55,19%

Penentuan persentase inokulum bakteri untuk penelitian utama dilakukan dengan melakukan pengujian beberapa % inokulum dalam mereduksi jumlah aluminium dalam media LB. Hasil dari uji persen inokulum dapat dilihat pada Tabel 4. 7 dan Tabel 4. 8. Berdasarkan Tabel 4. 7, dapat dilihat bahwa persen inokulum 2% menunjukkan penyisihan aluminium tertinggi dibandingkan dengan persen inokulum yang lain. Penurunan persentase penyisihan aluminium yang terjadi pada reaktor dengan persen inokulum 5% dan 10% disebabkan oleh adanya kompetisi pemanfaatan oksigen oleh mikroorganisme (Janani *et al.*, 2014; Ibrahim, 2016). Hal ini juga dapat disebabkan oleh kemampuan transfer zat antar bakteri, efek reaksi enzimatik antar bakteri serta penurunan kondisi lingkungan akibat akumulasi sel mati (Montville dan Schaffner, 2003).

Untuk *Brochothrix thermosphacta*, Tabel 4. 8 menunjukkan peningkatan removal seiring dengan peningkatan jumlah inokulum bakteri. Peningkatan signifikan di dapatkan pada penambahan jumlah inokulum dari 1% menjadi 2%. Untuk persen inokulum 5% dan 10%, hasil yang didapatkan tidak berbeda signifikan dengan hasil pada reaktor dengan persen inokulum 2%. Hal ini disebabkan oleh adanya pertumbuhan optimum yang berhubungan dengan jumlah substrat serta kapasitas transfer substrat antar bakteri dalam reaktor (Montville dan Schaffner, 2003).

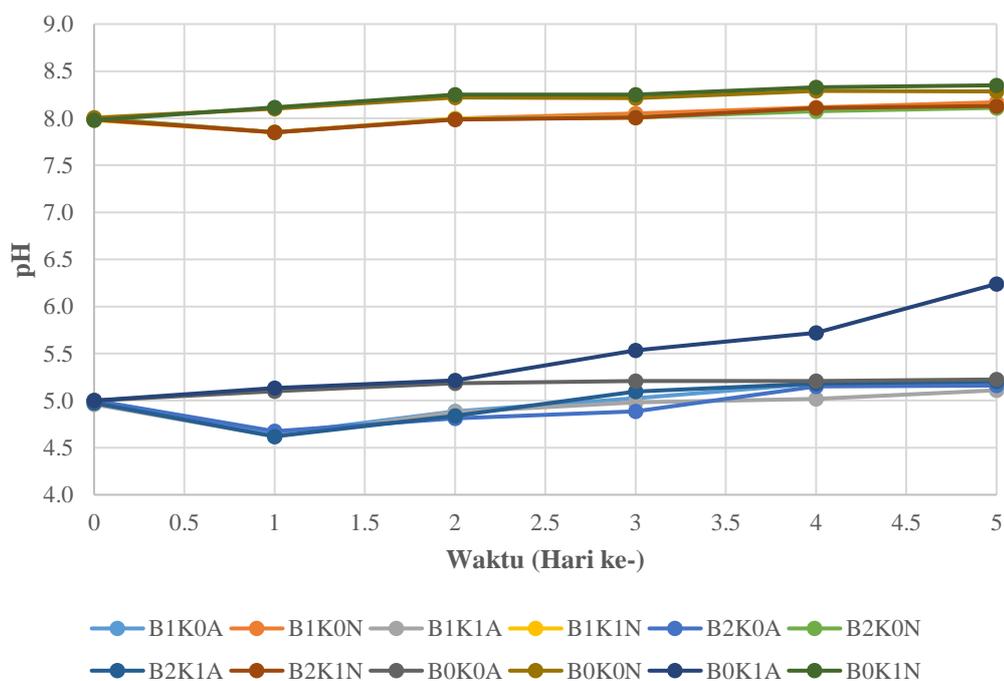
4.9 Bio-proses Aluminium Menggunakan Isolat Bakteri

Bio-proses aluminium merupakan tahapan utama dalam penelitian ini. Pada tahap ini, parameter utama yang menjadi fokus analisis adalah konsentrasi aluminium selama periode penelitian. Hasil pengukuran konsentrasi aluminium selama periode uji dapat dilihat pada Gambar 4. 10.



Gambar 4. 10 Konsentrasi Aluminium pada Masing-Masing Reaktor selama Uji Bio-proses

Berdasarkan Gambar 4. 10, dapat dilihat bahwa penurunan aluminium tertinggi didapatkan pada reaktor dengan kode B1K1A yang merupakan reaktor dengan bakteri *V. alginolyticus* pada kondisi pH asam. Penurunan aluminium tertinggi kedua ditunjukkan oleh reaktor dengan kode B2K1A yang merupakan reaktor dengan bakteri *B. thermosphacta* pada kondisi pH asam. Kondisi ini sejalan dengan ECCC (1999) yang menyatakan bahwa kelarutan aluminium cenderung lebih tinggi pada pH asam sehingga bioavailibilitasnya juga bertambah. Kondisi ini sesuai pula dengan Ferreira *et al.* (2012), Auger *et al.* (2013) dan Chau *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa reduksi aluminium optimum berada pada pH asam dengan kisaran pH 5. Rekapitulasi konsentrasi aluminium beserta penyisihan selama periode uji bio-proses dapat dilihat pada Lampiran 1.

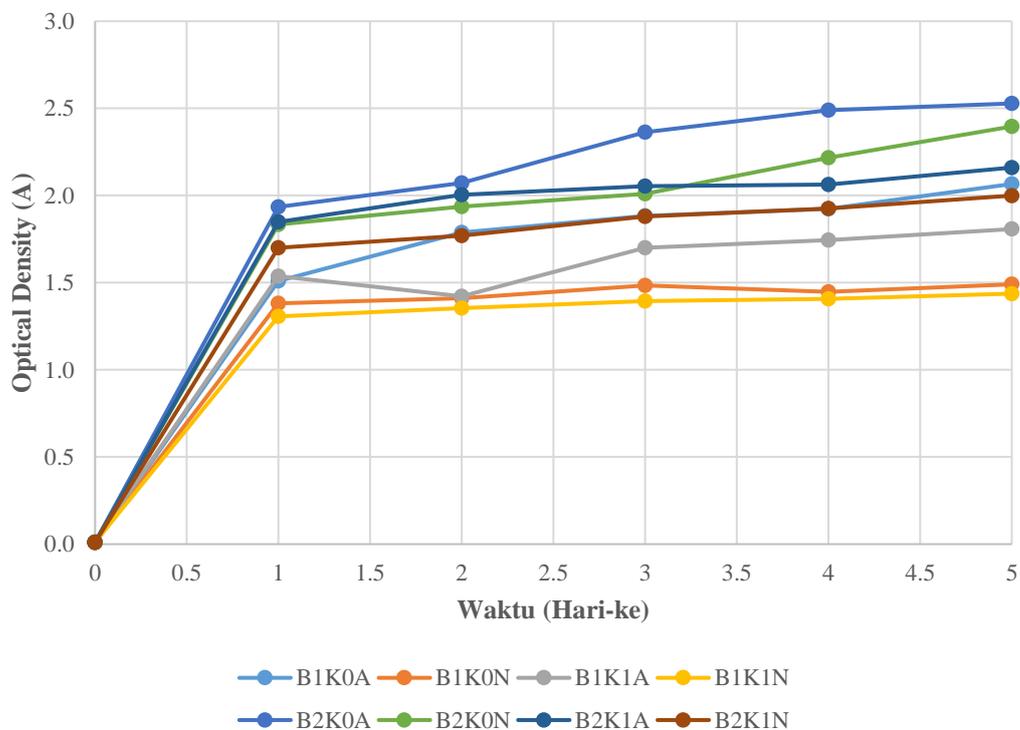


Gambar 4. 11 pH pada Masing-Masing Reaktor selama Uji Bio-proses

Merujuk pada Gambar 4. 10, dapat dilihat bahwa kedua reaktor kontrol tanpa bakteri dengan kandungan aluminium mengalami penurunan konsentrasi di selama waktu uji. Hal ini dipengaruhi oleh perubahan pH pada reaktor yang dapat dilihat pada Gambar 4. 11. Pada Gambar 4. 11, dapat dilihat bahwa setiap reaktor cenderung mengalami kenaikan pH selama waktu uji. Kenaikan tertinggi ditunjukkan oleh reaktor kontrol B0K1A. Kenaikan pH pada reaktor menimbulkan

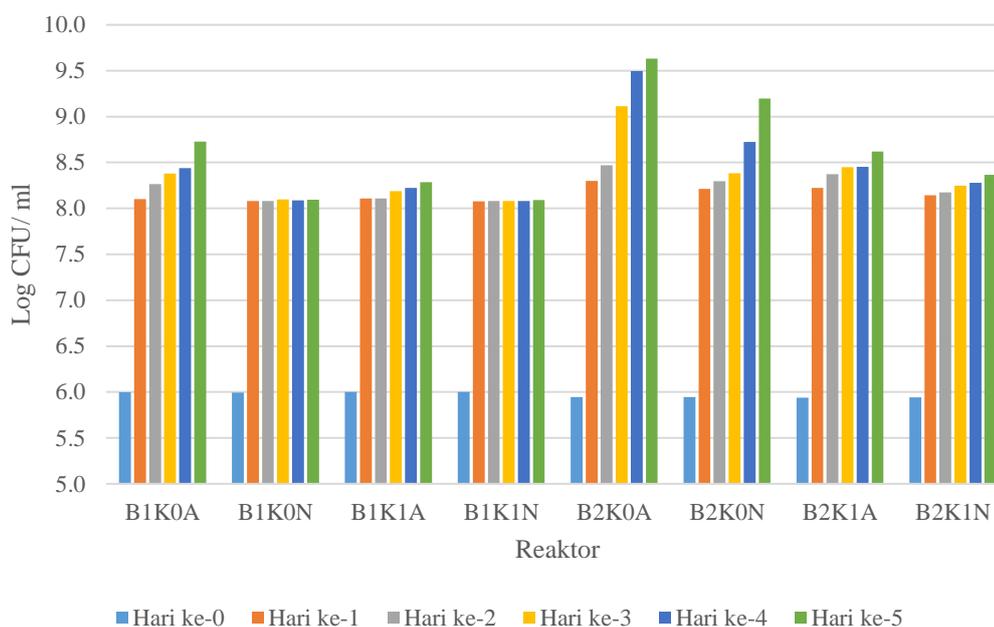
adanya presipitasi aluminium dalam reaktor yang disebabkan oleh gangguan pH terhadap stabilitas aluminium (ECCC, 1999). Kondisi inilah yang menyebabkan adanya removal pada kedua reaktor kontrol. Dapat dimungkinkan bahwa penyisihan aluminium pada reaktor dengan bakteri merupakan gabungan antara reduksi biologis dan juga fisik-kimia.

Semua reaktor yang mengandung bakteri mengalami penurunan pH pada akhir hari pertama pengujian, hal ini disebabkan karena adanya degradasi zat organik (media tumbuh). Degradasi zat organik ini menimbulkan adanya asam-asam sederhana yang menyebabkan penurunan pH (Yan dan Qi, 2014). Untuk hari berikutnya, pH cenderung naik karena adanya ikatan antara senyawa organik dan aluminium yang membentuk senyawa yang bersifat basa (Witt dan Roesky, 2000). Kondisi ini juga dapat disebabkan oleh adanya penumpukan sel mati dari bakteri yang menandakan bahwa pertumbuhan bakteri telah mendekati fase stasioner (Gaudy dan Gaudy, 1980).



