



TUGAS AKHIR -RE 141581

**UJI KEMAMPUAN BAKTERI *Bacillus S1* dan
Azotobacter S8 UNTUK MEREMOVAL
LOGAM BERAT KROMIUM (Cr^{3+})**

SILFIYAH YUNITA
NRP 3310 100 105

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

JURUSAN TEKNIK LINGKUNGAN
Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2015



TUGAS AKHIR -RE 141581

**POTENTIAL TEST OF BACTERIA *Bacillus S1*
AND *Azotobacter S8* FOR CHROMIUM
(Cr³⁺) REMOVAL**

SILFIYAH YUNITA
NRP 3310 100 105

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

JURUSAN TEKNIK LINGKUNGAN
Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2015

LEMBAR PENGESAHAN

UJI KEMAMPUAN *BAKTERI Bacillus S1* DAN *Azotobacter S8* UNTUK MEREMOVAL LOGAM BERAT KROMIUM (Cr^{3+})

TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana
Pada

Pada Program Studi S-1 Jurusan Teknik Lingkungan
Fakultas Teknik Sipil Dan Perencanaan
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh :

SILFIYAH YUNITA

NRP. 3310 100 105

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir :



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

NIP. 197111142003122001

SURABAYA, JULI 2014



ABSTRACT

Bacillus S1 and *Azotobacter S8* are heavy metal resistant bacteria. They are potentially used as bio-sorbent and bio-accumulator for bio-remediating chromium pollution. The purpose of this study was to determine the heavy metal removal ability of *Azotobacter S8* and *Bacillus S1*, and the influence of salinity on the trivalent chromium removal efficiency.

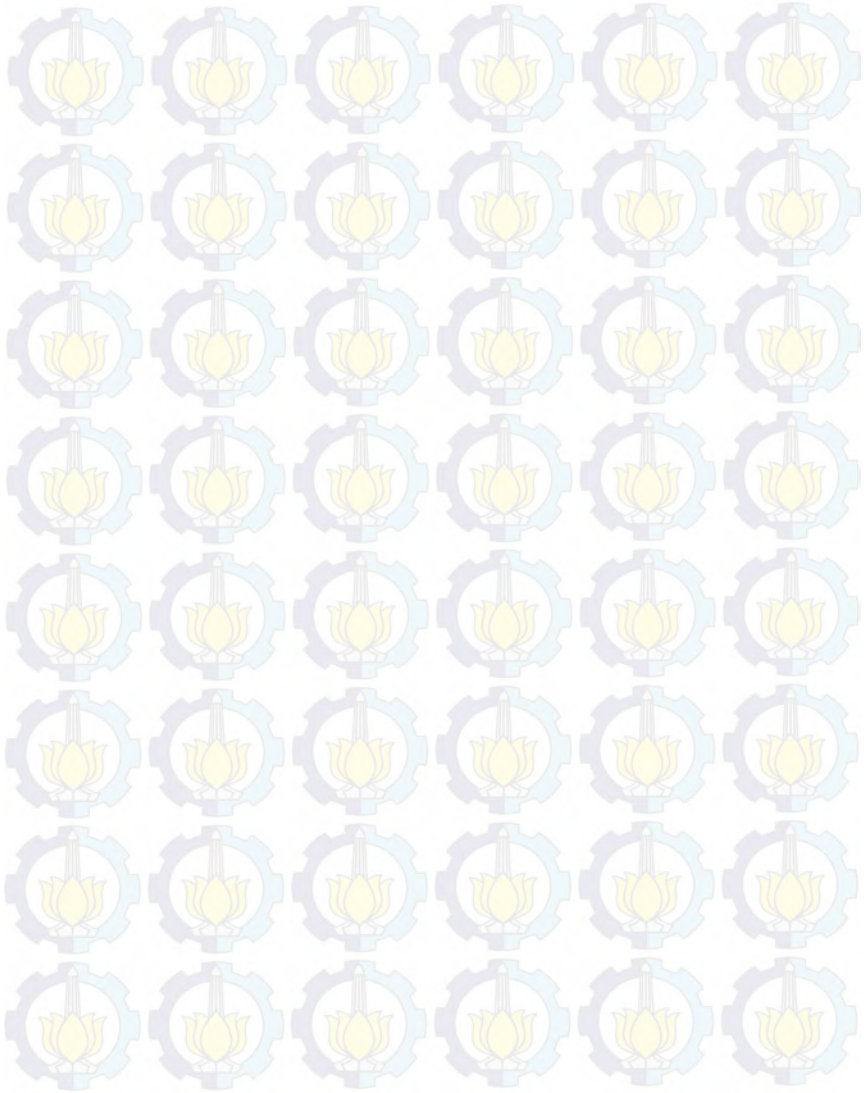
Bacterial isolates used are *Bacillus S1* and *Azotobacter S8* which taken from Laboratory of Microbiology and Biotechnology, Department of Biological Science ITS collections. *Bacillus S1* is bacteria which isolated from Kalimas, Surabaya. Bacterial growth was analyzed by measuring Optical Density (OD) using spectrophotometer method to make the growth curve. Total trivalent chromium sorption was analyzed using Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) method at the beginning, middle and end of bio-sorption test. Parameters analyzed in this study were OD, temperature, pH, amount of bacterial colonies (CFU/mL), bacterial dry weight and total chromium. The initial concentrations of chromium given are 50 mg/L, 75 mg/L and 100 mg/L as trivalent chromium. Concentration of salinity was given to the isolates as variation and the chromium sorption was analyzed to determine the influence of salinity on the chromium removal efficiency.

Based on this study, *Azotobacter S8* can remove trivalent chromium (Cr^{3+}) up to 46.95%, while *Bacillus S1* reaches 42.96% on the Tanpa-salinity conditions with initial trivalent chromium concentration of 50 mg/L.

Salinity has no influence on the chromium removal.

Keywords: *Bacillus S1*, *S8 Azotobacter*, chromium resistant bacteria, chromium (Cr)

“Halaman ini sengaja dikosongkan “



KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur dipanjatkan kepada Allah SWT karena berkat rahmat dan ridhonya, Tugas Akhir berjudul “**Uji Kemampuan Bakteri *Bacillus S1* dan *Azotobacter S8* untuk Meremoval Logam Berat Kromium (Cr^{3+})**” dapat diselesaikan.

Dalam penyusunan Tugas Akhir ini, disampaikan terima kasih kepada :

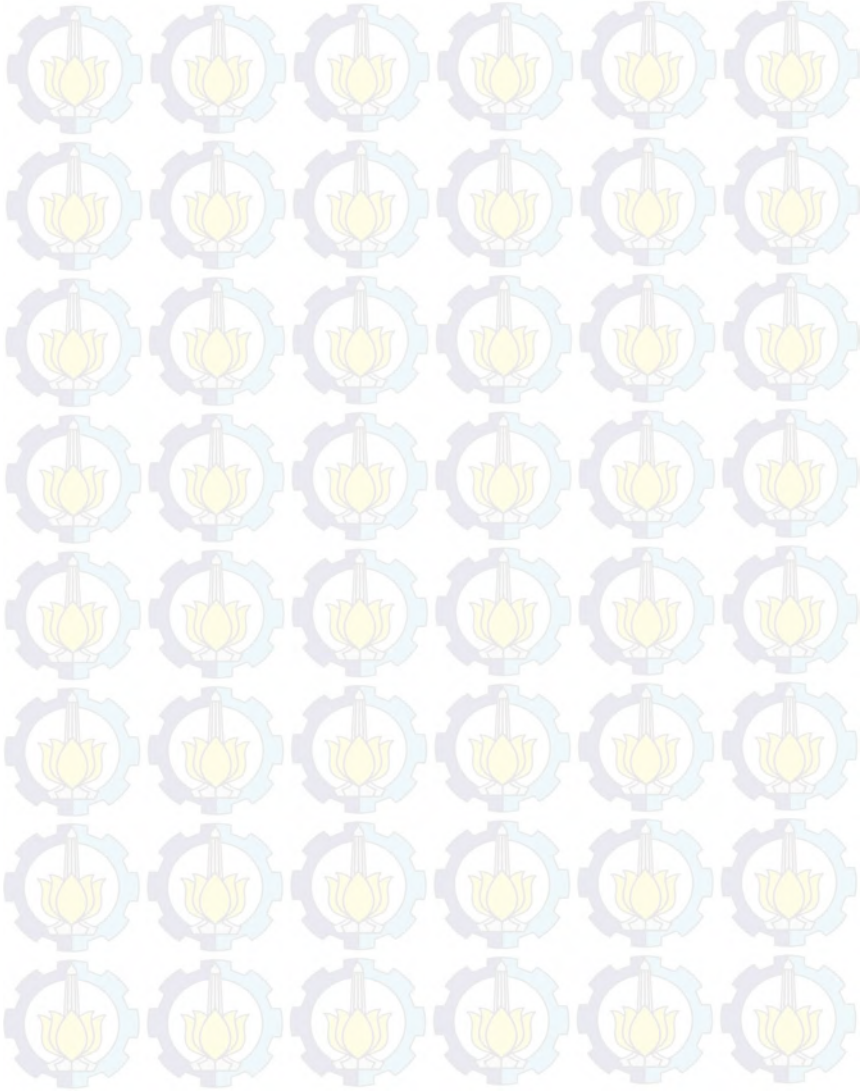
1. Ipung Fitri Purwanti, S.T, M.T, Ph.D., selaku dosen pembimbing yang telah memberikan arahan, bimbingan, dukungan dan ilmu yang bermanfaat selama penyusunan Tugas Akhir.
2. Alfian Purnomo, S.T, M.T, dan Bieby Voijant T., S.T., M.T., Ph.D, selaku dosen penguji, terima kasih atas arahan dan masukan yang diberikan, serta Welly Herumurti, ST., M.Sc., selaku dosen penguji dan dosen wali, atas segala pengarahan, perhatian yang diberikan.
3. Dr. Enny Zulaika, M.P. selaku dosen biologi yang berkenan memberikan bimbingan.
4. Nengah Dwianita Kuswytasari, S.Si.,M.Si, selaku Kepala Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, Jurusan Biologi, FMIPA, ITS Surabaya, terima kasih atas isolat bakteri yang direkomendasikan.
5. Keluarga, yang telah menjadi motivasi dan mendukung dalam penyelesaian tugas akhir ini.
6. *Partner* dan teman sepembimbing Tugas Akhir yang telah membantu, Anindita Meitamasari, dan Jayanti Rusyda.
7. Natalia D.T dan Fahir Hassan, terima kasih telah membantu dan memberikan dukungan selama proses pembuatan Tugas Akhir berlangsung.

Dalam penyusunan laporan Tugas Akhir ini, disadari masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu saran dan kritik membangun sangat diharapkan untuk memperbaiki diri dikemudian hari.

Surabaya, Mei 2014

Penyusun

“Halaman ini sengaja dikosongkan”



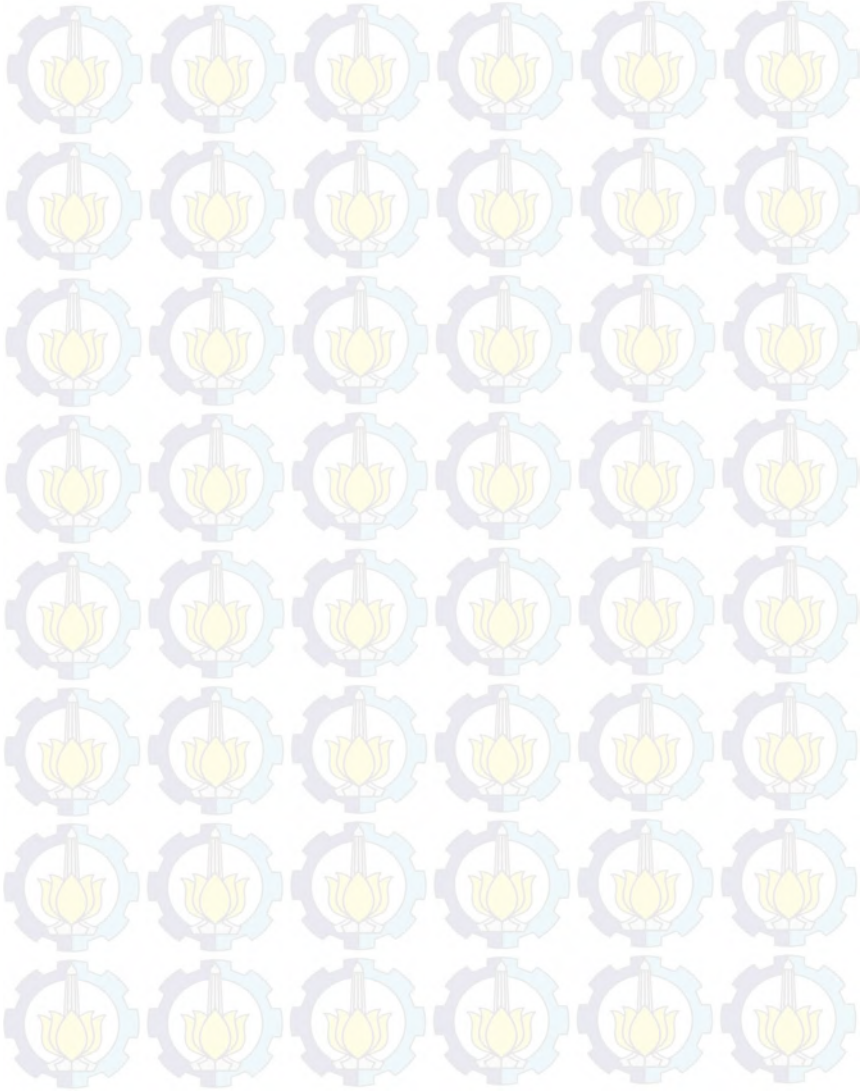
DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	3
1.5 Ruang Lingkup	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Logam Berat	5
2.2 Logam Berat Kromium (Cr)	5
2.3 <i>Sodium Chloride</i> (NaCl)	7
2.4 Pencemaran Logam Berat	8
2.5 <i>Bacillus sp.</i>	9
2.6 <i>Azotobacter sp.</i>	11
2.7 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroorganisme	12
2.7.1 Suhu	12
2.7.2 Kondisi Atmosferik	13
2.7.3 pH	13
2.7.4 Tekanan Osmosis	14
2.8 Mekanisme Biosorpsi oleh Bakteri	14