Gambar 4. 12 *Optical Density* pada Masing-Masing Reaktor selama Uji Bio-proses

Degradasi senyawa organik tertinggi terjadi pada hari pertama yang ditunjukkan oleh adanya penurunan pH. Penurunan pH diiringi dengan adanya pertumbuhan bakteri yang menunjukkan adanya pemanfaatan media tumbuh oleh bakteri. Hasil pengukuran *optical density* sebagai representasi jumlah bakteri dapat dilihat pada Gambar 4. 12. Untuk memvalidasi hasil pengukuran OD sebagai bakteri hidup, analisis CFU dilakukan untuk mengkalkulasi jumlah koloni yang terbentuk dalam reaktor. Hasil pengukuran CFU dapat dilihat pada Gambar 4. 13.



Gambar 4. 13 CFU pada Masing-Masing Reaktor selama Uji Bio-proses

Merujuk pada Gambar 4. 12 dan Gambar 4. 13, dapat dilihat bahwa pertumbuhan bakteri tertinggi didapatkan pada reaktor kode B2K0A yang merupakan reaktor dengan bakteri *B. thermosphacta* pada pH asam. Keseluruhan reaktor yang mengandung bakteri *B. thermosphacta* cenderung memiliki pertumbuhan yang lebih tinggi. Sama halnya dengan reaktor dengan pH asam yang memiliki pertumbuhan lebih tinggi jika dibandingkan dengan pH netral.

Suhu terukur untuk semua reaktor fluktuatif, namun tetap berada dalam rentang pertumbuhan optimum untuk kedua bakteri. Suhu terukur untuk semua reaktor berkisar antara 28°C hingga 30,5°C. Suhu ini tidak memiliki korelasi yang signifikan terhadap penyisihan aluminium sehingga hanya digunakan sebagai

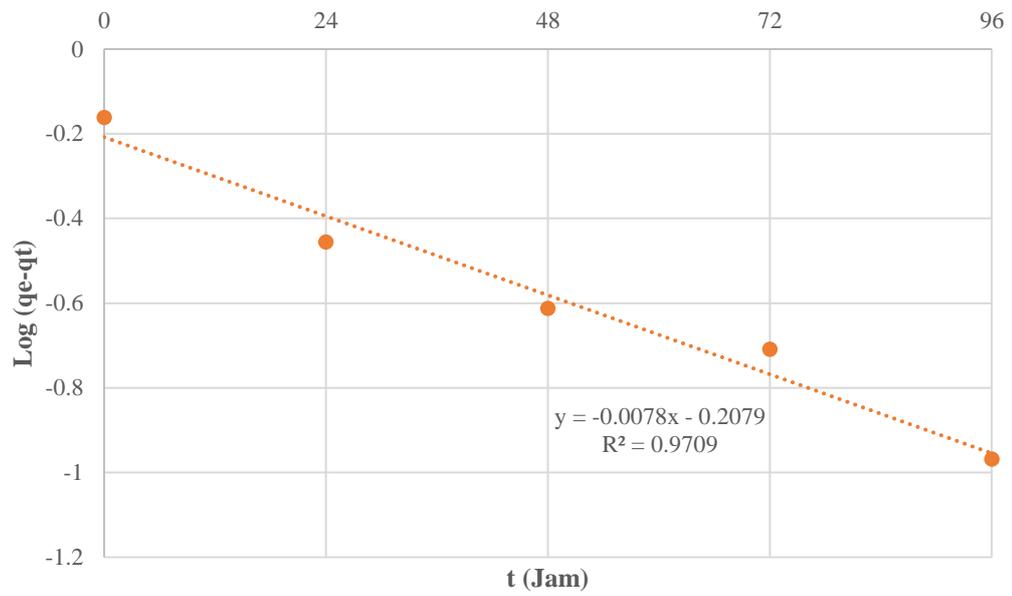
penentu rentang pertumbuhan bakteri dalam reaktor. Data lengkap untuk hasil pengukuran pH, OD, CFU dan berat bakteri dapat dilihat pada Lampiran 2 hingga Lampiran 5.

Tidak terhadap hubungan yang berbanding lurus antara jumlah bakteri dalam reaktor dengan penyisihan aluminium. Pada reaktor kondisi asam, bakteri *V. alginolyticus* memiliki penyisihan yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan *B. thermosphacta*. Sedangkan pada kondisi pH netral, tidak didapati adanya perbedaan penyisihan signifikan antara kedua bakteri. Pada kondisi pH asam, bakteri *V. alginolyticus* menunjukkan kapasitas adsorpsi yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan *B. thermosphacta*. Hal ini dibuktikan dengan adanya penyisihan aluminium yang lebih tinggi pada *V. alginolyticus* dengan pertumbuhan bakteri yang lebih rendah dibanding *B. thermosphacta*. Hubungan yang tidak berbanding lurus antara kedua bakteri dengan penyisihan aluminium dapat dikorelasikan dengan kinetika reduksi aluminium yang dibahas lebih lanjut pada Subbab 4.10.

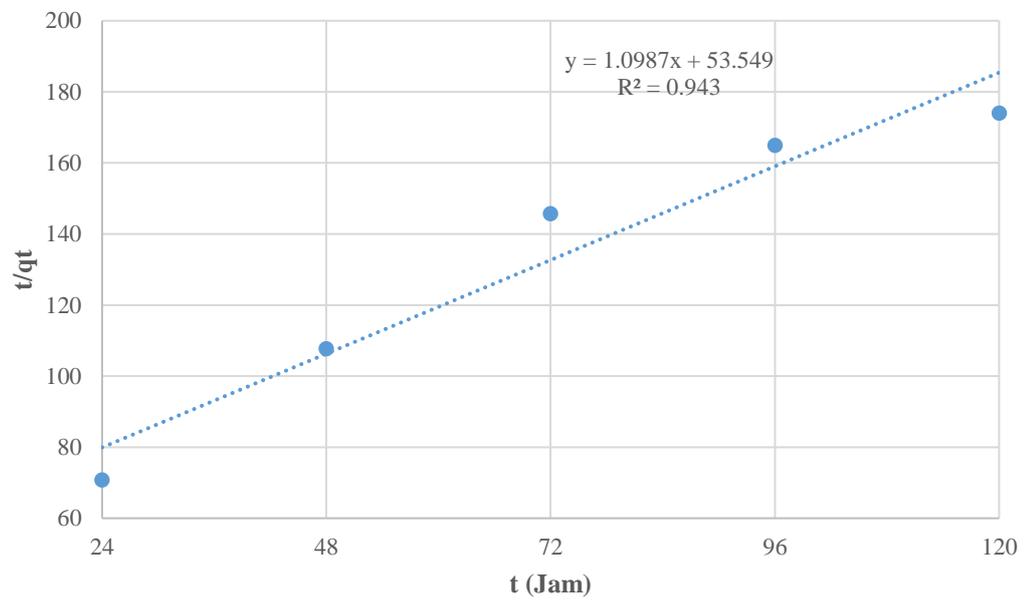
4.10 Kinetika Reduksi Aluminium oleh Bakteri

Kinetika reduksi aluminium dibuat berdasarkan data pada reaktor yang memiliki kandungan aluminium dan bakteri uji yaitu B1K1A, B1K1N, B2K1A dan B2K1N. Model reduksi dibuat untuk mengetahui pola reduksi aluminium oleh bakteri serta laju reaksi per perlakuan. Kinetika reduksi dibuat dalam dua model yaitu pseudo orde satu dan pseudo orde dua. Kinetika reduksi aluminium oleh bakteri dapat dilihat pada 4. 14 hingga 4. 21. Rekapitulasi perhitungan k_1 dan k_2 dapat dilihat pada Tabel 4. 9. Perhitungan lengkap untuk kinetika reaksi ditampilkan pada Lampiran 6.

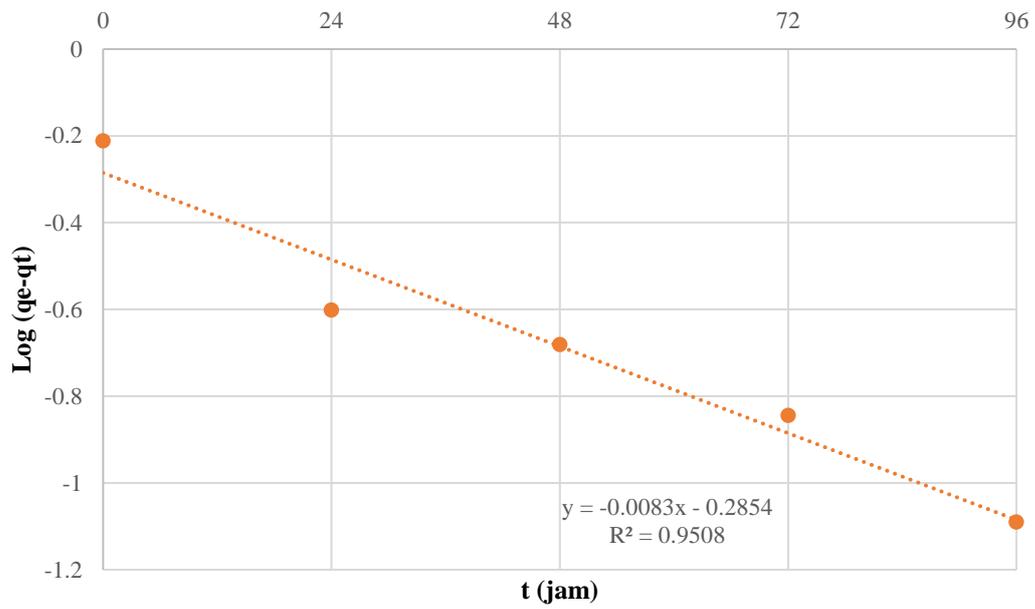
Berdasarkan nilai R^2 -nya, dapat diketahui bahwa B1K1A lebih cocok dengan pseudo orde satu, B1K1N dengan pseudo orde dua, B2K1A dengan pseudo orde dua dan B2K1N dengan psudo orde dua. Untuk B1K1N, tidak didapatkan perbedaan R^2 yang signifikan baik untuk model pseudo orde satu maupun pseudo orde dua yang menunjukkan adanya kecocokan B1K1N terhadap kedua model tersebut.



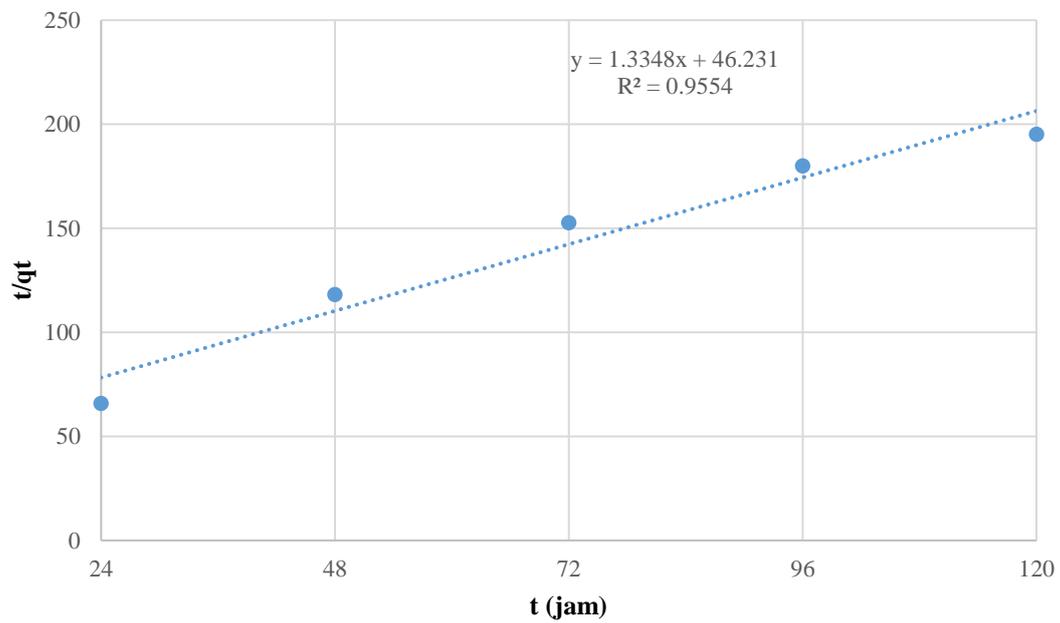
Gambar 4. 14 Pseudo Orde Satu B1K1A



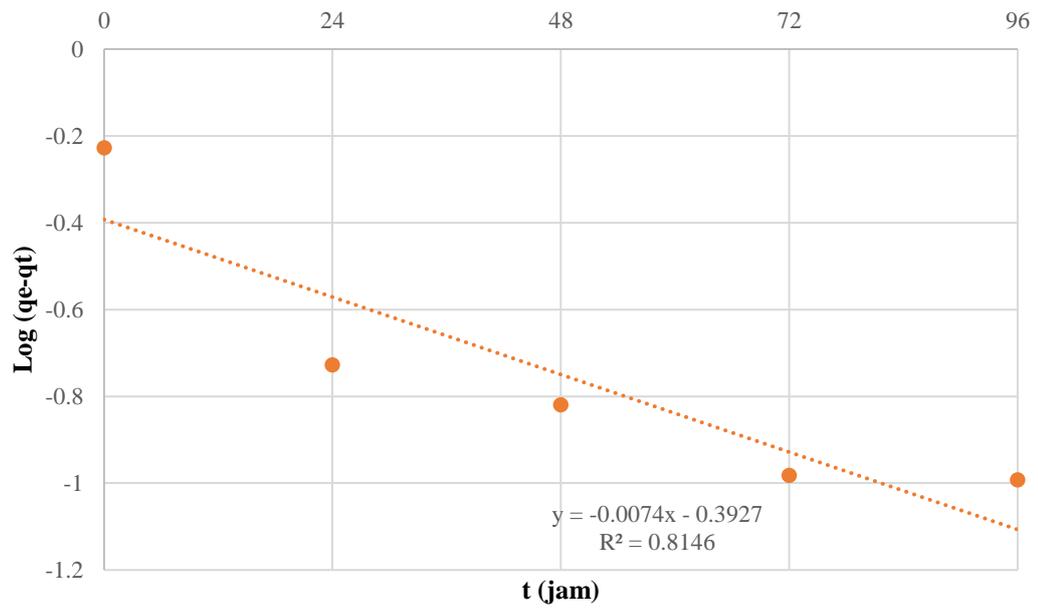
Gambar 4. 15 Pseudo Orde Dua B1K1A



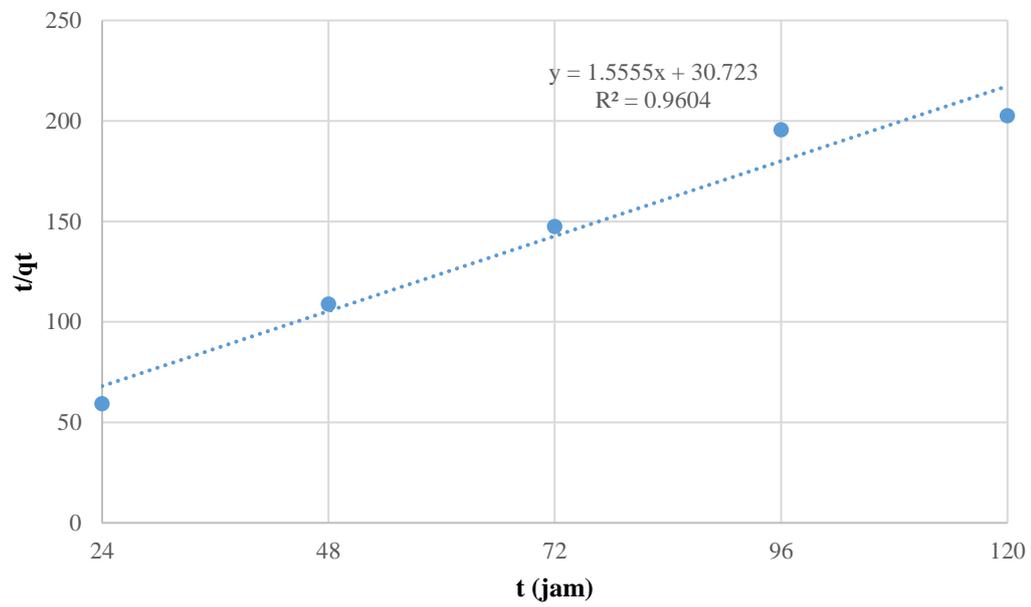
Gambar 4. 16 Pseudo Orde Satu B1K1N



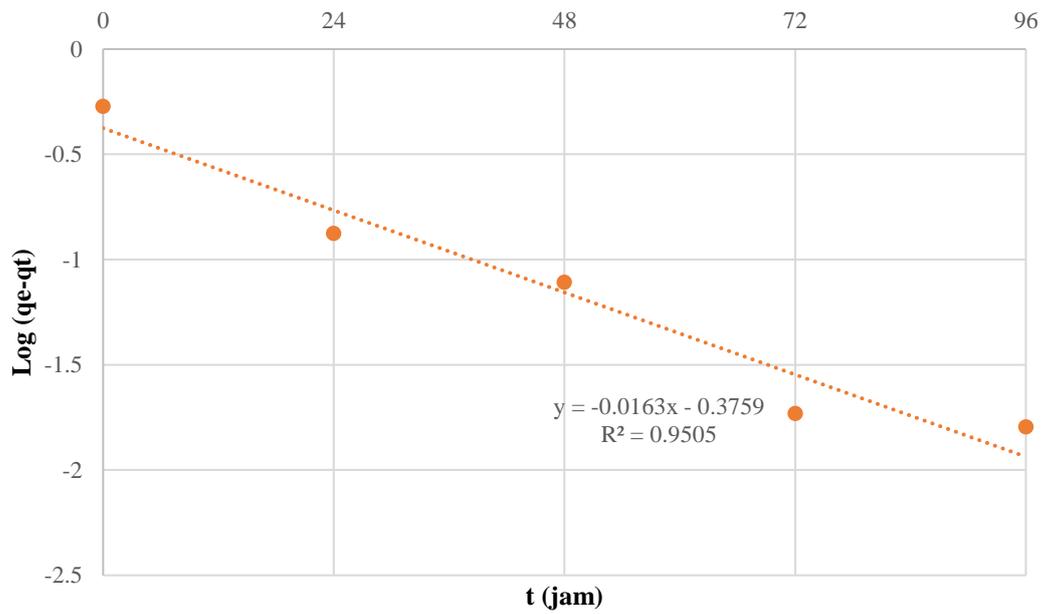
Gambar 4. 17 Pseudo Orde Dua B1K1N



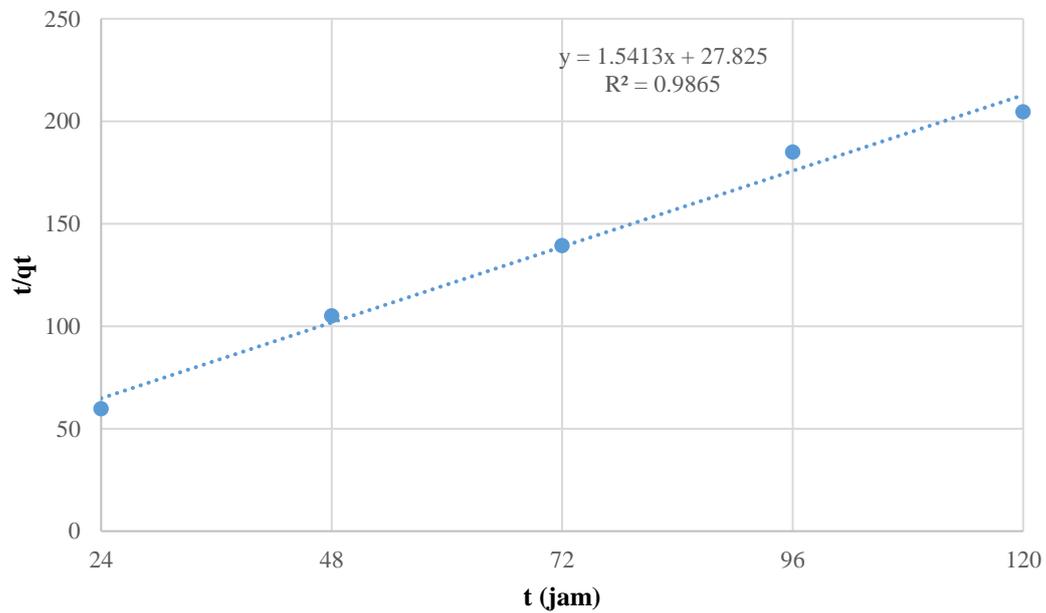
Gambar 4. 18 Pseudo Orde Satu B2K1A



Gambar 4. 19 Pseudo Orde Dua B2K1A



Gambar 4. 20 Pseudo Orde Satu B2K1N



Gambar 4. 21 Pseudo Orde Dua B2K1N

Tabel 4. 9 Rekapitulasi Hasil Perhitungan Konstanta Reaksi

Reaktor	k1	k2
B1K1A	0.018	0.039
B1K1N	0.004	0.057
B2K1A	0.003	0.093
B2K1N	0.007	0.126

Berdasarkan Tabel 4. 9, dapat dibandingkan antara dua kondisi pH yang berbeda terhadap laju reduksi aluminium oleh jenis bakteri yang sama. Kinetika reduksi bersifat spesifik terhadap jenis bakteri serta kondisi dari proses yang berlangsung (O'Flaherty *et al.*, 1998). Untuk reaktor B1K1N, diambil model pseudo orde satu agar hasil dapat dibandingkan dengan B1K1A. Dari hasil perhitungan k1, diketahui bahwa laju reaksi berjalan lebih cepat pada kondisi asam dibanding dengan kondisi netral. Hal ini menunjukkan bahwa reduksi aluminium oleh bakteri *V. alginolyticus* berlangsung optimum pada pH asam. Hal ini berbanding lurus dengan hasil removal aluminium pada Gambar 4. 10 yang menunjukkan reduksi hingga 59,72% untuk B1K1A dan 50,92% untuk B1K1N.

Untuk B2K1A dan B2K1N, model pseudo orde dua dipilih untuk membandingkan kedua hasil. Dari hasil perhitungan k2 diketahui bahwa reaksi berlangsung lebih cepat pada kondisi pH netral. Hal ini berbanding terbalik dengan penyisihan aluminium, di mana penyisihan lebih tinggi didapatkan pada kondisi asam. Hal ini dibuktikan dengan kedua model yang memiliki kecenderungan sama. Penyisihan aluminium untuk kedua reaktor cenderung tidak signifikan yaitu 53,87% untuk B1K1A dan 49,60% B2K1N, sedangkan pertumbuhan bakteri (Gambar 4. 13) menunjukkan perbedaan yang cukup jauh. Analisis konsentrasi harian dengan pertumbuhan jumlah bakteri sebagai adsorben menunjukkan bahwa dengan jumlah bakteri yang sama, kondisi netral untuk bakteri *B. thermosphacta* lebih bekerja optimum.