2.9	Laju Pertumbuhan Mikroorganisme	15
2.10	<i>Atomic Absorbtion Spectrophotometer (AAS)</i>	16
2.11	Penelitian Terdahulu	17
2.11.1	<i>Azotobacter S8</i>	18
2.11.2	<i>Bacillus S1</i>	18
2.11.3	Konsentrasi Salinitas	19
BAB 3 METODE PENELITIAN		21
3.1	Kerangka Penelitian	21
3.2	Ide Penelitian.....	23
3.3	Langkah Penelitian.....	23
3.3.1	Studi Literatur	24
3.3.2	Persiapan Penelitian.....	24
3.3.3	Penelitian Pendahuluan.....	27
3.3.4	Peremajaan Isolat Bakteri	29
3.3.5	Uji Laju Pertumbuhan Bakteri.....	29
3.3.6	Tahap Uji Biosorpsi Logam Berat Kromium (Cr ³⁺)	30
3.3.7	Analisis dan Pembahasan	37
3.3.8	Kesimpulan dan Saran	38
BAB 4 ANALISIS DAN PEMBAHASAN		39
4.1	Penelitian Pendahuluan	39
4.1.1	Laju Pertumbuhan Bakteri.....	39
4.1.2	Uji Konsentrasi Salinitas.....	43
4.1.3	Uji Konsentrasi Kromium (Cr).....	45
4.2	Penelitian Utama Uji Biosorpsi.....	45

4.2.1	Uji Laju Pertumbuhan Bakteri (jam ke 0 –jam ke 4).....	46
	pH dan Suhu.....	46
4.2.2	Uji Biosorpsi (jam ke 4-jam ke 8).....	57
4.2.2.1	Suhu	57
4.2.2.2	pH.....	59
4.2.2.3	<i>Optical Density</i> (OD)	62
4.2.2.4	Total kromium.....	68
4.2.2.5	Berat Kering Bakteri	72
4.2.2.6	Jumlah Koloni Bakteri.....	74
4.2.3	Hubungan Prosentase Removal Kromium (Cr^{3+}) (%) dengan Waktu Uji Biosorpsi Terhadap Bakteri Uji.....	78
4.2.4	Hubungan Prosentase Removal Kromium (Cr^{3+}) (%) dengan Konsentrasi Kromium (Cr^{3+}) yang Diberikan Terhadap Bakteri Uji.	82
4.2.5	Hubungan Konsentrasi Kromium Trivaen (Cr^{3+}) dengan Berat Kering Bakteri	84
4.2.6	Hubungan Konsentrasi Kromium Trivalen (Cr^{3+}) dengan Jumlah Koloni Bakteri.....	84
4.2.7	Hubungan Konsentrasi Kromium Trivalen (Cr^{3+}) dengan Berat Kering Bakteri dan Jumlah Koloni Bakteri.....	85
4.2.8	Pengaruh Salinitas terhadap Efektifitas Penyisihan Kromium Trivalen (Cr^{3+}).....	85
	BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	87
	DAFTAR PUSTAKA	88
	LAMPIRAN A DATA PENELITIAN	93
	LAMPIRAN B DOKUMENTASI PENELITIAN.....	99

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

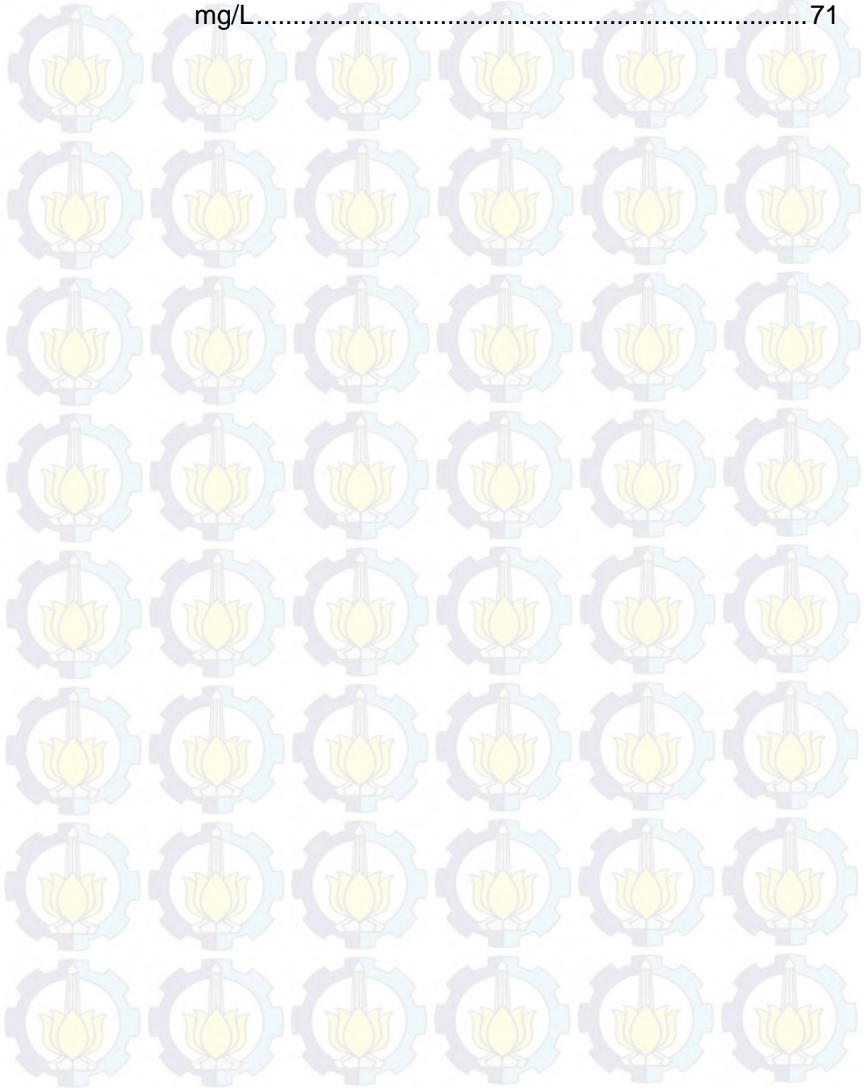


DAFTAR TABEL

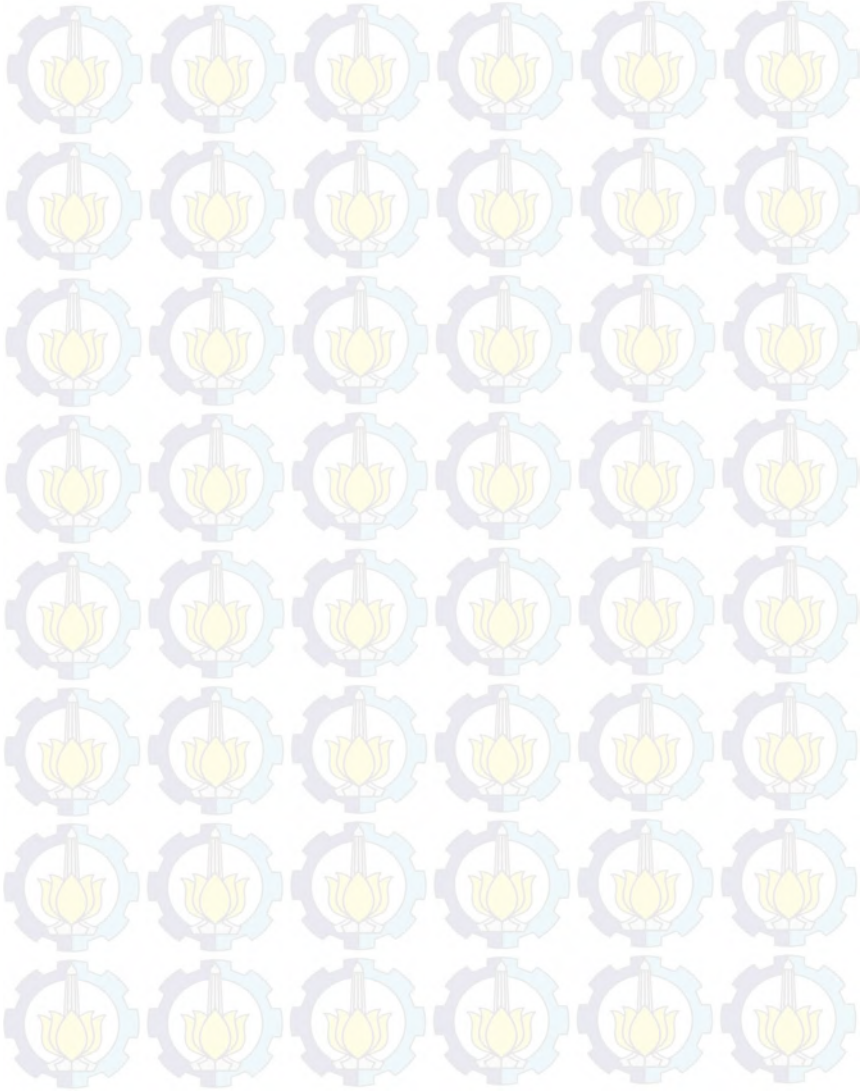
Tabel 2. 1 Batas Kritis Logam Berat Dalam Tanah, Air dan Tumbuhan.....	8
Tabel 2. 2 Persentase (%) pertumbuhan <i>Bacillus</i> pada medium mengandung merkuri.....	18
Tabel 3. 1 Jenis Perlakuan Antara Variasi Konsentrasi dengan Variasi Salinitas	31
Tabel 4. 1 Laju Pertumbuhan Bakteri.....	39
Tabel 4. 2 pH pada Laju Pertumbuhan Bakteri	41
Tabel 4. 3 Parameter Suhu pada Laju Pertumbuhan Bakteri	42
Tabel 4. 4 Hasil Analisis pH Pada Variasi Konsentrasi Kromium 50 mg/L dan 75 mg/L.....	46
Tabel 4.5 Analisis pH Pada Variasi Konsentrasi Kromium 100 mg/L.....	48
Tabel 4. 6 Hasil Analisis Suhu Pada Variasi Konsentrasi Kromium 50 mg/L, 75 mg/L ,100 mg/L.....	49
Tabel 4.7 Hasil Analisis Optical Density (OD) Pada Variasi Konsentrasi Kromium 50 mg/L dengan Perlakuan Salin.....	51
Tabel 4.8 Hasil Analisis <i>Optical Density</i> (OD) Pada Variasi Konsentrasi Kromium 50 mg/L dengan Perlakuan Tanpa Salin.....	51
Tabel 4.9 Hasil Analisis <i>Optical Density</i> (OD) Pada Variasi Konsentrasi Kromium 75 mg/L dengan Perlakuan Tanpa Salin.....	53
Tabel 4.10 Hasil Analisis <i>Optical Density</i> (OD) Pada Variasi Konsentrasi Kromium 75 mg/L dengan Perlakuan Salin.....	53
Tabel 4.11 Hasil Analisis <i>Optical Density</i> (OD) Pada Variasi Konsentrasi Kromium 100 mg/L dengan Perlakuan Tanpa Salin.....	55
Tabel 4.12 Hasil Analisis <i>Optical Density</i> (OD) Pada Variasi Konsentrasi Kromium 100 mg/L dengan Perlakuan Salin.....	55

Tabel 4.13 Hasil Analisis Suhu Pada Variasi Konsentrasi Kromium 50 mg/L, 75 mg/L dan 100 mg/L dengan perlakuan Salin dan tanpa Salin.....	58
Tabel 4.14 Hasil Analisis pH Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 50 mg/L dan 75 mg/L perlakuan Salin	60
Tabel 4.15 Hasil Analisis pH Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 50 mg/L dan 75 mg/L Perlakuan Tanpa Salin.....	60
Tabel 4.16 Hasil Analisis pH Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 100 mg/L Perlakuan Salin dan Tanpa Salin ..	62
Tabel 4.17 Hasil Analisis <i>Optical Density (OD)</i> Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 50 mg/L Perlakuan alin	63
Tabel 4.18 Hasil Analisis <i>Optical Density (OD)</i> Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 50 mg/L Perlakuan Tanpa Salin.....	63
Tabel 4.19 Hasil Analisis <i>Optical Density (OD)</i> Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 75 mg/L Perlakuan Tanpa Salin.....	65
Tabel 4.20 Hasil Analisis <i>Optical Density (OD)</i> Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 75 mg/L Perlakuan Tanpa Salin.....	65
Tabel 4.21 Hasil Analisis <i>Optical Density (OD)</i> Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 100 mg/L Perlakuan Tanpa Salin.....	66
Tabel 4.22 Hasil Analisis <i>Optical Density (OD)</i> Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 100 mg/L Perlakuan Tanpa Salin.....	67
Tabel 4.23 Hasil Analisis Total Kromium pada Konsentrasi 50mg/L.....	69
Tabel 4.24 Hasil Analisis Total Kromium pada Konsentrasi 75mg/L.....	69
Tabel 4.25 Hasil Analisis Total Kromium pada Konsentrasi 100mg/L.....	69
Tabel 4. 26 Hasil Analisis Prosentase (%) Total Kromium Pada Konsentrasi 100 mg/L dengan Konsentrasi Awal 50 mg/L.....	70
Tabel 4.27 Hasil Analisis Prosentase (%) Total Kromium Pada Konsentrasi 200 mg/L dengan Konsentrasi Awal 75 mg/L.....	71

Tabel 4. 28 Hasil Analisis Prosentase (%) Total Kromium Pada Konsentrasi 250 mg/L dengan Konsentrasi Awal 100 mg/L.....71



“Halaman ini sengaja dikosongkan”



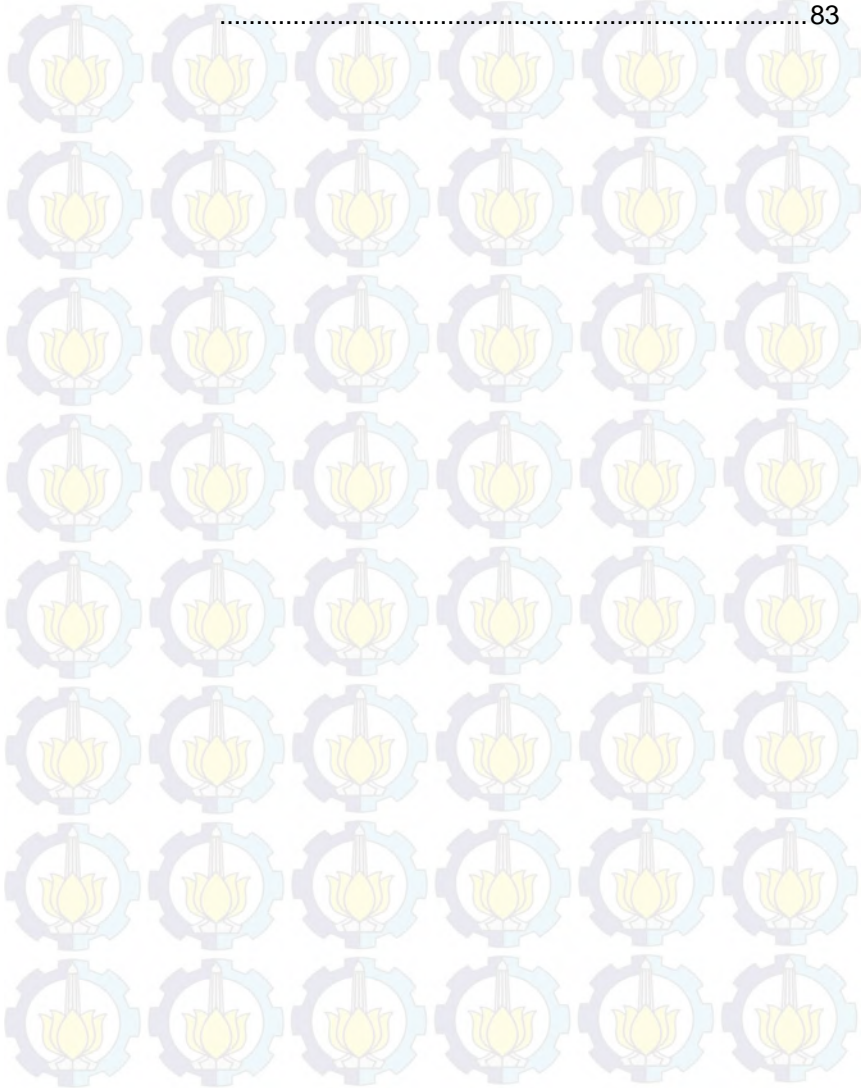
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 <i>Chromium III Chloride</i>	6
Gambar 2. 2 <i>Sodium Chloride</i>	7
Gambar 2. 3 <i>Bacillus S1</i>	11
Gambar 2. 4 <i>Azotobacter S8</i>	12
Gambar 2. 5 Kurva Pertumbuhan mikroorganism.....	15
Gambar 3. 1 Kerangka Metode Penelitian.....	22
Gambar 3. 2 Reaktor yang digunakan untuk uji biosorpsi konsentrasi C1 mg/L	32
Gambar 3. 3 Reaktor yang digunakan untuk uji biosorpsi konsentrasi C2 mg/L	32
Gambar 3. 3 Reaktor yang digunakan untuk uji biosorpsi konsentrasi C2 mg/L	32
Gambar 3. 4 Reaktor yang digunakan untuk uji biosorpsi konsentrasi C3 mg/L	33
Gambar 4. 1 Hasil Analisa Laju Pertumbuhan Bakteri.....	40
Gambar 4. 2 Grafik Hasil Analisa pH pada Laju Pertumbuhan...	42
Gambar 4. 3 Hasil Analisis Suhu pada Laju Pertumbuhan Bakteri	43
Gambar 4. 4 Uji Konsentrasi Salinitas pada Bakteri <i>Bacillus S1</i>	44
Gambar 4. 5 Uji Konsentrasi Salinitas pada.....	44
Gambar 4. 6 Grafik Hasil Analisis pH dengan Perlakuan Salin dan Tanpa Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium Trivalen 50 mg/L dan 75mg/L	47
Gambar 4. 7 Grafik Hasil Analisis pH dengan Perlakuan Salin dan Tanpa Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium Trivalen 100 mg/L.	49
Gambar 4. 8 Grafik Hasil Analisis Suhu dengan Perlakuan Salin dan Tanpa Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium Trivalen 50 mg/L, 75 mg/L,100 mg/L	50
Gambar 4. 9 Grafik Hasil Analisis <i>Optical Density</i> (OD) Pada Variasi Konsentrasi Kromium Trivalen 50 mg/L.....	52
Gambar 4. 10 Grafik Hasil Analisis <i>Optical Density</i> (OD) dengan Perlakuan Salin dan Tanpa Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium Trivalen 75 mg/L.....	54

Gambar 4. 11 Grafik Hasil Analisis <i>Optical Density (OD)</i> dengan Perlakuan Salin dan Tanpa Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium Trivalen 100 mg/L.....	56
Gambar 4. 12 Grafik Hasil Analisis Suhu dengan Perlakuan Salin dan Tanpa Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 50 mg/L, 75 mg/L dan 100 mg/L.	59
Gambar 4. 13 Grafik Hasil Analisis pH dengan Perlakuan Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 50 mg/L dan 75 mg/L.	60
Gambar 4. 14 Grafik Hasil Analisis pH dengan Perlakuan Tanpa Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 50 mg/L dan 75 mg/L.	61
Gambar 4. 15 Grafik Hasil Analisis pH dengan Perlakuan Tanpa Salin dan Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 100 mg/L.....	62
Gambar 4. 16 Grafik Hasil Analisis pH dengan Perlakuan Tanpa Salin dan Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 50 mg/L.....	64
Gambar 4. 17 Grafik Hasil Analisis pH dengan Perlakuan Tanpa Salin dan Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 75 mg/L.....	66
Gambar 4. 18 Grafik Hasil Analisis pH dengan Perlakuan Tanpa Salin dan Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 100 mg/L.....	68
Gambar 4.19 Grafik Analisis Mengenai Berat Kering Bakteri pada jam ke 0 dan jam ke 4 Pada Masing-Masing Konsentrasi Paparan Kromium	73
Gambar 4.20 Hasil Analisis Jumlah Koloni Bakteri Pada Jam Ke 0 dan Jam Ke 4 Pada Konsentrasi Kromium Trivalen (Cr^{3+}) 100 mg/L, 200 mg/L dan 250 mg/L	77
Gambar 4. 21 Grafik Hasil Analisis Prosentase Kromium Trivalen di Setiap Waktu Sampling Pada perlakuan Salin dengan konsentrasi paparan kromium trivalen yang diberikan.....	79
Gambar 4. 22 Grafik Hasil Analisis Prosentase Kromium Trivalen di Setiap Waktu Sampling pada Perlakuan Tanpa Salin dengan konsentrasi paparan kromium trivalen yang diberikan.....	80

Gambar 4. 23 Hasil Prosentase Kromium dengan konsentrasi Kromium Trivalen 100 mg/L, 200 mg/L dan 250 mg/L

83



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Semakin berkembangnya teknologi, jumlah industri semakin berkembang pula. Hal tersebut terjadi di perkotaan. Jumlah industri yang semakin meningkat mengakibatkan semakin bertambahnya potensi air limbah yang dapat mencemari lingkungan apabila tidak ditangani secara tepat. Perkembangan kegiatan industri akan menimbulkan bertambahnya jenis-jenis limbah yang dihasilkan dan jumlah limbah yang dibuang ke lingkungan akan semakin meningkat, terutama di perairan (Putri, 2008).

Polutan yang dihasilkan dari berbagai kegiatan industri dapat menyebar melalui angin, terlarut dalam air apabila dibuang ke perairan, dan dapat mengendap di dasar perairan (sedimen). Polutan yang dibuang ke perairan dapat terserap oleh tanah yang akan menyebabkan pencemaran pada air tanah. Keberadaan logam di lingkungan sebagian karena proses alam, seperti aktivitas vulkanik dan erosi, tetapi sebagian besar hasil dari limbah industri (S.A. Mansour dan M.M. Sidky, 2002). Limbah industri yang dihasilkan dari kegiatan manusia terjadi karena adanya kegiatan seperti industri penyamakan kulit yang menggunakan kromium sebagai katalis, pembakaran batu bara, industri kertas dll yang dapat meningkatkan pencemaran kromium di lingkungan.

Menurut *USA Environmental Protection Agency* (Velasquez & Dussan, 2009) logam timbal, merkuri, kromium, arsen, tembaga, cobalt, kadmium, seng, nikel, berylium, mangan merupakan logam berat yang sangat toksik. Untuk mendegradasi dan menghilangkan logam berat tersebut tidak semudah mendegradasi limbah organik dikarenakan logam berat bersifat *Tanpabiodegradable* (Gupta dan Rastogi, 2008). Namun untuk mendegradasi dan mereduksi logam berat tetap dilakukan yaitu dengan cara fisik dan kimia melalui pertukaran ion, presipitasi, koagulasi, *inverse osmosis*, dan adsorpsi. Metode-metode

tersebut cukup efisien dalam mengolah limbah industri, namun akan sangat merugikan karena biaya yang dibutuhkan relatif mahal, membutuhkan energi dan bahan kimia yang cukup besar. Menurut Malik (2004), pendekatan secara bioteknologi dengan menggunakan bakteri merupakan alternatif yang dapat dilakukan untuk masa yang akan datang dan merupakan rekayasa yang cukup menjanjikan dikarenakan sangat menguntungkan baik dari segi teknis maupun ekonomi. Melakukan bioremediasi menggunakan bakteri lebih *feasible* dikarenakan bakteri dapat melakukan mekanisme degradasi dan transformasi logam berat. Salah satu mekanisme tersebut adalah biosorpsi dan bioakumulasi yang tidak akan mempengaruhi daya hidup bakteri tersebut (Vijayaraghavan dan Yun, 2008).

Salah satu mikroorganisme yang memiliki kemampuan dalam memisahkan ion-ion logam berat seperti Ag, Au, Cd, Co, Cu, Fe, Ni, Cr, Zn adalah *Azotobacter S8* (Mawarti, 2005) dan *Bacillus S1* (Zulaika, 2012). *Azotobacter S8* merupakan bakteri yang bersifat kosmopolit dan memiliki resistensi terhadap banyak logam (Sholikhah dan Nengah, 2013). Sehingga bakteri yang dapat memisahkan ion-ion logam tersebut berpotensi digunakan sebagai agen bioremediator pencemaran kromium (Badjoeri, 2008)

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimana kemampuan dalam meremoval logam berat dengan menggunakan *Bacillus S1* dan *Azotobacter S8* ?
2. Bagaimana menentukan pengaruh salinitas terhadap removal logam berat kromium (Cr^{3+})?

1.3 Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Menentukan kemampuan meremoval kandungan logam berat *Bacillus S1* dan *Azotobacter S8* dalam kromium (Cr^{3+}).