Merujuk pada Tabel 4. 2, kinetika reduksi aluminium oleh bakteri juga dipengaruhi oleh karakteristik bakteri itu sendiri. *V. alginolyticus* dan *B. thermosphacta* merupakan dua jenis bakteri dengan VP positif. VP positif menunjukkan adanya pemecahan glukosa lengkap yang dapat memperkuat reaksi

metabolisme (McFaddin, 1980). Perbedaan antara kedua jenis bakteri juga terlihat pada parameter *glucose, mannitol, xylose, citrate, TDA, malonate, sorbitol, sucrose, arabinose, adonitol, raffinose* dan *salicin*, di mana semua parameter tersebut bernilai positif pada *B. thermosphacta* dan negatif pada *V. alginolyticus*. Semakin banyak parameter yang terdeteksi positif pada bakteri menunjukkan semakin banyaknya reaksi enzimatik dalam sel (Bachoon *et al.*, 2008). Bakteri *V. alginolyticus* cenderung dapat melakukan *metabolic bypass* dan *enzyme repair* apabila terdapat zat toksik karena jumlah reaksi yang terlibat dalam proses cenderung lebih sedikit (McFaddin, 1980).

Pembuatan kinetika reaksi didasarkan pada reduksi aluminium total, baik fisik-kimia dan juga biologis. Diketahui bahwa reaktor kontrol asam hanya mengalami penurunan sebesar 7,92% sedangkan reaktor kontrol netral mengalami penurunan hingga 17,06%. Dengan melihat hasil ini, terdapat kecenderungan bahwa proses reduksi aluminium oleh bakteri *B. thermosphacta*, tanpa memperhitungkan proses fisik-kimia, berlangsung lebih baik pada kondisi asam. Namun, proses reduksi di alam merupakan gabungan antara proses fisik-kimia serta proses biologis (Mythili. dan Karthikeyan, 2011) sehingga analisis lanjutan terkait reduksi aluminium di reaktor kontrol perlu dilakukan untuk mengetahui proses reduksi aluminium yang murni hanya secara biologis.

Proses reduksi logam oleh bakteri dapat terjadi melalui beberapa mekanisme seperti biosorpsi dan juga presipitasi biologis karena adanya *siderophore* (Voica *et al.*, 2016). Biosorpsi terdiri atas dua mekanisme yaitu penempelan logam pada dinding luar sel serta akumulasi logam di dalam sel. Mekanisme ini berperan penting terhadap reduksi logam oleh bakteri. Semakin tinggi kapasitas adsorpsi oleh bakteri, semakin tinggi pula reduksi aluminium yang di dapatkan (Nath *et al.*, 2015). Adanya *siderophore* yang di sekresikan oleh bakteri juga dapat menimbulkan adanya reduksi logam. *Siderophore* adalah zat pengkelat yang dapat meningkatkan kelarutan logam. Seiring dengan meningkatnya kelarutan logam, proses masuknya logam ke dalam sel dapat berlangsung lebih baik (Neilands, 1995).

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan di atas, maka kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah:

1. Bakteri *Vibrio alginolyticus* dan *Brochothrix thermosphacta* memiliki resistensi tinggi terhadap paparan aluminium.
2. pH optimum proses reduksi aluminium untuk *Vibrio alginolyticus* adalah 5 dan *Brochothrix thermosphacta* adalah 8.
3. Penyisihan aluminium oleh *Vibrio alginolyticus* pada pH 5 adalah 59,72% dan pada pH 8 adalah 50,92%. Sedangkan penyisihan aluminium oleh *Brochothrix thermosphacta* pada pH 5 adalah 53,87% dan pada pH 8 adalah 49,60%.
4. Kinetika reaksi oleh *Vibrio alginolyticus* pada pH 5 mengikuti model pseudo orde satu sedangkan pada pH 8 mengikuti model pseudo orde dua. Sementara itu, kinetika reaksi oleh *Brochothrix thermosphacta* pada pH 5 dan 8 mengikuti model pseudo orde dua.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka saran untuk penelitian selanjutnya adalah:

1. Analisis lanjutan terkait pengaruh pH dalam penentuan kinetika reaksi perlu dilakukan untuk mengetahui kecenderungan proses biologis.
2. Variasi konsentrasi aluminium serta inokulum bakteri dapat dilakukan untuk mendapatkan model isotherm reaksi.
3. Perpanjangan waktu uji hingga didapatkan titik ekuilibrium bio-proses aluminium.

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

DAFTAR PUSTAKA

- Ahluwalia, Sarabjeet Singh dan Dinesh Goyal. 2007. **Microbial and Plant Derived Biomass for Removal of Heavy Metals from Wastewater**. Journal of Bioresource Technology, 98(2): 2243–2257
- AlDisi, Z., Jaoua, S., Al-Thani, D., AlMeer, S., dan Zouari, N. 2016. **Isolation, Screening and Activity of Hydrocarbon Degrading Bacteria from Harsh Soils**. Proceedings of the World Congress on Civil, Structural, and Environmental Engineering, Prague, Czech Republic, March 30 – 31, 2016
- Auger, Christopher, Sungwon Han, Varun P. Appanna, Sean C. Thomas, Gerardo Ulibarri dan Vasu D. Appanna. 2013. **Metabolic Reengineering Invoked by Microbial Systems to Decontaminate Aluminum: Implications for Bioremediation Technologies**. Journal Biotechnology Advances, 31(1): 266–273
- Bachoon, Dave S. and Wendy A. D. 2008. **Microbiology Laboratory Manual**. University of California
- Badan Lingkungan Hidup Kota Jombang. 2016. **Laporan Analisis Resiko Lingkungan–Lingkungan Industri Kecil Daur Ulang Slag Aluminium**. Jombang, Jawa Timur
- Betsy dan Keogh. 2005. **Microbiology Demystified**. McGraw-Hill Publisher, USA
- Binczewski, G. J.. 1995. **The Point of a Monument: A History of the Aluminum Cap of the Washington Monument**. Journal of Material, 47(11): 20–25
- Breakwell, Donald, Bryan MacDonald, Christopher Woolverton, Kyle Smith, dan Richard Robison. 2007. **Colony Morphology Protocol**. American Society for Microbiology
- Cayllahua, Javier Enrique Basurco dan Maurício Leonardo Torem. 2010. **Biosorption of Aluminum Ions onto *Rhodococcus opacus* from Wastewaters**. Journal of Chemical Engineering, 161(1): 1-8

- Chau, Ngo Thi Tuong, Le Van Thien dan Shinjiro Kanazawa. 2014. **Identification and Characterization of Acidity-Tolerant and Aluminium-Resistant Bacterium from Tea Soil**. African Journal of Biotechnology, 13(27): 2715-2726
- Cheng, Guojun dan Xiaohua Li. 2009. **Bioreduction of Chromium (VI) by *Bacillus sp.* Isolated from Soils of Iron Mineral Area**. European Journal of Soil Biology, 45(1): 483-487
- Cheung, K.H. dan Ji-Dong Gu. 2007. **Mechanism of Hexavalent Chromium Detoxification by Microorganisms and Bioremediation Application Potential: A Review**. International Biodeterioration & Biodegradation, 59(1): 8-15
- Chuan, Ling Tau. 1997. **Heavy Metals Biosorption by Powdered *Rhizopus Oligosporus* Biomass**. Universiti Putra Malaysia, Malaysia
- Ciric, L., Philp, J. C. dan Whiteley, A. S. 2010. **Hydrocarbon Utilization Within a Diesel Degrading Bacterial Consortium**. FEMS Microbiol, 303(1): 116-122
- Ciric, L., Philp, J. C. dan Whiteley, A. S. 2010. **Hydrocarbon Utilization Within a Diesel Degrading Bacterial Consortium**. FEMS Microbiol, 303(1): 116-122
- Das, Sasmita, Jigni Mishra, Saroj Kumar Das, Sony Pandey, Danda Srinivas Rao, Anindita Chakraborty, Mathummal Sudarshan, Nigamananda Das dan Hrudayanath Thatoi. 2014. **Investigation on Mechanism of Cr(VI) Reduction and Removal by *Bacillus Amyloliquefaciens*, a Novel Chromate Tolerant Bacterium Isolated from Chromite Mine Soil**. Journal of Chemosphere, 96(1): 112–121
- Davy, Humphry. 2009. **Electro Chemical Researches, on The Decomposition of The Earths; With Observations on The Metals Obtained from The Alkaline Earths, and on The Amalgam Procured from**

Ammonia. Philosophical Transactions of the Royal Society, Royal Society of London, UK

Deepali. 2011. **Bioremediation of Chromium (VI) from Textile Industry's Effluent and Contaminated Soil Using *Pseudomonas putida*.** Journal of Energy & Environment, 2(1): 24-31

Deonath, R.T. Bhat dan P.K. Rohatgi. 1979. **Preparation of Cast Aluminium Alloy-mica Particle Composites.** Journal of Materials Science, 15(5): 1241-1251

Dhal, B., H.N. Thatoi, N.N. Das dan B.D. Pandey. 2013. **Chemical and Microbial Remediation of Hexavalent Chromium from Contaminated Soil and Mining/Metallurgical Solid Waste: A Review.** Journal of Hazardous Materials, 250– 251(1): 272– 291

ECCC. 1999. <https://www.ec.gc.ca/lcpe-cepa/default.asp?lang=En&n=491F0099-1&offset=8> diakses pada 30 Juli 2017 Pukul 20.00

Evelyn, Rita J dan Ravinskar V.. 2014. **Bioremediation of Chromium Contamination - A Review.** Journal of Research in Earth & Environmental Science, 2(6): 20-26

Farid, A.F. dan J.L.Larsen. 1981. **Growth of *Vibrio alginolyticus*: Interacting Effects on pH, Temperature, Salt Concentration, and Incubation Time.** Zentralblatt für Bakteriologie Mikrobiologie und Hygiene: I. Abt. Originale C: Allgemeine, angewandte und ökologische Mikrobiologie, 2(1): 68-75

Ferreira, Paulo Ademar Avelar, Cleide Aparecida Bomfeti, Bruno Lima Soares dan Fatima Maria de Souza Moreira. 2012. **Efficient Nitrogen-Fixing Rhizobium Strains Isolated from Amazonian Soils are Highly Tolerant to Acidity and Aluminium.** World Journal Microbiol Biotechnol, 28(1): 1947–1959

Gaudy A. F. dan Gaudy E. T. 1980. **Microbiology for Environmental Scientists and Engineers.** McGraw-Hill, USA

- Gordon, Andrew S., Valerie J. Harwood, dan Sean Sayyar. 1992. **Growth, Copper-Tolerant Cells, and Extracellular Protein Production in Copper-Stressed Chemostat Cultures of *Vibrio alginolyticus***. Applied and Environmental Microbiology, 1993(1): 60-66
- Graham DR, Band JD, Thornsberry C, Hollis DG, dan Weaver RE. 1990. **Infections Caused by *Moraxella*, *Moraxella urethralis*, *Moraxella*-like groups M-5 and M-6, and *Kingella kingae* in the United States**. Rev Infect Disease, 12(3): 423-431
- Greenwood, Norman N. dan Alan Earnshaw. 1997. **Chemistry of the Elements (2nd Edition)**. Butterworth-Heinemann, New York, USA
- Hard, B. C., C. Walther, dan W. Babel. 1999. **Sorption of Aluminum by Sulfate-Reducing Bacteria Isolated from Uranium Mine Tailings**. Geomicrobiology Journal, 16(4): 267-275
- Hoiby N, Ciofu O, dan Bjarnsholt T. 2010. ***Pseudomonas aeruginosa* Biofilms in Cystic Fibrosis**. Journal of Future Microbiology, 5(11): 1663–1674
- Ibrahim, Haytham M. M.. 2016. **Biodegradation of Used Engine Oil by Novel Strains of *Orchrobactrum anthropic* HM-1 and *Citrobacter freundii* HM-2 Isolated from Oil Contaminated Soil**. Journal of Biotech, 3(226): 1-13
- Ingulstad, Mats. 2012. **We Want Aluminum, No Excuses: Business-Government Relations in the American Aluminum Industry, 1917–1957**. Tapir Academic Publishing, Oslo, Norway
- International Agency for Research on Cancer. 1987. **Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monograph**. Monograph Evaluation of Carcinogenicity, 1-42(7): 1-440
- Kaur, Hareet dan Ashwani Kumar. 2014. **Bioremediation of Hexavalent Chromium in Wastewater Effluent by *Pseudomonas putida* (MTCC 102)**. Journal of Research in Earth & Environmental Sciences, 1(4): 18-24

- Kilcher, Samuel, Martin J. Loessner, dan Jochen Klumpp. 2010. ***Brochothrix thermosphacta* Bacteriophages Feature Heterogeneous and Highly Mosaic Genomes and Utilize Unique Prophage Insertion Sites.** Journal of Bacteriol, 192(20): 5441-5453
- Klein, Stefanie, Carlos Lorenzo, Sonja Hoffmann, Johannes M. Walther, Sonja Storbeck, Tanja Piekarski, Bryan J. Tindall, Victor Wray, Manfred Nimtz dan Jürgen Moser. 2009. **Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to Various Conditions Includes tRNA-Dependent Formation of alanyl-phosphatidylglycerol.** Journal of Molecular Microbiology, 71(3): 551–565
- Konishi, Shigeki, Ikuo Souta, Jun'ichi Takahashi, Miho Ohmoto dan Seiichi Kaneko. 1994. **Isolation and Characteristics of Acid- and Aluminum-Tolerant Bacterium.** Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 58(11): 1960-1963
- Kubyshkina, Galina, Barbara Zupančič, Marina Štukelj, Dušan Grošel, Ljubo Marion, Igor Emri. 2011. **The Influence of Different Sterilization Techniques on the Time-Dependent Behavior of Polyamides.** Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology, 2(1): 361-368
- Kulkarni, Snehal V.. 2014. **Bioremediation of Petroleum Hydrocarbon Polluted Sites for the Conservation of Soil Microbial Diversity.** University of Pune, India
- Kumar, A., Bisht B. S., Joshi V. D. dan Dhewa T.. 2011. **Review on Bioremediation of Polluted Environment: A Management Tool.** Journal of Environmental Sciences, 1(6): 1079-1093
- Leroi F, Fall PA, Pilet MF, Chevalier F, dan Baron R. 2012. **Influence of Temperature, pH and NaCl Concentration on The Maximal Growth Rate of *Brochothrix thermosphacta* and a Bioprotective Bacteria *Lactococcus piscium* CNCM I-4031.** Food Microbiol, 31(2): 222-228
- Machmud, Muhammad. 2001. **Teknik Penyimpanan dan Pemeliharaan Mikroba.** Buletin AgroBio, 4(1): 24-32

- Maier, Raina M. 2008. **Chapter 3 Bacterial Growth**. Elsevier, USA
- Martins, Mônica, Rita Taborda, Gonçalo Silva, Ana Assunção, António Pedro Matos dan Maria Clara Costa. 2012. **Aluminum and Sulphate Removal by a Highly Al-Resistant Dissimilatory Sulphate-Reducing Bacteria Community**. *Journal of Biodegradation*, 23(1): 693–703
- McFaddin. 1980. **Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria 2nd Edition**. William and Wilkins, Baltimore
- Menteri Kesehatan Republik Indonesia. 2010. **Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia NOMOR 492/MENKES/PER/IV/2010 Tentang Persyaratan Kualitas Air Minum**. Jakarta, Indonesia
- Mittal, Shilpi, Jean-Marie Meyer dan Reeta Goel. 2003. **Isolation and Characterization of Aluminium and Copper Resistant ‘P’ Solubilizing Alkalophilic Bacteria**. *Indian Journal of Biotechnology*, 2(1): 583-586
- Mythili, K. dan B. Karthikeyan. 2011. **Bioremediation of Cr (VI) from Tannery Effluent using *Bacillus spp* and *Staphylococcus spp***. *International Multidisciplinary Research Journal*, 1(6): 38-41
- Nath, Jayashree dan Lalitagauri Ray. 2015. **Biosorption of Malachite Green from Aqueous Solution by Dry Cells of *Bacillus cereus* M1 16 (MTCC 5521)**. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 3(1): 386–394
- Nath, Soumitra, Bibhas Deb dan Indu Sharma. 2012. **Isolation and Characterization of Cadmium and Lead Resistant Bacteria**. *Global Advanced Research Journal of Microbiology*, 1(11): 194-198
- Neilands, J.B. 1995. **Siderophores: Structure and Function of Microbial Iron Transport Compounds**. *Journal of Biological Chemistry*, 270(5): 26723-26726
- Noguchi, T., Hwang, D F., Arakawa, O., Sugita, H., Deguchi, Y., Shida, Y., Hashimoto K. 1987. ***Vibrio alginolyticus*, a Tetrodotoxin-producing**

Bacterium, in The Intestines of the Fish Fugu Vermicularis. Marine Biology, 94(4): 625–630

O’Flaherty, Vincent, Therese Mahony, Ronan O’Kennedy and Emer Colleran. 1998. **Effect of pH on Growth Kinetics and Sulphide Toxicity thresholds of a Range of Methanogenic, Syntrophic and Sulphate Reducing Bacteria.** Process Biochemistry, 35(5): 555-569

Omeike, S. O., Kareem, S. O., Adewuyi, S., dan Balogun, S. A. 2013. **Biosorption of Aluminium from Solution by Dead *Aspergillus oryzae* Biomass Isolated from Aluminium Mills Waste Site.** Journal of Life Science, 15(1): 119-124

Oves, Mohammad, Mohammad Saghir Khan dan Almas Zaidi. 2013. **Chromium Reducing and Plant Growth Promoting Novel Strain *Pseudomonas aeruginosa* OSG41 Enhance Chickpea Growth in Chromium Amended Soils.** European Journal of Soil Biology, 56(1): 72-83

Ozdemir, G. dan S. H. Baysal. 2004. **Chromium and Aluminum Biosorption on *Chryseomonas luteola* TEM05.** Appl Microbiol Biotechnol, 64(1): 599–603

Polmear, I. J. 2006. **Production of Aluminium: Light Alloys from Traditional Alloys to Nanocrystals.** Butterworth-Heinemann, New York, USA

Postlethwaith, J. H. dan J. L. Hopson. 2006. **Modern Biology.** A Harcourt Education Company, Texas

Pranowo, Pratiwi Putri dan Harmin Sulistyaning Titah. 2016. **Isolation and Screening of Diesel-Degrading Bacteria from the Diesel Contaminated Seawater at Kenjeran Beach, Surabaya.** Environment Asia, 9(2): 165 – 169

Prescott, Klein dan Harley. 2002. **Microbiology, Fifth Edition X. Microbial Diseases and Their Control 39. Human Diseases Caused by Bacteria.** The McGraw Hill Companies, USA

- Purves dan Sadava. 2003. **Life The Science of Biology 7th Edition**. Sinauer Associates Inc, New York
- Purwanti, Ipung Fitri, Siti Rozaimah Sheikh Abdullah, Ainon Hamzah, Musrifah Idris, Hassan Basri, Muhammad Mukhlisin dan Mohd Talib Latif. 2015. **Biodegradation of Diesel by Bacteria Isolated from *Scirpus mucronatus* Rhizosphere in Diesel-Contaminated Sand**. Journal of Advanced Science, (2)1: 140-143
- Quintelas, C., B. Fernandes, J. Castro, H. Figueiredo dan T. Tavares. 2008. **Biosorption of Cr(VI) by a *Bacillus coagulans* Biofilm Supported on Granular Activated Carbon (GAC)**. Chemical Engineering Journal, 136(2-3): 195–203
- Reynold, Tom D. dan Paul Richards. 1982. **Unit Operations and Processes in Environmental Engineering**. PWS Publishing Company, USA
- Ruangpan, L. 2004. **Chapter 3. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) Test and Determination of Antimicrobial Resistant Bacteria**. Laboratory Manual of Standardized Method for Antimicrobial Sensitivity Test for Bacteria Isolated from Aquatic Animals and Environment (31-55). Tigbauan, Iloilo, Philippines
- Sainte-Claire Deville, H. E. 1859. **De l'aluminium, ses propriétés, sa fabrication**. Mallet-Bachelier, Paris
- Shigeta M.A., Komatsuzawa H.B., Sugai M.B., Suginaka H.B., dan Usui T.A. 1997. **Effect of the Growth Rate of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms on the Susceptibility to Antimicrobial Agents**. Karger, 43(2): 1-13
- Singh, Rajesh dan Narsi R. Bishnoi. 2015. **Biotransformation Dynamics of Chromium(VI) Detoxification Using *Aspergillus flavus* System**. Journal of Ecological Engineering, 75(1): 103–109
- Singleton dan Sainsbury. 2006. **Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 3rd Edition**. John Wiley and Sons, Sussex, England

- Srivastava, V.C., Mall I.D., dan Mishra I.M. 2006. **Characterization of Mesoporous Rice Husk Ash (RHA) and Adsorption Kinetics of Metal Ions from Aqueous Solution onto RHA**. *Journal of Hazardous Material*. 134(1-3): 257-267
- Sugiharto, Toto. 2009. **Analisis Varians**. Universitas Gunadarma, Jakarta
- Thatoi, Hrudayanath, Sasmita Das, Jigni Mishra, Bhagwat Prasad Rath dan Nigamananda Das. 2014. **Bacterial Chromate Reductase, a Potential Enzyme for Bioremediation of Hexavalent Chromium: A Review**. *Journal of Environmental Management*, 146(1): 383-399
- Tsakiridis, P.E. 2012. **Aluminium Salt Slag Characterization and Utilization – A Review**. *Journal of Hazardous Materials*, 2(1): 1–10
- Tuzen, Mustafa dan Mustafa Soylak. 2008. **Biosorption of Aluminum on *Pseudomonas aeruginosa* Loaded on Chromosorb 106 Prior to its Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometric Determination**. *Journal of Hazardous Materials* 154(1-3): 519-25
- Ulitzur S. 1974. ***Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus*: Short Generation-Time Marine Bacteria**. *Journal of Microbial Ecology*, 1(3): 127-135
- United State Environmental Protection Agency. 2006. **Locating and Estimating Air Emissions from Sources of Aluminium**. Office of Air Quality Planning and Standards Research Triangle Park, North Carolina, United State
- Usman, H. dan R. Purnomo Setiady Akbar. 2000. **Pengantar Statistika**. Jakarta: Bumi Aksara
- Vitasari, Denny, Puspita Adi Lystanto, Kusmiyati, dan Ahmad M Fuadi. 2009. **Kinetika dan Termodinamika Adsorpsi Cu²⁺ dengan Adsorben Karbon Aktif Arang Batu Bara**. Simposium Nasional RAPI VIII

- Voica, Doriana Madalina, Laszlo Bartha, Horia Leonard Banciu dan Aharon Oren. **Heavy Metal Resistance in Halophilic Bacteria and Arcahe.** FEMS Microbiology Letters, 363(14): 1
- Wang, Sun Wang. 2011. **Measurements of Cell Biomass Concentration.** Department of Chemical and Biomolecular Engineering, University of Maryland
- Witt, M. dan W. Roesky. 2000. **Organoaluminium Chemistry at the Forefront of Research and Development.** Journal of Current Science, 78(4): 410
- World Health Organization. 2004. **WHO Guidelines for Drinking-Water Quality.** Danish International Development Agency, Switzerland
- Yan, Lifeng dan Xiaoya Qi. 2014. **Degradation of Cellulose to Organic Acids in Its Homogenous Alkaline Solution.** ACS, 2(4): 897 – 901
- Zahoor, Ahmed dan Abdul Rehman. 2009. **Isolation of Cr(VI) Reducing Bacteria from Industrial Effluents and Their Potential Use in Bioremediation of Chromium Containing Wastewater.** Journal of Environmental Sciences, 21(6): 814-820