2. Menentukan pengaruh salinitas terhadap % removal logam berat kromium (Cr^{3+}).

1.4 Manfaat

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

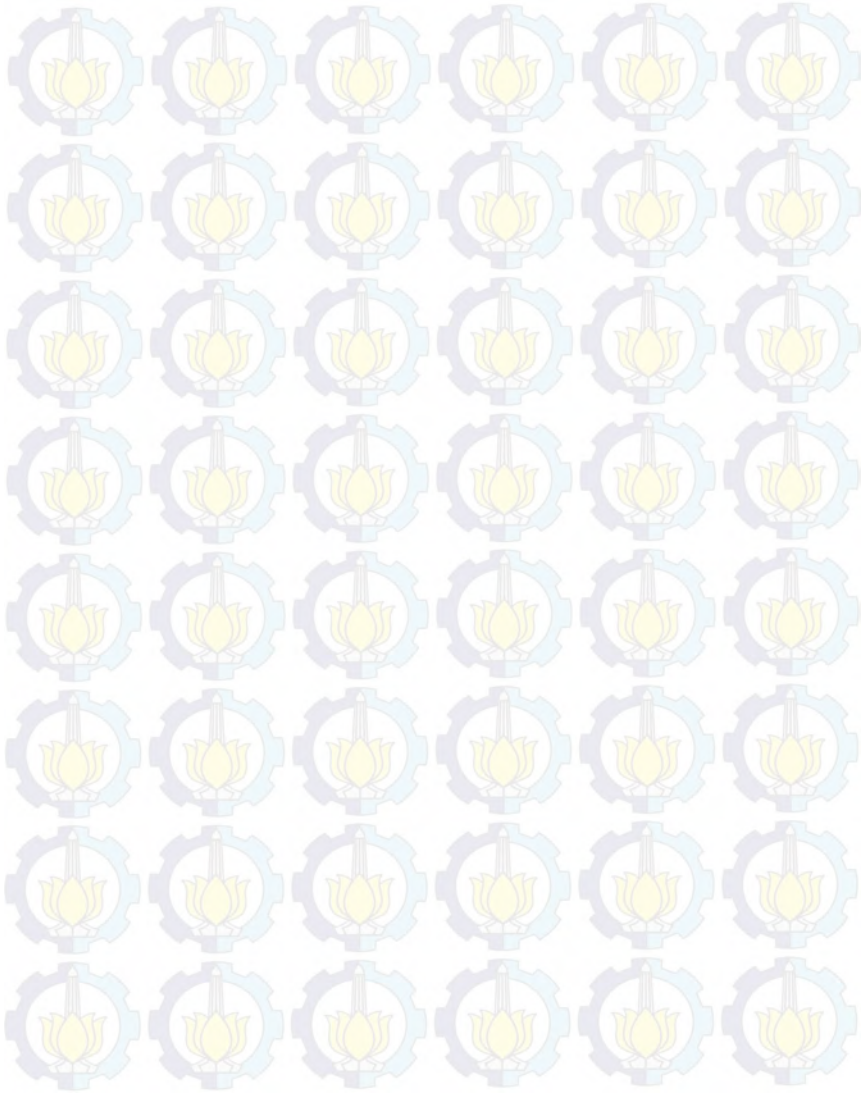
1. Memberikan informasi ilmiah mengenai potensi pemanfaatan mikroorganisme *Bacillus S1* dan *Azotobacter S8* dalam meremoval logam berat kromium (Cr^{3+}).
2. Mengembangkan wawasan dan kemampuan dalam upaya rehabilitasi lingkungan yang tercemar dengan menggunakan metode alami.
3. Menjadi referensi dalam upaya rehabilitasi lingkungan khususnya dengan menggunakan teknik mikroremediasi.

1.5 Ruang Lingkup

Penelitian ini memiliki cakupan ruang lingkup sebagai berikut :

1. Penelitian dilakukan dalam skala laboratorium yang akan dilakukan di Laboratorium Jurusan Teknik Lingkungan, FTSP ITS dan Laboratorium Lingkungan ITS.
2. Variasi dalam penelitian ini adalah jenis mikroorganisme yaitu *Bacillus S1* dan *Aztobacter S8* dan perlakuan pemberian salinitas dan tanpa salinitas.
3. Parameter yang dianalisis dalam penelitian ini adalah :
 - Konsentrasi total kromium (Cr^{3+})
 - pH
 - Suhu ($^{\circ}\text{C}$)
 - *Optical Density (OD)*
 - Jumlah koloni bakteri (CFU/ml)
 - Berat kering bakteri (gram)

“ Halaman ini sengaja dikosongkan “



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Logam Berat

Di muka bumi ini terdapat sedikitnya 80 jenis dari 109 unsur kimia yang telah teridentifikasi sebagai jenis logam berat. Menurut SNI-7387 tahun 2009 logam berat merupakan elemen kimiawi metalik dan metaloida, memiliki bobot atom dan bobot jenis yang tinggi, yang dapat bersifat racun bagi makhluk hidup. Logam berat diklasifikasikan menurut *specific gravity* lebih besar dari 4, memiliki nomer atom 22-34 dan 40-50, termasuk dalam unsur lantanida dan aktinida serta memiliki respon biokimia yang khas terhadap makhluk hidup (Palar H, 2004). Logam berat bersifat *Tanpa-degradable* atau tidak bisa dihancurkan, sehingga menyebabkan logam-logam tersebut terakumulasi ke lingkungan dan membentuk senyawa kompleks bersama bahan organik dan anorganik. Menurut Darmono (1995) logam berat dapat dibedakan menjadi 2 golongan, yaitu:

1. Logam Berat Beracun

Logam berat ini sama sekali tidak boleh masuk ke dalam tubuh makhluk hidup karena dengan konsentrasi yang kecil sudah bersifat toksik. Contoh: Hg, Pb, Cd, Cr.

2. Logam Berat Esensial

Logam berat ini dibutuhkan oleh tubuh makhluk hidup dalam konsentrasi tertentu dan umumnya kecil. Logam berat ini berperan dalam pertumbuhan maupun perkembangan sel-sel tubuh serta diperlukan dalam proses bio-kimia. Akan tetapi apabila jumlahnya berlebih, maka akan meracuni tubuh makhluk hidup. Contoh: Cu, Zn, Ni, Cr.

2.2 Logam Berat Kromium (Cr)

Kromium adalah logam berkilau yang keras berwarna perak abu-abu yang merupakan elemen yang menduduki *group*

VI B pertama pada tabel periodik unsur, yang memiliki nomor atom 24, massa atom 51,99 dan memiliki valensi 1 hingga 6 (Arinda, 2013).

Kromium memiliki berbagai valensi. Pada penelitian ini digunakan pencemar sintetis yaitu *Chromium (III) Chloride* (Gambar 2.1). Menurut Science Lab.com (2014), mengenai *Material Safety Data Sheet Chromium (III) Chloride Hexahydrate*, kromium dengan valensi tiga ini memiliki sifat fisik dan kimia sebagai berikut :

Bentuk fisik : Padat
Mr : 266,45 g/mol
Warna : *Greenish-Black to violet*
Titik leleh : 83°C (181,4°F)
Desnsitas : 1,76



Gambar 2. 1 *Chromium (III) Chloride*

Logam berat kromium terdapat di alam bebas baik secara alami ataupun karena pengaruh kegiatan manusia. Logam kromium dapat sangat berbahaya bagi makhluk hidup dikarenakan sifatnya yang toksik. Logam kromium juga dibutuhkan oleh tubuh manusia sebagai mineral-mineral yang membantu dalam proses metabolisme tubuh, namun yang dibutuhkan hanya sedikit. Jika kromium yang dikonsumsi oleh manusia berlebih maka akan terjadi bioakumulasi terhadap

jaringan tubuh yang dapat menyebabkan keracunan bahkan kematian. Keracunan tubuh manusia terhadap kromium dapat berakibat buruk terhadap saluran pernapasan, kulit, pembuluh darah dan ginjal. Efek yang ditimbulkan kromium (Cr) terhadap sistem saluran pernafasan (*Respiratory sistem effect*), berupa kanker paru dan ulkus kronis/perforasi pada septum nasal. Pada kulit (*skin effect*) menyebabkan ulkus kronis pada permukaan kulit. Pada pembuluh darah (*vascular effect*) efek yang ditimbulkan berupa penebalan plak oleh pembuluh aorta. Sedangkan pada ginjal (*Kidney effect*) akibat yang ditimbulkan adalah kelainan berupa nekrosis tubulus ginjal.

2.3 **Sodium Chloride (NaCl)**

Sodium Chloride merupakan dua komponen yang paling banyak terdapat pada garam. Garam (NaCl) adalah salah satu mineral yang dibutuhkan oleh makhluk hidup dalam jumlah sedikit.



Gambar 2. 2 *Sodium Chloride*

Menurut Wood (2014), *Sodium Chloride* memiliki sifat fisik dan kimia sebagai berikut :

Ciri-ciri fisik : padat seperti bubuk kristal, berwarna putih dan memiliki rasa asin (Gambar 2.2)

Rumus Kimia : NaCl

Berat jenis : 2,165 (Air =1)

Berat Molekul : 58,443 g/mol

Titik leleh : 801°C (1,474° F)
Titik didih : 1413° C (2575,4° F)

Sodium Chloride ini mudah larut dalam air dingin dan air panas. Selain itu dapat larut dalam gliserol, amonia dan asam klorida. Namun tidak mudah larut dalam larutan alkhohol. *Sodium chloride* dapat memberikan efek mutagenik pada bakteri. Sedangkan dapat berbahaya jika terjadi kontak kulit, mata (iritan) dan menelan (inhalasi) pada manusia.

2.4 Pencemaran Logam Berat

Pencemaran logam berat dapat terjadi di tanah air dan udara. Secara alami logam mengalami siklus perputaran dari kerak bumi ke lapisan tanah, ke dalam makhluk hidup, ke dalam kolam air, mengendap dan akhirnya kembali lagi kedalam kerak bumi, tetapi kandungan alamiah logam berubah-ubah tergantung pada kadar pencemaran yang dihasilkan manusia maupun karena erosi alami. . Dalam aliran air sungai timbal berasal dari limbah cair industri yang dibuang ke sungai, jenis industri yang menggunakan timbal dalam prosesnya seperti, industri pengolahan logam, kertas, batere, elektronik dan sebagainya. Menurut Charlena (2004) logam berat yang memasuki tanah menjadi logam berat yang beracun bagi makhluk hidup. Logam berat yang masuk ke dalam tanah melalui penimbunan debu, intrusi air laut, hujan atau pengendapan, pengikisan tanah, udara dan juga limbah buangan (sampah). Interaksi logam berat dan tanah dipengaruhi oleh tiga hal yaitu proses sorbsi atau desorbsi, difusi pencucian dan degradasi. Batas kritis kandungan logam berat di dalam tanah, air dan tumbuhan dapat dilihat pada Tabel 2.1

Tabel 2. 1 Batas Kritis Logam Berat Dalam Tanah, Air dan Tumbuhan

Logam Berat	Tanah (ppm)	Air (ppm)	Tumbuhan (ppm)
Pb	100	0,03	50
Cd	0,5	0,05-0,1	5-30
Co	10	0,4-0,6	15-30

Logam Berat	Tanah (ppm)	Air (ppm)	Tumbuhan (ppm)
Cr	2,5	0,5-1,0	5-30
Ni	50	0,2-0,5	5-30
Cu	60-125	2-3	20-100
Mn	1500	-	-
Zn	70	5-10	100-400

Sumber : Ministry of State for Population and Environmental of Indonesia, and Dalhousie, University Canada (1992).

2.5 *Bacillus sp.*

Bacillus merupakan bakteri yang cukup melimpah di alam, dapat diisolasi dari berbagai habitat termasuk lingkungan yang tercemar logam berat merkuri. *Bacillus* merupakan bakteri yang bersifat kosmopolit dan memiliki resistensi terhadap banyak logam berat seperti kromium (Cr), arsen, selenium (Sholikah, dan Nengah, 2013). Bakteri bersifat kosmopolit merupakan bakteri yang dapat hidup di berbagai lingkungan, seperti di tubuh organisme, di air, tanah dan lain sebagainya.

Bacillus merupakan bakteri yang berbentuk batang yang dapat dijumpai di tanah dan air termasuk pada air laut. Beberapa jenis menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat menghidrolisis protein dan polisakarid kompleks.

Marga *Bacillus* merupakan salah satu bakteri yang memiliki berbagai macam kemampuan yang dapat dikembangkan dalam skala industri. *Bacillus sp* sangat potensial untuk dikembangkan dalam industri bioteknologi karena memiliki sifat-sifat seperti memiliki kisaran suhu pertumbuhan yang luas, pembentuk spora, kosmopolit tahan terhadap senyawa-senyawa antiseptik, bersifat aerob atau fakultatif aerob, memiliki kemampuan enzimatik yang beragam dan beberapa diantaranya mampu melakukan biodegradasi terhadap banyak senyawa rekalsitran dan xenobiotik.

Marga *Bacillus* merupakan salah satu dari enam bakteri penghasil endospora. Endospora tersebut berbentuk bulat, oval,

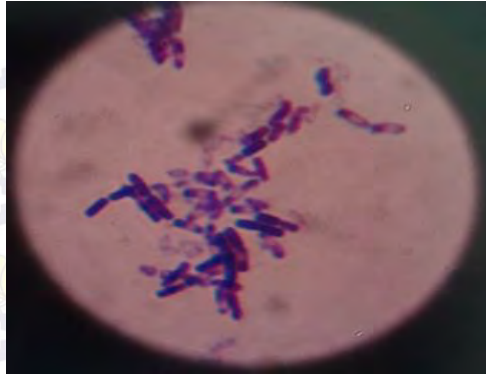
elips atau silinder yang terbentuk dalam sel vegetatif. Endospora tersebut membedakan *Bacillus* dari tipe-tipe bakteri pembentuk endospora. Spora *Bacillus* pertama kali dideskripsikan oleh Cohn pada tahun 1872 pada *Bacillus subtilis* yang semula disebut *Vibrio subtilis*.