LAMPIRAN 1
KONSENTRASI ALUMINIUM PADA UJI BIO-PROSES

Hari ke-	Trial	B1K0A	B1K0N	B1K1A	B1K1N	B2K0A	B2K0N	B2K1A	B2K1N	B0K0A	B0K0N	B0K1A	B0K1N
0	1	0.76	0.77	101.80	103.40	0.68	0.88	100.20	100.20	0.77	0.77	102.10	100.20
	2	0.77	0.77	101.80	104.40	0.67	0.66	102.20	100.40	0.78	0.68	106.20	100.40
	\bar{x}	0.77	0.77	101.80	103.90	0.68	0.77	101.20	100.30	0.78	0.73	104.15	100.30
1	1	0.77	0.76	71.28	75.98	0.68	0.72	73.22	79.21	0.81	0.77	98.22	91.20
	2	0.76	0.75	70.89	76.21	0.66	0.82	73.16	78.89	0.77	0.67	98.21	90.99
	\bar{x}	0.77	0.76	71.09	76.10	0.67	0.77	73.19	79.05	0.79	0.72	98.22	91.10
	Removal	0.00%	1.95%	30.17%	26.76%	0.74%	0.00%	27.68%	21.19%	-1.94%	0.69%	5.70%	9.18%
2	1	0.78	0.77	66.12	72.87	0.66	0.76	69.21	72.18	0.79	0.78	98.01	89.26
	2	0.76	0.76	65.67	69.72	0.66	0.79	69.23	74.16	0.76	0.79	97.32	88.98
	\bar{x}	0.77	0.77	65.90	71.30	0.66	0.78	69.22	73.17	0.78	0.79	97.67	89.12
	Removal	-0.65%	0.65%	35.27%	31.38%	2.22%	-0.65%	31.60%	27.05%	0.00%	-8.28%	6.23%	11.15%
3	1	0.76	0.78	57.32	63.98	0.67	0.88	60.22	66.23	0.76	0.76	97.65	87.22
	2	0.75	0.77	55.06	65.22	0.69	0.71	61.12	67.12	0.77	0.76	96.28	86.16
	\bar{x}	0.76	0.78	56.19	64.60	0.68	0.80	60.67	66.68	0.77	0.76	96.97	86.69
	Removal	1.31%	-0.65%	44.80%	37.82%	-0.74%	-3.25%	40.05%	33.52%	1.29%	-4.83%	6.90%	13.57%
4	1	0.76	0.77	49.21	59.26	0.71	0.72	57.28	60.22	0.78	0.75	96.22	83.27
	2	0.76	0.77	48.37	58.78	0.62	0.79	54.32	59.34	0.77	0.75	97.01	83.16
	\bar{x}	0.76	0.77	48.79	59.02	0.67	0.76	55.80	59.78	0.78	0.75	96.62	83.22
	Removal	0.65%	0.00%	52.07%	43.20%	1.48%	1.95%	44.86%	40.40%	0.00%	-3.45%	7.23%	17.03%
5	1	0.77	0.76	41.24	50.77	0.69	0.78	46.49	51.22	0.76	0.74	95.69	82.16
	2	0.78	0.76	40.77	51.22	0.67	0.79	46.88	49.89	0.77	0.76	96.12	84.22
	\bar{x}	0.78	0.76	41.01	51.00	0.68	0.79	46.69	50.56	0.77	0.75	95.91	83.19
	Removal	-1.31%	1.30%	59.72%	50.92%	-0.74%	-1.95%	53.87%	49.60%	1.29%	-3.45%	7.92%	17.06%

LAMPIRAN 2
pH PADA UJI BIO-PROSES

Hari ke-	Trial	B1K0A	B1K0N	B1K1A	B1K1N	B2K0A	B2K0N	B2K1A	B2K1N	B0K0A	B0K0N	B0K1A	B0K1N
0	1	5.00	8.00	4.94	7.98	5.00	8.00	4.96	7.98	5.00	8.00	5.00	7.98
	2	5.00	8.00	4.98	7.98	5.00	8.00	4.99	7.99	5.00	8.01	5.00	7.98
	\bar{x}	5.00	8.00	4.96	7.98	5.00	8.00	4.98	7.99	5.00	8.01	5.00	7.98
1	1	4.62	7.82	4.60	7.85	4.67	7.82	4.56	7.84	5.10	8.10	5.11	8.11
	2	4.67	7.88	4.64	7.85	4.68	7.88	4.68	7.86	5.10	8.10	5.16	8.12
	\bar{x}	4.65	7.85	4.62	7.85	4.68	7.85	4.62	7.85	5.10	8.10	5.14	8.12
2	1	4.89	7.99	4.88	7.99	4.80	8.00	4.70	7.98	5.18	8.22	5.21	8.24
	2	4.88	8.00	4.88	8.00	4.82	7.98	4.98	7.99	5.19	8.22	5.22	8.26
	\bar{x}	4.89	8.00	4.88	8.00	4.81	7.99	4.84	7.99	5.19	8.22	5.22	8.25
3	1	5.01	8.02	4.98	8.00	4.98	8.00	4.98	8.00	5.22	8.22	5.53	8.24
	2	5.04	8.08	4.98	8.01	4.79	8.02	5.21	8.01	5.20	8.21	5.54	8.26
	\bar{x}	5.03	8.05	4.98	8.01	4.89	8.01	5.10	8.01	5.21	8.22	5.54	8.25
4	1	5.14	8.11	5.02	8.10	5.20	8.05	5.14	8.12	5.20	8.28	5.71	8.36
	2	5.22	8.12	5.02	8.10	5.10	8.10	5.22	8.10	5.22	8.30	5.73	8.30
	\bar{x}	5.18	8.12	5.02	8.10	5.15	8.08	5.18	8.11	5.21	8.29	5.72	8.33
5	1	5.21	8.12	5.12	8.12	5.10	8.12	5.22	8.12	5.20	8.28	6.24	8.30
	2	5.16	8.22	5.10	8.14	5.22	8.10	5.19	8.14	5.25	8.29	6.24	8.40
	\bar{x}	5.19	8.17	5.11	8.13	5.16	8.11	5.21	8.13	5.23	8.29	6.24	8.35

LAMPIRAN 3
OD PADA UJI BIO-PROSES

Hari ke-	Trial	B1K0A	B1K0N	B1K1A	B1K1N	B2K0A	B2K0N	B2K1A	B2K1N
0	1	0.010	0.009	0.010	0.011	0.009	0.012	0.010	0.009
	2	0.011	0.011	0.013	0.012	0.013	0.010	0.010	0.012
	\bar{x}	0.011	0.010	0.012	0.012	0.011	0.011	0.010	0.011
1	1	1.487	1.375	1.576	1.301	1.890	1.822	1.821	1.701
	2	1.534	1.387	1.498	1.310	1.980	1.846	1.876	1.698
	\bar{x}	1.511	1.381	1.537	1.306	1.935	1.834	1.849	1.700
2	1	1.782	1.401	1.621	1.345	2.021	1.928	2.011	1.764
	2	1.794	1.422	1.222	1.362	2.123	1.945	1.999	1.776
	\bar{x}	1.788	1.412	1.422	1.354	2.072	1.937	2.005	1.770
3	1	1.892	1.468	1.689	1.389	2.265	2.001	2.111	1.872
	2	1.874	1.501	1.712	1.401	2.462	2.018	1.998	1.888
	\bar{x}	1.883	1.485	1.701	1.395	2.364	2.010	2.055	1.880
4	1	1.922	1.444	1.722	1.401	2.468	2.210	2.101	1.902
	2	1.926	1.452	1.765	1.412	2.512	2.222	2.023	1.948
	\bar{x}	1.924	1.448	1.744	1.407	2.490	2.216	2.062	1.925
5	1	2.011	1.489	1.802	1.422	2.534	2.324	2.111	2.000
	2	2.121	1.492	1.813	1.452	2.522	2.468	2.210	1.999
	\bar{x}	2.066	1.491	1.808	1.437	2.528	2.396	2.161	2.000

LAMPIRAN 4
CFU PADA UJI BIO-PROSES

Hari ke-	<i>Trial</i>	B1K0A	B1K0N	B1K1A	B1K1N	B2K0A	B2K0N	B2K1A	B2K1N
0	1	9.90E+05	9.80E+05	9.90E+05	1.00E+06	8.60E+05	8.90E+05	8.70E+05	8.60E+05
	2	1.00E+06	1.00E+06	1.02E+06	1.01E+06	9.00E+05	8.70E+05	8.70E+05	8.90E+05
	\bar{x}	9.95E+05	9.90E+05	1.01E+06	1.01E+06	8.80E+05	8.80E+05	8.70E+05	8.75E+05
1	1	1.24E+08	1.20E+08	1.32E+08	1.19E+08	1.80E+08	1.60E+08	1.60E+08	1.40E+08
	2	1.28E+08	1.20E+08	1.25E+08	1.20E+08	2.21E+08	1.66E+08	1.75E+08	1.38E+08
	\bar{x}	1.26E+08	1.20E+08	1.29E+08	1.20E+08	2.01E+08	1.63E+08	1.68E+08	1.39E+08
2	1	1.81E+08	1.20E+08	1.38E+08	1.20E+08	2.50E+08	1.95E+08	2.40E+08	1.48E+08
	2	1.87E+08	1.21E+08	1.19E+08	1.20E+08	3.50E+08	2.02E+08	2.32E+08	1.50E+08
	\bar{x}	1.84E+08	1.21E+08	1.29E+08	1.20E+08	3.00E+08	1.99E+08	2.36E+08	1.49E+08
3	1	2.47E+08	1.24E+08	1.51E+08	1.20E+08	6.80E+08	2.34E+08	3.40E+08	1.74E+08
	2	2.33E+08	1.26E+08	1.58E+08	1.21E+08	2.50E+09	2.50E+08	2.32E+08	1.80E+08
	\bar{x}	2.40E+08	1.25E+08	1.55E+08	1.21E+08	1.59E+09	2.42E+08	2.86E+08	1.77E+08
4	1	2.80E+08	1.22E+08	1.60E+08	1.20E+08	2.60E+09	5.20E+08	3.20E+08	1.80E+08
	2	2.70E+08	1.22E+08	1.75E+08	1.21E+08	3.80E+09	5.40E+08	2.50E+08	2.00E+08
	\bar{x}	2.75E+08	1.22E+08	1.68E+08	1.21E+08	3.20E+09	5.30E+08	2.85E+08	1.90E+08
5	1	4.00E+08	1.24E+08	1.90E+08	1.21E+08	4.50E+09	9.50E+08	3.40E+08	2.33E+08
	2	7.10E+08	1.25E+08	1.96E+08	1.26E+08	4.10E+09	2.60E+09	5.10E+08	2.32E+08
	\bar{x}	5.55E+08	1.25E+08	1.93E+08	1.24E+08	4.30E+09	1.78E+09	4.25E+08	2.33E+08

LAMPIRAN 5

BERAT BAKTERI PADA UJI BIO-PROSES

Hari ke-	Trial	B1K0A	B1K0N	B1K1A	B1K1N	B2K0A	B2K0N	B2K1A	B2K1N
0	1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	\bar{x}	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
1	1	0.089	0.082	0.092	0.076	0.068	0.070	0.070	0.070
	2	0.091	0.083	0.089	0.077	0.064	0.069	0.069	0.070
	\bar{x}	0.090	0.082	0.091	0.076	0.066	0.070	0.069	0.070
2	1	0.090	0.084	0.093	0.080	0.071	0.077	0.072	0.070
	2	0.089	0.085	0.068	0.081	0.072	0.076	0.073	0.070
	\bar{x}	0.089	0.084	0.081	0.080	0.072	0.077	0.073	0.070
3	1	0.082	0.088	0.093	0.083	0.083	0.083	0.083	0.079
	2	0.083	0.089	0.092	0.084	0.088	0.081	0.083	0.078
	\bar{x}	0.082	0.089	0.092	0.083	0.086	0.082	0.083	0.079
4	1	0.078	0.086	0.092	0.084	0.089	0.091	0.094	0.089
	2	0.078	0.087	0.090	0.084	0.091	0.089	0.091	0.086
	\bar{x}	0.078	0.087	0.091	0.084	0.090	0.090	0.093	0.088
5	1	0.067	0.089	0.089	0.085	0.099	0.092	0.093	0.093
	2	0.046	0.089	0.088	0.087	0.094	0.090	0.091	0.093
	\bar{x}	0.056	0.089	0.088	0.086	0.097	0.091	0.092	0.093

LAMPIRAN 6
PERHITUNGAN KINETIKA REAKSI

	t	qe	qt	log qe	qe-qt	log qe-qt	K1	t/qt	t/qe	K2
B1K1A	0	0.690	0	0	0.690	-0.16145	-0.01796	0	0	0.039279
	24	0.690	0.338927	-0.16145	0.351	-0.4552		70.81174	34.80691	
	48	0.690	0.445515	-0.16145	0.244	-0.6126		107.7405	69.61383	
	72	0.690	0.494119	-0.16145	0.195	-0.70908		145.714	104.4207	
	96	0.690	0.581849	-0.16145	0.108	-0.96791		164.9912	139.2277	
	120	0.690	0.689518	-0.16145	0.000	0		174.0346	174.0346	

	t	qe	qt	log qe	qe-qt	log qe-qt	K1	t/qt	t/qe	K2
B1K1N	0	0.615	0	0	0.615	-0.21117	-0.0036	0	0	0.057202
	24	0.615	0.364467	-0.21117	0.250	-0.60125		65.84954	39.02852	
	48	0.615	0.406302	-0.21117	0.209	-0.68062		118.1388	78.05703	
	72	0.615	0.471663	-0.21117	0.143	-0.84384		152.6515	117.0855	
	96	0.615	0.533585	-0.21117	0.081	-1.08964		179.915	156.1141	
	120	0.615	0.614935	-0.21117	0.000	0		195.1426	195.1426	

	t	qe	qt	log qe	qe-qt	log qe-qt	K1	t/qt	t/qe	K2
	0	0.593	0	0	0.593	-0.22727		0	0	
	24	0.593	0.40515	-0.22727	0.187	-0.72722		59.23735	40.50261	
B2K1A	48	0.593	0.441103	-0.22727	0.151	-0.81973	-0.00321	108.818	81.00523	0.0927
	72	0.593	0.488313	-0.22727	0.104	-0.98196		147.4463	121.5078	
	96	0.593	0.490811	-0.22727	0.102	-0.99249		195.5947	162.0105	
	120	0.593	0.592554	-0.22727	0.000	0		202.5131	202.5131	

	t	qe	qt	log qe	qe-qt	log qe-qt	K1	t/qt	t/qe	K2
	0	0.535	0	0	0.535	-0.27173		0	0	
	24	0.535	0.401759	-0.27173	0.133	-0.87571		59.73737	44.86883	
B2K1N	48	0.535	0.456857	-0.27173	0.078	-1.10771	-0.00708	105.0657	89.73766	0.125612
	72	0.535	0.516306	-0.27173	0.019	-1.7308		139.4523	134.6065	
	96	0.535	0.518857	-0.27173	0.016	-1.79492		185.022	179.4753	
	120	0.535	0.586183	-0.27173	-0.051	0		204.7143	224.3442	

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

LAMPIRAN 7

Penentuan pH dan Konsentrasi Aluminium untuk Uji Bio-Proses

Faktor:

A: Jenis Bakteri = 3 Level

B: pH = 2 Level

Blok:

C: Konsentrasi Aluminium = 5 Level

Perlakuan: Kombinasi antara faktor dalam setiap level

Respon: Persentase pertumbuhan bakteri dibandingkan dengan reaktor kontrol

Rancangan Acak Kelompok

Bakteri	Al	pH	Pertumbuhan
2	500	8	0.00
1	0	3	0.00
3	500	8	0.00
1	50	8	100.27
2	0	4	110.00
3	100	8	61.42
2	50	8	105.57
1	0	8	100.00
1	500	8	0.00
1	0	5	120.00
3	50	8	79.19
3	0	8	100.00
1	100	8	128.46
3	0	5	102.00
1	0	4	2.00
2	0	8	100.00
3	0	4	2.00
2	250	8	44.79
1	0	8	100.00
3	0	8	100.00
2	0	8	100.00
1	250	8	110.86
2	0	5	108.00
2	100	8	84.32
3	250	8	0.00
2	0	3	6.00
3	0	3	0.00

Model linear percobaan faktorial acak lengkap untuk uji ini adalah:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \rho_k + \varepsilon_{ijkl}$$

Dengan nilai:

$$i = 1, 2, 3$$

$$j = 1, 2$$

$$k = 1, 2, 3, 4, 5$$

Dimana:

Y_{ijk} : Nilai pengamatan pada faktor A level ke-i, faktor B level ke-j, dan kelompok ke-k

μ : Rataan umum

α_i : Pengaruh utama faktor A (Jenis Bakteri) level ke-i

β_j : Pengaruh utama faktor B (pH) level ke-j

ρ_k : Pengaruh kelompok (Konsentrasi Aluminium) ke-k

ε_{ijk} : Pengaruh acak, $\varepsilon_{ijkl} \sim N(0, \sigma^2)$

Hipotesis

Pengaruh Utama Faktor A:

$H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3 = 0$ (faktor A tidak berpengaruh terhadap respon)

H_1 : paling sedikit ada satu i dimana $\alpha_i \neq 0$

Pengaruh Utama Faktor B:

$H_0: \beta_1 = \beta_2 = 0$ (faktor B tidak berpengaruh terhadap respon)

H_1 : paling sedikit ada satu j dimana $\beta_j \neq 0$

Tolak H_0 : Jika $F_o > F(\alpha, df1, df2)$ atau Jika $P\text{-value} < \alpha$

General Linear Model: Pertumbuhan versus pH, Al, Bakteri

Factor	Type	Levels	Values
pH	fixed	4	3, 4, 5, 8
Al	fixed	5	0, 50, 100, 250, 500
Bakteri	fixed	3	1, 2, 3

Analysis of Variance for Pertumbuhan, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
pH	3	21331.4	27144.0	9048.0	11.43	0.000
Al	4	24167.7	24167.7	6041.9	7.63	0.001
Bakteri	2	3441.4	3441.4	1720.7	2.17	0.144
Error	17	13459.1	13459.1	791.7		
Total	26	62399.6				

S = 28.1374 R-Sq = 78.43% R-Sq(adj) = 67.01%

Unusual Observations for Pertumbuhan

Obs	Pertumbuhan	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
5	110.000	45.821	17.960	64.179	2.96 R
15	2.000	46.144	17.960	-44.144	-2.04 R
22	110.857	60.027	17.960	50.831	2.35 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Bakteri	N	Mean	Grouping
1	9	38.3	A
2	9	38.0	A
3	9	14.2	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Al	N	Mean	Grouping
0	15	62.5	A
50	3	57.5	A
100	3	53.9	A
250	3	14.4	A B
500	3	-37.5	B

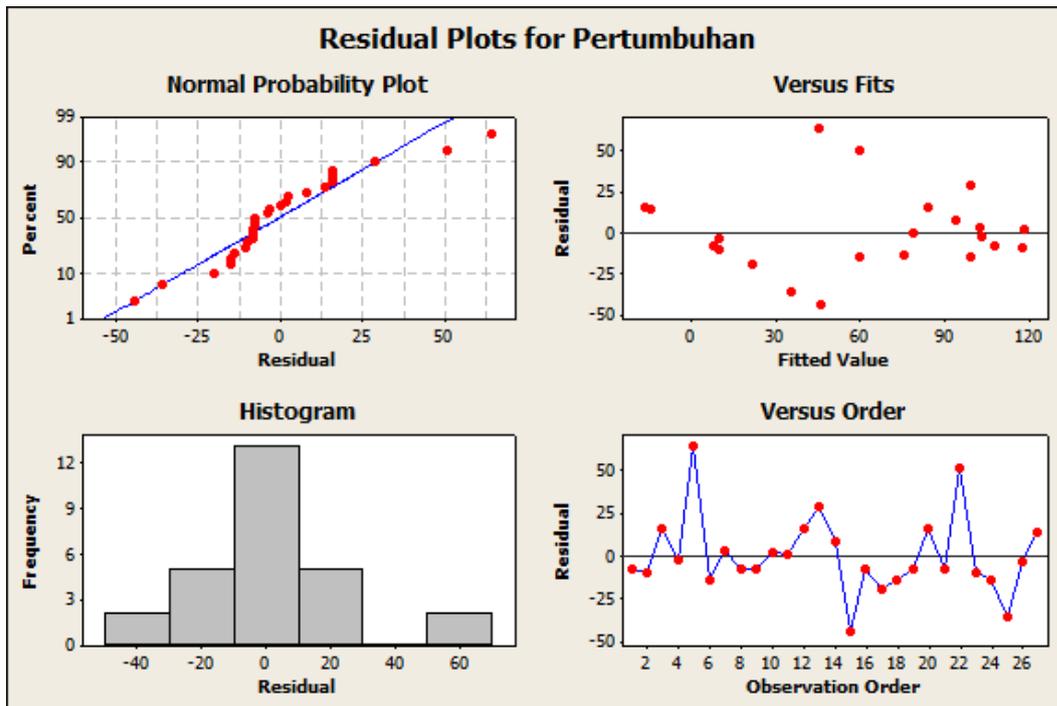
Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

pH	N	Mean	Grouping
5	3	77.7	A
8	18	67.7	A
4	3	5.7	B
3	3	-30.3	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Residual Plots for Pertumbuhan



Kesimpulan

1. *P value* untuk Bakteri menunjukkan nilai 0,144

$P\ value > \alpha$

Gagal Tolak H_0

Jenis Bakteri tidak berpengaruh terhadap persentase pertumbuhan

2. *P value* untuk pH menunjukkan nilai 0,000

$P\ value < \alpha$

Tolak H_0

Variasi pH berpengaruh terhadap persentase pertumbuhan

Uji Lanjut

1. Variasi jenis bakteri menunjukkan hasil yang tidak signifikan terhadap respons.
2. Beda signifikan didapatkan pada Grup A (pH 5 dan 8) dan Grup B (pH 4 dan 3).
3. Beda signifikan didapatkan pada Grup A (Konsentrasi 0, 50, 100) dan Grup B (Konsentrasi 250 dan 500). Konsentrasi 100 dan 250 memiliki kecenderungan respons yang sama.