Adapun klasifikasi bakteri *Bacillus Sp.* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Klas : *Bacilli*
Ordo : *Bacillales*
Famili : *Bacillaceae*
Genus : *Bacillus*
Species : *Bacillus Sp.*

Bacillus Sp berbentuk batang, dengan ukuran bakteri sebesar $0,3 - 2,2 \mu \times 127 - 7,0 \mu \text{m}$. Sebagian besar berbentuk motil, flagelum khas lateral, membentuk endospora, tidak lebih dari satu dalam satu sel sporangium, Gram positif, kemoorganotrof. Metabolisme dengan respirasi sejati fermentasi sejati, atau kedua-duanya, yaitu respirasi dan fermentasi, aerobik sejati atau anaerobik fakultatif. *Bacillus* umumnya dijumpai di dalam tanah. *Bacillus* merupakan perwakilan dari bakteri genus gram positif yang terdapat di alam (tanah, air, dan debu di udara). Beberapa spesies merupakan flora normal di saluran intestin manusia. Ketika tumbuh di media blood agar, *Bacillus* akan tumbuh menyebar dengan koloni yang berwarna abu-abu dengan pinggiran yang tidak rata. Berbentuk tongkat, spora bersifat aerobik. Karakteristik yang unik dari bakteri ini adalah kemampuan untuk membentuk endospora ketika kondisi lingkungan yang tertekan. Spora ini dapat bertahan 60 tahun atau lebih pada kondisi lingkungan yang ekstrim. Spesies *Bacillus* yang diketahui menghasilkan spora adalah *Clostridium*. Selain itu *Bacillus* juga termasuk dalam bakteri euryhaline. Bakteri euryhaline merupakan bakteri yang dapat hidup di daerah dengan kadar salinitas yang cukup tinggi.

Pada penelitian ini Bakteri *Bacillus* digunakan adalah jenis *Bacillus S1*. *Bacillus S1* merupakan bakteri koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Biologi, Jurusan Biologi, ITS.



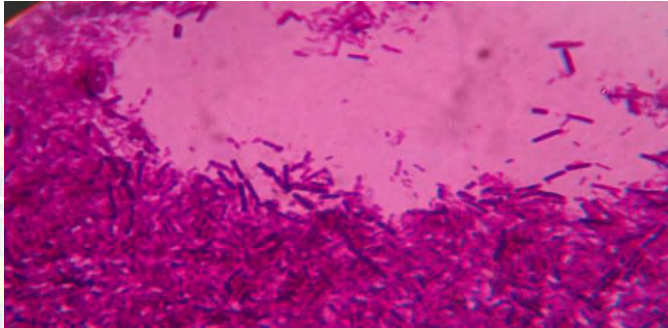
Gambar 2. 3 *Bacillus S1*

Sumber: Hasil Analisa Laboratorium Limbah Padat dan B3,
Jurusan Teknik Lingkungan.

2.6 *Azotobacter sp.*

Bakteri *Azotobacter sp* merupakan bakteri Gram negatif, bersifat aerobik, polymorphic, yang memiliki berbagai ukuran dan bentuk. *Azotobacter sp.* sensitif terhadap asam, konsentrasi garam yang tinggi (*eur haline*) dan temperatur di atas 35°C. Bakteri *Azotobacter* memiliki sifat aerobik, sehingga bakteri ini memerlukan oksigen (Hamastuti dkk, 2012). Menurut Luqman (2008), *Azotobacter* merupakan genus bakteri yang memiliki kemampuan untuk memfiksasi nitrogen. *Azotobacter* termasuk sebagai agen bioremediasi logam berat, salah satunya yaitu merkuri.

Pada penelitian ini digunakan bakteri *Azotobacter S8* yang merupakan koleksi bakteri dari Laboratorium Mikrobiologi dan Biologi, jurusan Biologi, ITS (Gambar 2.3).



Gambar 2. 4 *Azotobacter S8*

Sumber: Hasil Analisa Laboratorium Limbah Padat dan B3,
Jurusan Teknik Lingkungan.

2.7 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroorganisme

Pertumbuhan mikroorganisme memerlukan kondisi lingkungan yang sesuai agar dapat tumbuh dan berkembangbiak. Faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme adalah suhu, kondisi atmosferik pH dan tekanan osmosis.

2.7.1 Suhu

Setiap species memerlukan kisaran suhu tertentu untuk pertumbuhannya. Mikroorganisme dapat dibagi menjadi 3 golongan atas dasar suhu yang sesuai untuk menunjang kehidupannya, yaitu :

- a. Psikofil
Species yang dapat tumbuh pada kisaran suhu sekitar 0°C atau lebih rendah lagi.
- b. Mesofil
Species yang dapat tumbuh dengan baik pada suhu 25-40°C
- c. Termofil
Species dapat tumbuh dengan baik pada suhu 45-60°C.
Species termofil yang dapat hidup dengan baik pada kisaran

suhu mesofil disebut dengan euritermofil atau termofil fakultatif.

Untuk kelompok species yang hanya dapat tumbuh dengan baik pada suhu diatas 60°C disebut dengan stenotermofil atau termofil obligat. Mikroorganisme yang dapat tumbuh pada suhu sekitar 90°C disebut dengan mikroorganisme hipertermofil.

2.7.2 Kondisi Atmosferik

Mikroorganisme dapat diklasifikasikan menjadi 4 kelompok atas dasar kebutuhan oksigennya yaitu :

- Mikroorganisme aerobik
Kelompok mikroorganisme yang memerlukan O₂ untuk melangsungkan respirasi seluler.
- Mikroorganisme anerobik obligat
Kelompok mikroorganisme yang tidak dapat hidup dan berkembangbiak dalam lingkungan yang mengandung O₂. Hal ini disebabkan oleh enzim-enzim yang dimilikinya sangat sensitif dan tidak dapat berfungsi jika terdapat O₂.
- Mikroorganisme anerobik fakultatif
Kelompok mikroorganisme yang dapat hidup dengan atau tanpa kehadiran O₂.
- Mikroorganisme mikroaerofilik
Mikroorganisme aerobik yang hanya memerlukan tekanan O₂ rendah.

2.7.3 pH

Nilai pH yang ekstrim dapat mengakibatkan gangguan pada pertumbuhan mikroorganisme, karena dapat mempengaruhi aktifitas enzim. Kisaran pH optimum untuk kebanyakan mikroorganisme adalah 6,5-7,5 dengan batas minimum dan maksimum 4-9. Nilai pH pada organisme dapat berubah akibat terbentuknya produk metabolisme, yang dapat bersifat asam atau basa. Perubahan pH ini dapat sedemikian besarnya sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Hal tersebut dapat diatasi dengan menambahkan larutan penyangga (*buffer*) ke dalam media tumbuh mikroorganisme.

2.7.4 Tekanan Osmosis

Mikroorganisme pada umumnya tumbuh pada lingkungan yang sedikit lebih hipotonik dari sitoplasmanya. Dengan kata lain konsentrasi zat terlarut di dalam sel lebih tinggi konsentrasinya di luar sel. Pada kondisi ini dapat terjadi plasmoptisis. Yang mengalirnya air dari konsentrasi dari luar ke dalam sel. Sebagai akibatnya sel dapat membesar, dan memungkinkan dapat pecah. Untungnya dinding sel yang kaku dapat mematasi jumlah air yang masuk sel (Trihadiningrum, 2012).

2.8 Mekanisme Biosorpsi oleh Bakteri

Biosorpsi dapat didefinisikan sebagai penghapusan logam atau metaloid spesies, senyawa dan partikulat yang merupakan solusi dengan menggunakan bahan biologis (Gadd, 1993).

Mekanisme bioakumulasi merupakan proses aktif dimana logam berat dapat meracuni sel bakteri (Chojnacka, 2010).

Mekanisme bioremediasi yang dilakukan oleh bakteri antara lain melalui proses biosorpsi dan bioakumulasi (Chojnacka, 2010) dan Zulaika (2012). Menurut Priadie (2012), uji kemampuan absorpsi bakteri atau bioremediasi merupakan penggunaan mikroorganisme yang telah dipilih untuk ditumbuhkan pada polutan tertentu sebagai upaya untuk menurunkan kadar polutan tersebut. Dalam proses bioremediasi xenobotik yang diubah menjadi substansi tidak beracun karena disebabkan oleh suatu senyawa yang telah didegradasi tidak berarti dipecah menjadi produk yang terbebas dari sifat beracun. Xenobotik merupakan senyawa asing dalam sistem biologis yang mengandung struktur dan ikatan-ikatan yang tidak dijumpai pada sistem biologis. Senyawa ini merupakan senyawa buatan manusia yang resisten atau rekalsitran pada proses biodegradasi atau dekomposisi.

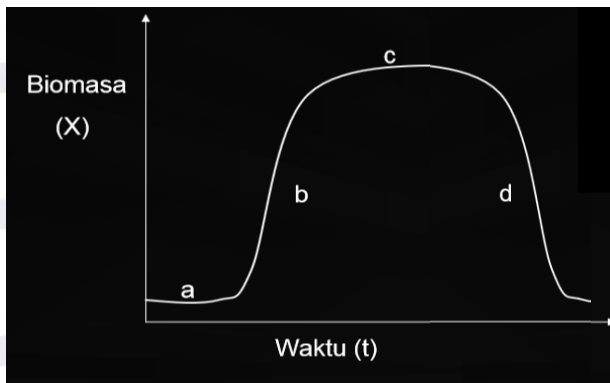
Pada saat proses biosorpsi berlangsung, enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme memodifikasi struktur polutan beracun menjadi tidak kompleks sehingga menjadi metabolit yang tidak beracun dan berbahaya. Mineralisasi atau yang bisa diartikan dengan dekomposisi suatu xenobiotik menjadi

ion anorganik dan karbon dioksida terjadi hampir pada semua keadaan karena menghasilkan produk akhir yang biasanya tidak bersifat toksik (Walluyo, 2009). Kemampuan bioakumulasi pada masing-masing bakteri berbeda-beda sesuai dengan resistensinya terhadap logam.

2.9 Laju Pertumbuhan Mikroorganismen

Menurut Trihadiningrum (2012), Pertumbuhan mikroorganismen dapat ditentukan dengan berdasarkan pola reproduksinya. Hal tersebut dapat diandaikan bahwa sel mikroorganismen bertambah secara teratur menjadi dua kali lipat pada interval waktu tertentu. Apabila jumlah sel diplotkan terhadap waktu, maka akan diperoleh kurva pertumbuhan mikroorganismen seperti Gambar 2.2.

Pada Kurva pertumbuhan mikroorganismen dapat diketahui fase-fasen yang dialami oleh mikroorganismen. Fase – fase tersebut adalah Fase lag atau fase adaptasi merupakan fase yang melibatkan sintesis komponen struktur sel atau resepsi enzim. Fase ini dapat terjadi dalam jangka panjang atau pendek tergantung kondisi lingkungan dan sifat mikroorganismen. Pada fase ini mikroorganismen melakukan proses adaptasi terhadap media yang baru dan pembesaran sel.



Gambar 2. 5 Kurva Pertumbuhan mikroorganismen
Sumber : Trihadiningrum (2012)

Keterangan :

- a. Fase Lag (fase adaptasi/fase lamban)
- b. Fase Eksponensial/ fase logaritmik
- c. Fase Stasioner
- d. Fase Kematian

Fase berikutnya adalah fase eksponensial atau Fase logaritmik merupakan fase dimana sel melakukan pembelahan diri dengan laju yang konstan. Massa sel tumbuh menjadi dua kali lipat dan aktifitas metabolik menjadi konstan. Fase ini merupakan fase pertumbuhan seimbang. Selanjutnya akan terjadi Fase Stasioner yang merupakan fase dimana sebagian sel mengalami kematian akibat berkurangnya zat nutrisi atau penumpukan produk metabolisme yang bersifat toksik. Laju pertumbuhan akan menjadi relatif konstan, hal ini dapat dilihat dari kurva pertumbuhan yang membentuk garis linier. Fase yang terakhir adalah fase kematian. Fase ini terjadi secara eksponensial. Pada fase ini kematian sel berlangsung lebih cepat dari pembentukan sel baru. Beberapa jenis mikroba dapat memproduksi endospora untuk bertahan hidup. Bergantung pada jenis spesiesnya, proses kematian semua sel berlangsung selama beberapa hari atau beberapa bulan. Selain dengan menggunakan kurva, pertumbuhan bakteri juga dapat ditentukan dengan menggunakan :

1. Pengukuran berat kering mikroorganisme
2. Pengukuran turbiditas atau *Optical Density (OD)* (absorbansi) biakan cair mikroorganisme
3. Pengukuran kadar substrat yang berkurang, atau kadar produk metabolisme yang terbentuk.

2.10 Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS)

Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) atau Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) merupakan suatu teknik atau metode yang digunakan untuk mengukur jumlah unsur kimia yang berada dalam suatu sampel lingkungan dengan mengukur radiasi yang diserap oleh cahaya dengan menggunakan gelombang tertentu (Garcia, R dan Baez, A.P, 2014).

Metode AAS atau SSA ini memiliki beberapa kelebihan yaitu kecepatan analisisnya cepat, ketelitiannya sampai tingkat yang runtut, tidak memerlukan pemisahan pendahuluan.