LAMPIRAN 8

Uji ANOVA untuk Hasil Bio-proses Aluminium

Faktor:

A: Jenis Bakteri = 3 Level

B: pH = 2 Level

Blok:

C: Konsentrasi Aluminium = 2 Level

Perlakuan: Kombinasi antara faktor dalam setiap level

Respon: Persentase penyisihan aluminium

Model matematis yang digunakan dalam uji ini adalah:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \rho_k + \varepsilon_{ijkl}$$

Dengan nilai:

i = 1, 2, 3

j = 1, 2

k = 1, 2

l = 1, 2

Dimana:

Y_{ijkl} : Nilai pengamatan pada faktor A level ke-i, faktor B level ke-j, dan kelompok ke-k dengan ulangan l

μ : Rataan umum

α_i : Pengaruh utama faktor A (Jenis Bakteri) level ke-i

β_j : Pengaruh utama faktor B (pH) level ke-j

$(\alpha\beta)_{ij}$: Pengaruh interaksi faktor A level ke-i, faktor B level ke-j

ρ_k : Pengaruh kelompok (Konsentrasi Al) ke-k

ε_{ijkl} : Pengaruh acak, $\varepsilon_{ijkl} \sim N(0, \sigma^2)$

Hipotesis

Pengaruh Utama Faktor A:

$H_0: \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3 = 0$ (faktor A tidak berpengaruh terhadap respon)

H_1 : paling sedikit ada satu i dimana $\alpha_i \neq 0$

Pengaruh Utama Faktor B:

Ho: $\beta_1 = \beta_2 = 0$ (faktor B tidak berpengaruh terhadap respon)

H1: paling sedikit ada satu j dimana $\beta_j \neq 0$

Pengaruh Interaksi AB:

Ho: $(\alpha\beta)_{11} = (\alpha\beta)_{12} = (\alpha\beta)_{13} = (\alpha\beta)_{21} = (\alpha\beta)_{22} = (\alpha\beta)_{23} = 0$ (interaksi faktor dan faktor B tidak berpengaruh terhadap respon)

H1: paling sedikit ada sepasang (i,j) dimana $(\tau\beta)_{ij} \neq 0$

Tolak Ho: Jika $F_o > F$ (alpha, df1, df2) atau Jika P-value < alpha

Rancangan Acak Kelompok:

Bakteri	pH	Blok Konsentrasi Al	Removal
1	8	0	1.30
0	5	0	1.30
1	5	0	-1.32
1	8	0	1.30
2	5	0	-1.47
0	5	100	6.28
0	5	100	9.49
0	8	0	3.90
2	8	0	11.36
1	8	100	50.90
2	8	100	50.31
1	5	100	59.49
2	5	100	53.60
1	8	100	50.94
1	5	100	59.95
2	8	100	48.88
0	8	100	16.12
0	8	100	18.00
2	8	0	-19.70
2	5	100	54.13
0	8	0	-11.76
0	5	0	1.28
2	5	0	0.00
1	5	0	-1.30

General Linear Model: Removal versus Bakteri, pH, Blok Konsentrasi Al

Factor	Type	Levels	Values
Bakteri	fixed	3	0, 1, 2
pH	fixed	2	5, 8
Blok Konsentrasi Al	fixed	2	0, 100

Analysis of Variance for Removal, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Bakteri	2	2293.9	2293.9	1146.9	6.45	0.008
pH	1	16.5	16.5	16.5	0.09	0.764
Blok Konsentrasi Al	1	10135.2	10135.2	10135.2	57.02	0.000
Bakteri*pH	2	40.2	40.2	20.1	0.11	0.894
Error	17	3021.5	3021.5	177.7		
Total	23	15507.3				

S = 13.3317 R-Sq = 80.52% R-Sq(adj) = 73.64%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Bakteri	N	Mean	Grouping
1	8	27.7	A
2	8	24.6	A
0	8	5.6	B

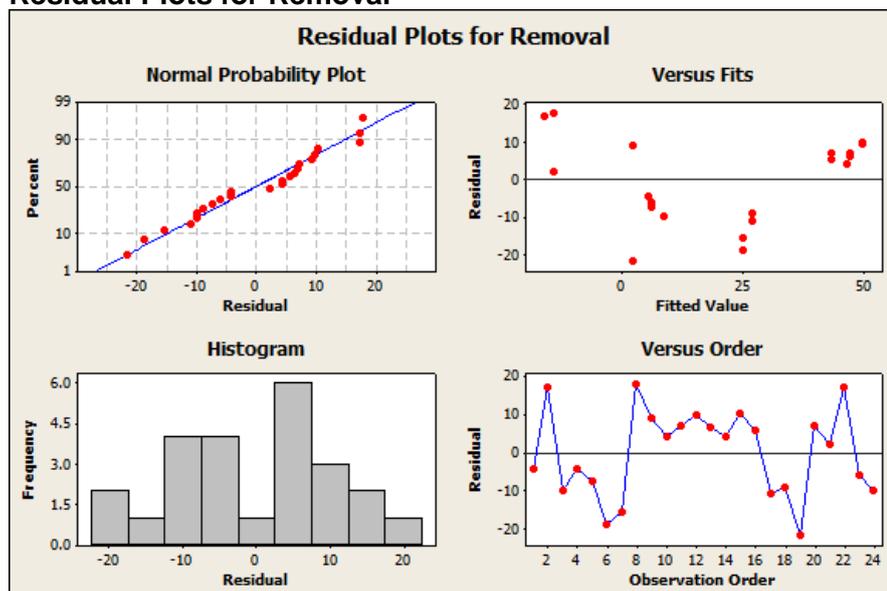
Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

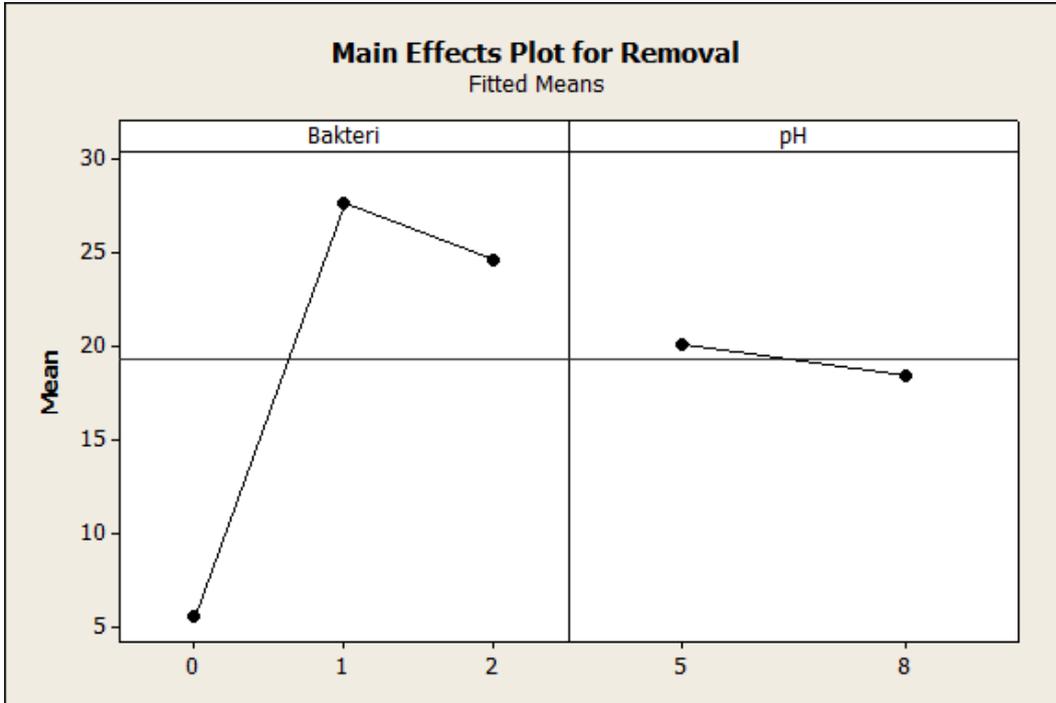
pH	N	Mean	Grouping
5	12	20.1	A
8	12	18.5	A

Means that do not share a letter are significantly different.

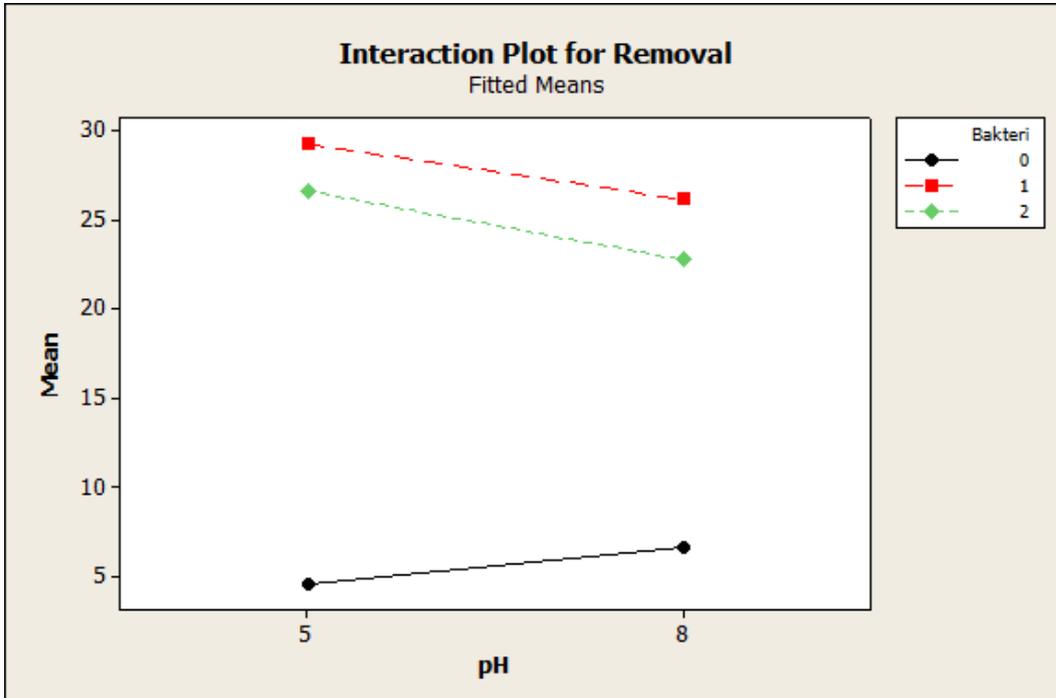
Residual Plots for Removal



Main Effects Plot for Removal



Interaction Plot for Removal



Kesimpulan

1. *P value* untuk Bakteri menunjukkan nilai 0,008

$P\ value < \alpha$

Tolak H0

Jenis Bakteri berpengaruh terhadap persentase penyisihan aluminium

2. *P value* untuk pH menunjukkan nilai 0,764

P value > α

Gagal Tolak H0

Variasi pH tidak berpengaruh terhadap persentase penyisihan aluminium

3. *P value* untuk Bakteri*pH menunjukkan nilai 0,894

P value > α

Gagal Tolak H0

Interaksi antara jenis bakteri dan variasi pH tidak berpengaruh terhadap persentase penyisihan aluminium

Uji Lanjut

1. Didapatkan perbedaan signifikan antara reaktor dengan dan tanpa bakteri, namun kedua jenis bakteri tidak menunjukkan perbedaan hasil yang signifikan terhadap respons.
2. Variasi pH tidak menunjukkan perbedaan hasil yang signifikan terhadap respons.

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BIOGRAFI PENULIS



Penulis memiliki nama lengkap Setyo Budi Kurniawan. Penulis lahir di Pare, Kediri pada tanggal 13 Maret 1994. Penulis mengenyam pendidikan dasar pada tahun 2000- 2006 di SDN Kepanjen 2 Jombang. Penulis kemudian melanjutkan pendidikan SLTP di SMPN 2 Jombang pada tahun 2006-2009. Pendidikan SLTA dijalani oleh penulis pada tahun 2009-2012 di SMAN 3 Jombang. Penulis kemudian melanjutkan studi di Jurusan Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Institut Teknologi Sepuluh Nopember dan lulus dengan predikat pujian pada tanggal 19 Maret 2016.

Penulis terdaftar sebagai mahasiswa magister di Departemen Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil, Lingkungan dan Kebumihan, ITS dengan NRP 03211650010007 terhitung mulai tanggal 23 Agustus 2016. Penulis merupakan penerima beasiswa LPDP PK-77. Selama perkuliahan magister, penulis aktif di beberapa penelitian yang berkaitan dengan remediasi lingkungan dan pengolahan limbah secara biologis. Penulis sangat menghargai adanya saran dan masukan yang membangun. Penulis dapat dihubungi melalui *email* dengan alamat setyobudi.kurniawan@gmail.com.

(Halaman ini sengaja dikosongkan)