Adapun tahapan metode AAS atau SSA adalah sebagai berikut :

- Pengubahan analit menjadi bentuk volatilnya.
- Pengumpulan atau pemekatan (jika perlu) dan pemindahan ke atomiser
- Pendekomposisi komponen volatil untuk menghasilkan atom bebas analit yang selanjutnya akan terukur sebagai sinyal serapan atom.
- Perubahan unsur dalam larutan menjadi atom-atom nya dengan menyemprotkan larutan ke dalam nyala. Dengan mula-mula larutan dikabutkan (dalam sistem pengkabutan).
- Kemudian dimasukkan dalam nyala (dalam sistem pembakar) pada sistem pengkabut larutan ditarik melalui kapiler dengan penghisapan pancaran gas bahan bakar dan oksidan, yang disemprotkan ke ruang pengkabutan. Pada sistem pengkabut larutan direduksi menjadi titik-titik kabut halus, sedangkan titik kanut yang besar dialirkan melalui saluran pembuangan.

AAS atau SSA memiliki komponen sebagai berikut lampu katoda berongga sebagai sumber peradiasi/sinar, nebulizer yang berisi udara untuk atmisasi, monokromator kisi fraksi konvensional dan detektor tabung multiplier. Lampu katoda terbuat dari suatu lapisan kaca dengan jendela kuarsa yang berisi gas mulia dengan tekanan udara sedikit diatas tekanan udara normal. Katoda tersebut terbuat dari logam murni dan bersifat spesifik untuk tiap logam yang dianalisis, misalnya katoda Cr untuk analisis Cr, katoda Pb untuk analisis Pb, dan lain sebagainya.

2.11 Penelitian Terdahulu

Penelitian Terdahulu merupakan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya. Penelitian terdahulu ini akan menjadi pedoman dalam melaksanakan penelitian ini.

2.11.1 *Azotobacter S8*

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Luqman (2008), mengenai Kisaran Resistensi Merkuri dan Pola Fragmentasi Genom Bakteri *Azotobacter*, *Azotobacter S8* resisten terhadap 30 ppm HgCl₂ dan hasil analisis dengan enzim AluI menunjukkan presentase similaritas antara isolat *Azotobacter S6* dan *Azotobacter S8* yaitu sebesar 83,3 %.

2.11.2 *Bacillus S1*

Penelitian yang telah dilakukan oleh Sholikah dan Nengah (2013), menunjukkan bahwa *Bacillus S1* merupakan bakteri yang resisten terhadap logam berat. *Bacillus S1* diketahui dapat mengakumulasi logam berat merkuri dengan akumulasi sebesar 89% dengan 12 jam inkubasi dan akumulasi sebesar 90% dengan 24 jam inkubasi. Sedangkan dari penelitian yang dilakukn oleh Arinda,Tutut (2013), didapatkan hasil bahwa pertumbuhan bakteri *Bacillus S1* dengan paparan pencemar mengandung merkuri terlihat mulai bervariasi pada kosentrasi 25-50 ppm tabel 2.2. Pada penelitian ini, digunakan enam bakteri yang terdiri dari bakteri hasil streak dar alam yaitu bakteri S1, SA1, SS19, DA11 serta bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus cereus*.

Tabel 2. 2 Persentase (%) pertumbuhan *Bacillus* pada medium mengandung merkuri

Konsentrasi (ppm)	Persentase (%) pertumbuhan					
	S1	SA1	SS19	DA11	<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>
10	100	100	100	100	100	100
15	100	100	100	100	100	100
20	100	100	100	100	100	100
25	53	78	68	85	58	55
30	45	25	20	48	28	55
35	20	18	30	18	23	25

Konsentrasi (ppm)	Persentase (%) pertumbuhan					
	S1	SA1	SS19	DA11	<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>
40	20	20	23	23	28	25
45	5	25	5	18	25	25
50	10	8	15	13	10	13

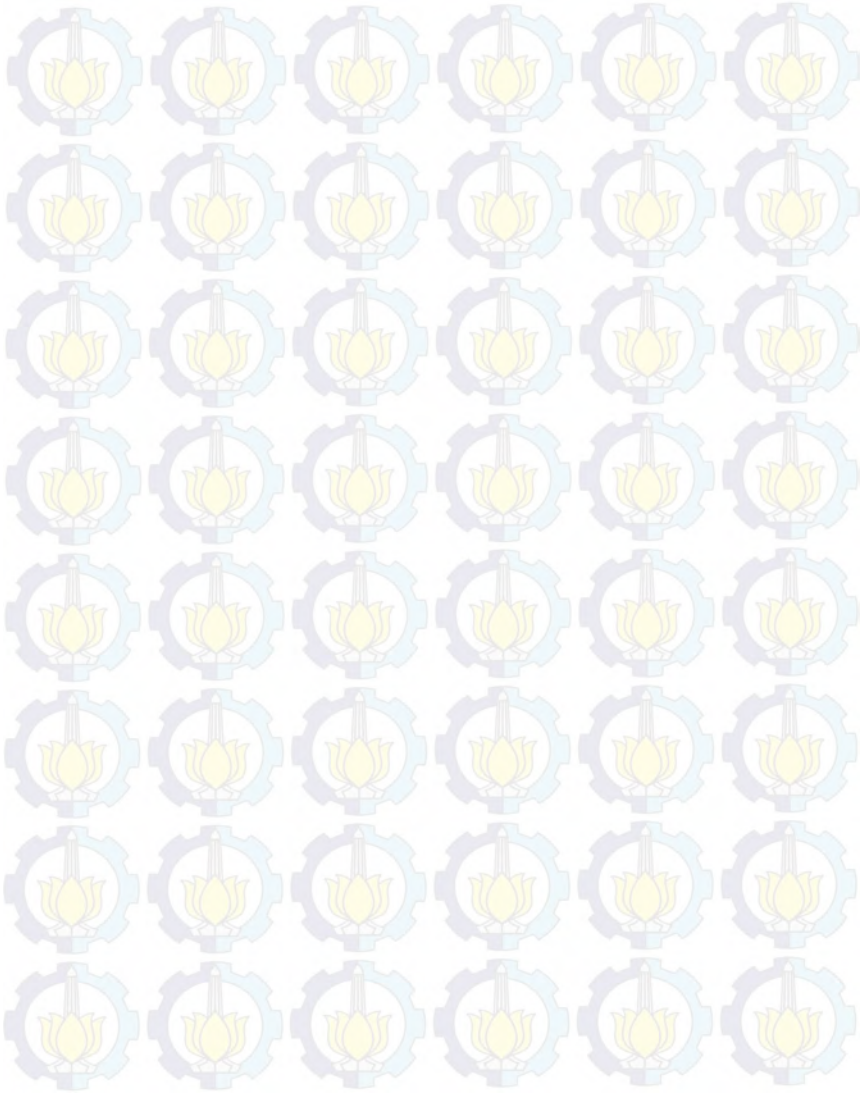
Sumber : Hasil penelitian Arinda,Tutut (2013)

Hasil dari penelitian Tutut Arinda (2013), menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri terlihat tidak merata dengan koloni-koloni bakteri yang terpisah-pisah pada media NA-Hg.

2.11.3 Konsentrasi Salinitas

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Abou-Elela, dkk, 2003, kadar garam yang digunakan untuk pengolahan biologis air limbah mengandung konsentrasi garam sebesar 5 g/L, 10 g/L, 15 g/L, 20 dan 30 g/L. Kadar garam tersebut dapat di *removal* oleh mikroorganismen toleran garam *S. Xylosus*. Mikroorganismen toleran garam ini menghasilkan peningkatan yang signifikan dalam efisiensi pengolahan biologis limbah mengandung salinitas mencapai 72%.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”



BAB 3

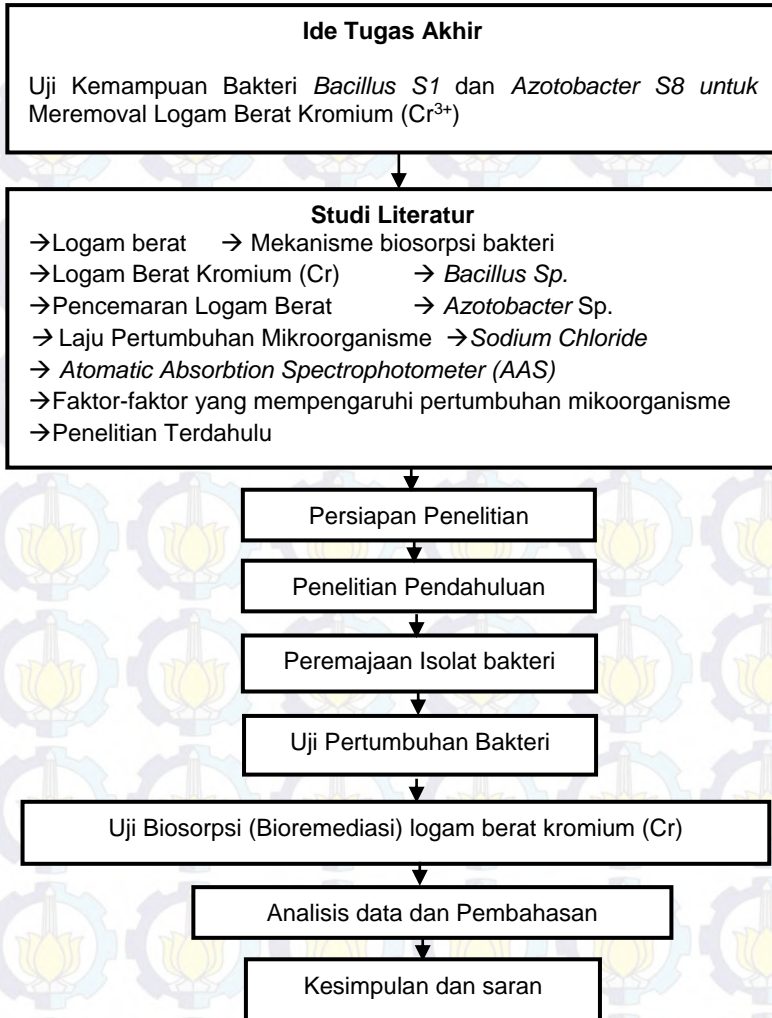
METODE PENELITIAN

3.1 Kerangka Penelitian

Metode penelitian ini digunakan sebagai acuan dalam melakukan penelitian. Metode penelitian ini dibentuk dalam kerangka penelitian yang memiliki beberapa tujuan sebagai berikut:

1. Gambaran awal tahap penelitian sehingga dapat memudahkan dalam melakukan penelitian serta penulisan laporan.
2. Memudahkan dalam memahami penelitian yang dilakukan.
3. Sebagai pedoman dalam penelitian sehingga kesalahan dapat dihindari.

Penelitian ini akan menguji kemampuan Bakteri *Bacillus S1* dan *Azotobacter S8* sebagai agensia penyerap logam berat Kromium (Cr) yang berasal dari limbah buatan mengandung logam berat kromium trivalen (Cr^{3+}). Parameter yang akan diuji adalah analisis logam berat kromium (Cr) dengan menggunakan metode AAS (*Automatic Absorption Spectrophotometry*), suhu, pH, *Optical Density* (OD), jumlah koloni bakteri dan berat kering bakteri. Variabel dalam penelitian ini adalah variasi jenis bakteri serta variasi salinitas. Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini merupakan Isolat bakteri koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, Jurusan Biologi FMIPA ITS, Pengamatan ini berskala laboratorium yang dilakukan di Laboratorium Teknik Lingkungan-ITS Surabaya dan Laboratorium Pusat Studi Pemukiman, Prasarana, dan Lingkungan Hidup LPPM-ITS Surabaya. Berdasarkan ide yang telah dibuat dan di, dapat dilihat kerangka penelitian yang disusun dalam Gambar 3.1.



Gambar 3. 1 Kerangka Metode Penelitian

3.2 Ide Penelitian

Bermula dari banyaknya kegiatan industri akibat aktivitas manusia seperti penyamakan kulit, industri kertas, petroleum dll menyebabkan terjadinya pencemaran logam berat sehingga menghasilkan limbah logam berat kromium (Cr). *Bacillus S1* dan *Azotobacter S8* merupakan bakteri yang resisten terhadap logam berat yang berpotensi digunakan sebagai biosorben dan bioakumulator, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai agensia bioremediasi pencemaran logam berat kromium (Cr). Bakteri yang berperan sebagai agensia bioremediasi logam berat memiliki mekanisme biotransformasi, bioadsorpsi dan bioakumulasi baik secara fisik, mekanis ataupun enzimatis. Selain itu *Bacillus S1* dan *Azotobacter S8* merupakan bakteri yang cukup melimpah di alam yang dapat diisolasi dari berbagai habitat lingkungan yang tercemar. Dengan keadaan yang demikian maka munculah ide penelitian untuk melakukan proses uji biosorpsi (bioremediasi) limbah cair mengandung logam berat kromium (Cr).

3.3 Langkah Penelitian

Pada langkah penelitian ini akan dijelaskan mengenai tahapan dan urutan kerja mengenai tahapan - tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini. Tujuan pembuatan tahapan penelitian adalah untuk mempermudah pemahaman dan penjelasan dalam deskripsi pada tiap tahapan. Dalam penelitian ini dibagi menjadi 3 tahapan yaitu Tahap Persiapan penelitian, Tahap penelitian Pendahuluan dan Penelitian Utama. Langkah-langkah penelitian yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Tahap Persiapan Penelitian
Mempersiapkan alat dan bahan
2. Tahap Penelitian Pendahuluan
 - Melakukan penentuan kurva laju pertumbuhan bakteri
 - Menentukan konsentrasi paparan logam berat.
 - Menentukan konsentrasi salinitas.
3. Tahap Penelitian Utama

Melakukan uji biosorpsi logam berat kromium (Cr)

3.3.1 Studi Literatur

Studi literatur penelitian ini bertujuan untuk membantu dan mendukung ide studi serta dapat meningkatkan pemahaman lebih jelas terhadap ide penelitian yang akan diteliti. Literatur juga harus mendapat *feedback* dari analisa data dan pembahasan untuk menyesuaikan hasil analisa dengan literatur yang ada. Sumber literatur yang digunakan adalah jurnal penelitian, peraturan, *text book*, disertasi, website, makalah seminar serta tugas akhir yang berhubungan dengan penelitian ini.

3.3.2 Persiapan Penelitian

Tahap persiapan dilakukan untuk melakukan persiapan sebelum melakukan penelitian. Persiapan yang dilakukan terkait menyiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan selama penelitian berlangsung. Selain itu, dilakukan persiapan untuk peremajaan isolat bakteri yaitu tahap pemindahan bakteri dari media indukan, untuk memperbanyak jumlah bakteri pada proses penelitian dan menjaga agar bakteri tidak mati. Persiapan penelitian terdiri dari :

➤ Sterilisasi Alat Uji dan Substrat pada Penelitian

Setiap alat yang akan digunakan dalam proses penelitian harus dicuci terlebih dahulu. Kemudian dikeringkan dengan cara diangin-aginkan dan ditunggu hingga kering atau untuk mempercepat proses pengeringan dapat dikeringkan dengan mengusap semua alat menggunakan tisu. Setelah alat kering, dapat dilakukan pembungkusan semua alat uji penelitian yang akan disterilkan dengan menggunakan kertas coklat dan karet sebagai perekat. Hal tersebut dilakukan untuk menghindari masuknya uap air pada alat yang akan disterilisasi di autoklaf. Kemudian alat-alat yang telah terbungkus kertas coklat akan dimasukkan ke dalam Autoklaf. Selain alat, substrat atau media yang akan digunakan sebagai bahan penelitian juga harus dilakukan proses sterilisasi seperti larutan aquades sebagai

pelarut media *Nutrien Agar (NA)* dan *Nutrient Broth (NB)* atau larutan NA yang telah dibuat. Hal tersebut dilakukan untuk membebaskan setiap benda dan substrat dari semua kehidupan mikroorganisme dalam bentuk apapun (kontaminasi). Selanjutnya, setelah alat dan bahan telah siap akan dimasukkan ke dalam Autoklaf. Autoklaf yang digunakan disetting pada suhu 121° C selama ± 60 menit. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan kontaminasi atau memusnahkan sel dan spora mikroba yang tidak diinginkan pada media dan peralatan sehingga akan tercipta keadaan yang steril sebelum digunakan.

➤ Pembuatan *Nutrient Broth (NB)*

Pembuatan *Nutrient Broth (NB)* dilakukan sesuai dengan kebutuhan. NB akan digunakan sebagai media/substrat saat laju pertumbuhan bakteri.

Pembuatan media NB satu liter dibutuhkan 8 gram NB. NB yang akan digunakan ditimbang terlebih dahulu sesuai dengan kebutuhan. Kemudian dilarutkan dengan aquades dengan cara diaduk dan dipanaskan di atas kompor untuk melarutkan NB. Setelah itu dilakukan proses penuangan sesuai dengan kebutuhan yang ditempatkan pada tabung reaksi ataupun erlenmeyer. Pada tabung reaksi dan erlenmeyer yang akan di sterilisasi, ujung mulut alat diberi kapas, dibungkus dengan kertas coklat, dan diberi perekat yaitu karet gelang.

Dalam penelitian ini, NB dibutuhkan untuk media tumbuh bakteri yang dibutuhkan saat Tahap Persiapan penelitian, dan Tahap penelitian Utama.

➤ Pembuatan *Nutrient Agar (NA)*

Pembuatan *Nutrient Agar* dalam 1 liter air dibutuhkan 20 gram NA. *Nutrient Agar* yang dibuat disesuaikan dengan kebutuhan. NA yang dibutuhkan ditimbang, kemudian dilarutkan dengan air sesuai kebutuhan. Kemudian diaduk dan dipanaskan di atas kompor hingga NA terlarut dan mendidih. Saat dipanaskan, NA diaduk dengan tujuan untuk menghindari meluapnya larutan NA yang berbuih karena mendidih. Setelah itu dilakukan proses penuangan sesuai dengan kebutuhan yang ditempatkan pada tabung reaksi ataupun erlenmeyer. Pada

tabung reaksi dan erlenmeyer yang akan di sterilisasi, ujung mulut alat diberi kapas, dibungkus dengan kertas coklat, dan diberi perekat yaitu karet gelang.

Dalam penelitian ini, NA dibutuhkan untuk pembuatan agar miring pada tabung reaksi @5 ml, media pada cawan petri @15 ml. Na yang diletakkan di tabung reaksi untuk dijadikan media agar miring sedangkan diletakkan di cawan petri sebagai perkembangbiakan 24 jam yang nantinya akan digunakan pada tahap laju pertumbuhan bakteri, dan perhitungan jumlah koloni bakteri.

➤ Pembuatan Media Agar Miring

Pembuatan media agar miring dilakukan untuk menjaga bakteri agar dapat hidup dengan rentang lebih lama (diremajakan). Pembuatan agar miring dilakukan dengan memiringkan tabung reaksi yang berisi 5 ml media NA yang telah diautoklaf, dengan menggunakan landasan bolpoin atau batang yang dilandaskan di dekat mulut tabung reaksi. Kemudian tunggu hingga mengeras ± selama 15 menit. Kemudian bakteri yang telah diinokulasikan pada agar miring dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu tabung reaksi siap untuk menjadi media inokulan bakteri pada keesokan harinya.

➤ Pembuatan Media NA pada Cawan Petri

Pembuatan pada cawan petri dilakukan tidak jauh berbeda dengan membuat media miring pada tabung reaksi. Pembuatan media NA pada cawan petri dimulai dengan menuangkan tabung reaksi yang berisi 15 ml media NA yang telah diautoklaf kedalam masing-masing cawan petri. Cawan petri yang akan diisi media NA dikondisikan aseptis yaitu dengan mengapi-apikan mulut cawan dengan menggunakan api yang berasal dari bunsen ketika akan membuka cawan petri. Setelah media di tuang, lakukan kembali hal yang sama saat akan membuka cawan petri dan tidak lupa membungkus kembali cawan petri dengan menggunakan kertas coklat dan karet gelang seagai perekat kertas coklat agar tidak lepas. Kemudian simpan inokulan bakteri di dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu

37°C. Setelah 24 jam, bakteri siap digunakan untuk tahap laju pertumbuhan bakteri.

➤ Pembuatan Larutan Stock Salinitas :

Pembuatan larutan salinitas dilakukan dengan melarutkan NaCl sebanyak 8,5 gram untuk 1 liter air aquades. Untuk membuat larutan salin dilakukan penimbangan sesuai dengan kebutuhan. Kemudian NaCl dilarutkan dengan cara diaduk menggunakan aquades. Pada ujung erlenmeyer yang berisi larutan salin ditutup dengan menggunakan kapas, kertas coklat dan karet gelang sebagai perekat. Setelah itu di autoklaf pada suhu 121°C.

➤ Pembuatan Larutan Stock Kromium (Cr) :

Pembuatan larutan kromium dilakukan dengan melarutkan *Chromium (III) Chloride* dengan konsentrasi yang telah ditentukan pada 1 liter air. Larutan tersebut akan digunakan saat peneltiiian pendahuluan untuk mengetahui konsentrasi yang akan digunakan saat tahapan uji biosorpsi (bioremediasi) dan digunakan saat uji bioremediasi berlangsung. Untuk mendapatkan larutan *stock* kromium, kromium yang dibutuhkan ditimbang. Kemudian dilarutkan pada aquades yang telah diautoklaf sebelumnya sesuai dengan kebutuhan yang telah diperhitungkan. Diaduk hingga rata dan terlarut, Larutan *stock* kromium dapat digunakan.

3.3.3 Penelitian Pendahuluan

Pada penelitian ini, terdapat beberapa penelitian pendahuluan yang harus dilakukan. Penelitian pendahuluan yang akan dilakukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

➤ Penentuan konsentrasi kromium yang akan digunakan

Penentuan konsentrasi kromium dilakukan untuk mengetahui konsentrasi yang akan digunakan ketika melakukan uji bioremediasi. Larutan konsentrasi kromium yang dibuat berasal dari *Chromium (III) Chloride* (CrCl_3) dengan variasi konsentrasi 10 mg/L, 50mg/L, 100 mg/L. Larutan *stock* dengan berbagai konsentrasi tersebut kemudian akan dicampur dengan

isolat bakteri sebanyak 1 ose yang diletakkan pada erlenmeyer. Kemudian di aduk dengan mengguankan *shaker* selama ± 15 menit dengan tujuan agar isolat bakteri yang dimasukkan dalam erlenmeyer tercampur dengan larutan stock kromium. Setelah itu diambil $\pm 0,1$ ml untuk diteteskan ke dalam cawan petri yang berisi NA. Setelah itu dilakukan pengadukan dengan menggunakan spatula siku hingga lapisan atas NA yang diberi tetesan bakteri menjadi kesat. Kemudian cawan petri dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C . Selanjutnya ditunggu selama 24 jam untuk diamati bakteri yang tumbuh pada media agar. Berdasarkan variasi yang telah dilakukan maka nantinya dapat diketahui bakteri yang dapat tumbuh pada rentang konsentrasi yang ditentukan dan akan digunakan pada tahap uji bioremediasi.

➤ Penentuan konsentrasi salinitas yang akan digunakan

Variasi penelitian ini salah satunya adalah dengan perlakuan salinitas. Pemberian konsentrasi banyaknya salinitas yang digunakan dalam penelitian ini belum diketahui. Menurut literatur, kandungan salinitas yang dapat digunakan adalah sebanyak yaitu 3 gram/100 ml. Untuk mengetahui konsentrasi kemampuan bakteri dapat hidup pada kondisi salin (*euryhaline*), dilakukan uji konsentrasi larutan salinitas dengan variasi konsentrasi yaitu 30 gr/L dan 8,5 gr/L. Larutan stock salin dibuat dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml, kemudian diberi isolat bakteri sebanyak 1 ose. Setelah itu diaduk dengan mengguankan *shaker* selama ± 15 menit dengan tujuan isolat bakteri yang dimasukkan dalam erlenmeyer tercampur dengan larutan stock salin. Setelah itu diambil $\pm 0,1$ ml untuk diteteskan ke dalam cawan petri yang berisi NA. Setelah itu dilakukan pengadukan dengan menggunakan alat pengaduk kaca hingga lapisan atas NA yang diberi tetesan bakteri menjadi kesat. Kemudian cawan petri dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C . Selanjutnya ditunggu selama 24 jam untuk diamati bakteri yang tumbuh pada media agar. Berdasarkan variasi yang telah dilakukan dapat diketahui bakteri yang tumbuh pada rentang konsentrasi yang ditentukan dan akan digunakan pada tahap uji bioremediasi.

3.3.4 Peremajaan Isolat Bakteri

Tahap ini merupakan tahapan awal sebelum penelitian pertama akan dilakukan. Pada tahap ini, bakteri uji yang didapatkan akan diremajakan dengan tujuan untuk menjaga indukan bakteri uji agar tidak terkontaminasi, sehingga memiliki cadangan persediaan bakteri jika terjadi kesalahan atau membutuhkan bakteri lebih banyak dalam proses penelitian. Kedua jenis bakteri uji yaitu *Bacillus* S1 dan *Azotobacter* S8 akan dipindahkan dari media agar miring ke media nutrient agar (NA) yang berada di cawan petri sebanyak 15 ml dan agar miring sebanyak 5 ml. Setelah dilakukan pemindahan bakteri akan diinkubasikan selama 24 jam. Hal ini dilakukan untuk mempersiapkan penggunaan bakteri yang telah diremajakan selama 24 jam yang nantinya akan digunakan sebagai penelitian lanjutan.

3.3.5 Uji Laju Pertumbuhan Bakteri

Tahap uji laju pertumbuhan bakteri *Bacillus* S1 dan *Azotobacter* S8 dilakukan untuk mengetahui lama pertumbuhan bakteri dan mendapatkan fase eksponensial yang nantinya akan digunakan sebagai penentu waktu pada tahap uji biosorpsi (bioremediasi) logam berat kromium (Cr). Uji Laju Pertumbuhan bakteri ini berlangsung selama 24 jam yang akan diinkubasi selama 24 jam dengan melakukan pengocokkan (*shaking*). Selama uji pertumbuhan berlangsung, dilakukan pengamatan dengan menganalisis pH, suhu dan *Optical Density* (OD). Pengambilan sampel analisis pengamatan akan dilakukan setiap 2 jam sekali selama 24 jam. Proses uji laju pertumbuhan bakteri ini dilakukan dengan cara sebagai berikut:

Bakteri *Bacillus* berumur 24 jam yang telah diinokulasikan di media NA pada cawan petri dari tahap peremajaan diambil sebanyak 1 ose untuk dipindahkan ke dalam tabung erlenmeyer bervolume 250 ml yang berisi media cair NB sebanyak 150 ml. Setelah itu jika bakteri terlihat masih menggumpal dilakukan pengadukan secara manual dengan cara digoyangkan. Kemudian tabung erlenmeyer yang sudah diberi isolat bakteri diambil sebanyak \pm 3ml untuk diamati suhu, pH dan nilai *Optical*

Densitynya (OD) pada jam ke-0 sebelum di letakkan pada *shaker*. Dilakukan proses pengadukan dengan tujuan untuk mencampur dan meratakan bakteri yang telah diinokulasikan pada media cair. Proses pengadukan dilakukan selama 24 jam untuk diamati laju pertumbuhan bakterinya. Kecepatan pengadukan yang digunakan adalah 120 rpm. Pada 2 jam pertama setelah jam ke-0 dilakukan kembali pengambilan sampel sebanyak \pm 3ml untuk diamati suhu, pH dan nilai *Optical Densitynya* (OD). Untuk mengukur nilai *Optical Dencity* (OD) digunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Pengamatan akan dilakukan setiap 2 jam sekali. Selain erlenmeyer uji, dilakukan pengukuran OD, pH dan suhu terhadap blanko berupa media Nutrient Agar (NA). Hal tersebut dilakukan sebagai kontrol/ blanko. Setelah pengamatan berakhir, data *Optical Dencity* (OD) yang didapat berupa nilai absorbansi akan digunakan untuk membuat kurva pertumbuhan bakteri, dengan sumbu x sebagai waktu (t) dan sumbu y sebagai absorbansi menggunakan nilai *Optical Dencity* (OD). Setelah dilakukan pengamatan dan analisis maka akan diketahui lamanya fase pertumbuhan antara kedua bakteri tersebut yang akan digunakan sebagai data untuk melakukan penelitian pada tahap uji biosorpsi logam berat kromium (Cr). Fase yang akan digunakan merupakan fase eksponensial.

3.3.6 Tahap Uji Biosorpsi Logam Berat Kromium (Cr³⁺)

Tahap Uji Biosorpsi dilakukan untuk menentukan prosentase removal bakteri terhadap paparan logam berat yang diberikan dan untuk menentukan pengaruh salinitas terhadap % removal logam berat Cr. Uji Biosorpsi ini merupakan tahapan penelitian utama pada penelitian ini.

Pada tahap ini parameter yang akan dianalisis adalah pH, suhu, OD, jumlah bakteri, berat kering bakteri dan konsentrasi kromium. Parameter total kromium akan dianalisis pada 3 tahapan yakni pada awal, pertengahan dan akhir penelitian. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan data-data yang dapat menunjang penelitian sehingga grafik yang dihasilkan dapat diketahui bentuknya. Konsentrasi Cr yang akan digunakan sebanyak 3 konsentrasi yang berbeda yaitu C₁, C₂ dan C₃. Pengamatan variasi kontrol yaitu **B0C1S0***, **B0C1S1***, **B0C2S0***,

B0C2S1*, **B0C3S0***, **B0C3S1*** (Tabel 3.1) digunakan sebagai kontrol apabila bakteri dengan pemberian pengaruh salinitas tanpa salinitas terjadi perubahan atau tidak.

Jenis perlakuan yang dilakukan antara variasi pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel. 3.1 sehingga dapat diketahui jumlah sampel yang akan digunakan.

Tabel 3. 1 Jenis Perlakuan Antara Variasi Konsentrasi dengan Variasi Salinitas

Variasi Penelitian	Konsentrasi Logam Cr	S ₀	S ₁
B ₀	C1	B0C1S0*	B0C1S1*
	C2	B0C2S0*	B0C2S1*
	C3	B0C3S0*	B0C3S1*
B ₁	C1	B1C1S0	B1C1S1
	C2	B1C2S0	B1C2S1
	C3	B1C3S0	B1C3S1
B ₂	C1	B2C1S0	B2C1S1
	C2	B2C2S0	B2C2S1
	C3	B2C3S0	B2C3S1

Keterangan :

* Reaktor Kontrol

B₁ : Bakteri *Bacillus S1*

B₂ : Bakteri *Azotobacter S8*

C : Konsentrasi Logam kromium (Cr) dengan konsentrasi sebagai berikut :

C₁ : Konsentrasi logam kromium 50 mg/L

C₂ : Konsentrasi logam kromium 75 mg/L

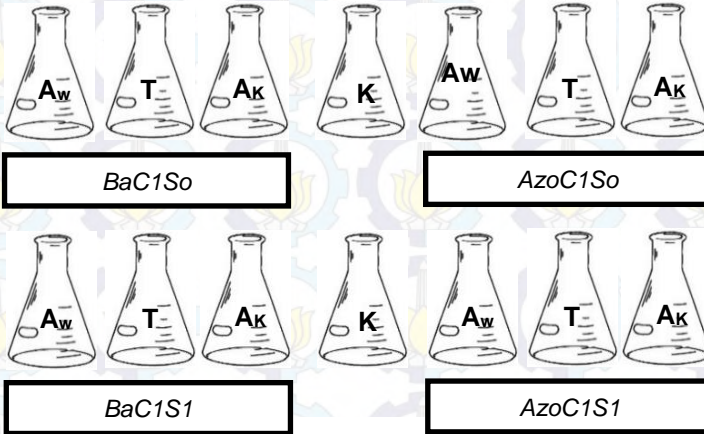
C₃ : Konsentrasi logam kromium 100 mg/L

S₁ : Perlakuan dengan mengguankan salinitas

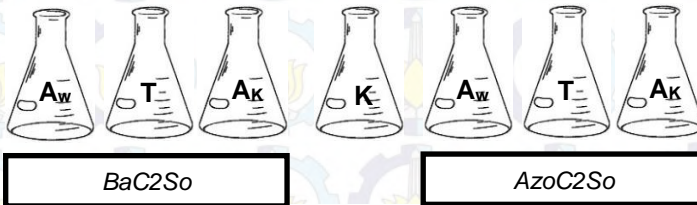
S₀ : Perlakuan tanpa mengguankan salinitas

Pada tahap uji bioremediasi menggunakan erlenmeyer dengan volume 250 ml sebagai reaktor (Gambar 4.2 - 4.4). Volume tersebut dipilih, disesuaikan dengan kebutuhan volume larutan yang dibutuhkan selama analisis yaitu 150 ml dalam

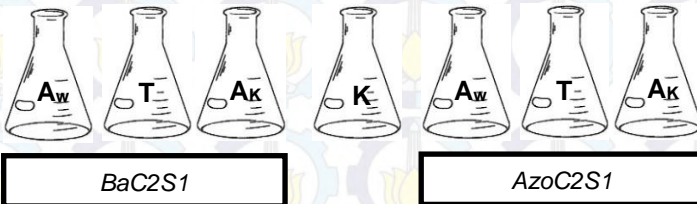
setiap erlenmeyer dan dengan memperhitungkan kondisi reaktor yang mengalami proses pengadukan sebesar 120 rpm.



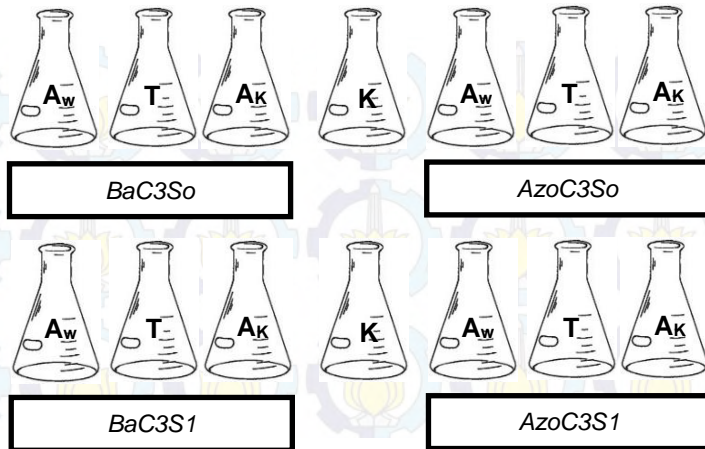
Gambar 3. 2 Reaktor yang digunakan untuk uji biosorpsi konsentrasi C1 mg/L



Gambar 3. 3 Reaktor yang digunakan untuk uji biosorpsi konsentrasi C2 mg/L



Gambar 3. 4 Reaktor yang digunakan untuk uji biosorpsi konsentrasi C2 mg/L



Gambar 3. 5 Reaktor yang digunakan untuk uji biosorpsi konsentrasi C_3 mg/L

Keterangan :

A_w : Uji biosorpsi di awal (jam ke 0)

T : Uji biosorpsi di tengah (jam ke 1)

A_k : Uji biosorpsi di akhir (jam ke 2)

K : Kontrol

$BaC1S1$: Bakteri *Bacillus S1* dengan konsentrasi C_1 mendapatkan perlakuan pemberian salinitas

$AzoC1S1$: Bakteri *Bacillus S1* dengan konsentrasi C_1 mendapatkan perlakuan pemberian salinitas

$BaC1S0$: Bakteri *Bacillus S1* dengan konsentrasi C_1 mendapatkan perlakuan tanpa salinitas

$AzoC1S0$: Bakteri *Bacillus S1* dengan konsentrasi C_1 mendapatkan perlakuan tanpa salinitas

$BaC2S1$: Bakteri *Bacillus S1* dengan konsentrasi C_2 mendapatkan perlakuan pemberian salinitas

$AzoC2S1$: Bakteri *Bacillus S1* dengan konsentrasi C_2 mendapatkan perlakuan pemberian salinitas

$BaC2S0$: Bakteri *Bacillus S1* dengan konsentrasi C_2 mendapatkan perlakuan tanpa salinitas

$AzoC2S0$: Bakteri *Bacillus S1* dengan konsentrasi C_2 mendapatkan perlakuan tanpa salinitas

- BaC3S1 : Bakteri *Bacillus* S1 dengan konsentrasi C3 mendapatkan perlakuan pemberian salinitas
AzoC2S1 : Bakteri *Bacillus* S1 dengan konsentrasi C3 mendapatkan perlakuan pemberian salinitas
BaC3S0 : Bakteri *Bacillus* S1 dengan konsentrasi C3 mendapatkan perlakuan tanpa salinitas
AzoC3S0 : Bakteri *Bacillus* S1 dengan konsentrasi C3 mendapatkan perlakuan tanpa salinitas

Berdasarkan gambar 4.1 hingga 4.3 dapat diketahui banyaknya jumlah sampel yang dibutuhkan selama analisis uji biosorpsi berlangsung yaitu sebanyak 42 sampel uji. Pada proses uji biosorpsi terdapat tahapan-tahapan yang dilakukan yaitu sebagai berikut :

- Induksi bakteri ke dalam media yang mengandung logam kromium (Cr)

Tahapan ini dilakukan pada awal tahapan. Semua erlenmeyer uji akan diberi bakteri. Pada penelitian ini pencemar yang digunakan merupakan pencemar buatan yang dibuat dari larutan stock CrCl_3 . Senyawa *Chromium* (III) *chloride* tersebut akan dimasukkan ke dalam erlenmeyer dengan volume 250 ml yang memiliki komposisi salinitas, senyawa pencemar dan bakteri. Uji bioremediasi ini dapat dilakukan jika sudah melaksanakan penelitian pendahuluan yaitu Uji laju pertumbuhan yang akan mendapatkan lamanya fase eksponensial pada bakteri uji. Selain itu, jika sudah menentukan konsentrasi pada konsentrasi kromium dan salinitas.

Isolat bakteri yang dimasukkan sebanyak 10% dari volume. Sehingga total komposisi berbagai macam variasi tersebut sebanyak 15 ml dalam erlenmeyer 250 ml. Sebelum dimasukkan ke dalam erlenmeyer untuk uji biosorpsi, bakteri yang akan dimasukkan dikondisikan jumlahnya sama (merata) pada masing-masing erlenmeyer uji biosorpsi. Hal tersebut dilakukan untuk menghindari adanya perbedaan kemampuan biosorpsi jika jumlah bakteri tidak sama. Untuk mengkondisikan hal tersebut dilakukan proses pemisahan antara bakteri dan media bakteri pada masing-masing erlenmeyer uji dari laju pertumbuhan. Dimbil 15 ml media yang tercampur dengan bakteri kemudian dimasukkan ke dalam pipa cube. Setelah itu di

centrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 4000 rpm hingga terjadi pemisahan antara media dan bakteri. kemudian dipisahkan. Setelah itu cube centrifuge diberi larutan salin dan dilakukan proses centrifuge beberapa detik untuk mencampurkan antara larutan salin dan bakteri. Dalam hal ini digunakan Larutan salin dikarenakan jika menggunakan air aquades ataupun air biasa, bakteri tidak dapat beradaptasi dengan baik, sehingga akan menyebabkan kematian pada bakteri. setelah itu dilakukan proses *trial* untuk mengetahui banyaknya jumlah bakteri yang akan dimasukkan ke dalam elemeyer uji biosorpsi. Hal tersebut dilakukan dengan cara mengukur absorbansi (OD) dengan panjang gelombang 600 nm pada sampel yang akan digunakan pada uji biosorpsi. Setelah ditemukan kesamaan jumlah bakteri maka dapat dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer uji biosorpsi. Untuk memastikan jumlah bakteri yang telah memiliki kesamaan dapat juga dilakukan perhitungan bakteri dengan menggunakan coloni counter.

Setelah bakteri masuk, tercampur kedalam erlenmeyer uji biosorpsi dengan volume 250 ml sebanyak 100 ml pada tahap awal dilakukan pengamatan parameter pH, suhu, Optical Density (OD), analisa total kromium sebelum dilakukannya proses shakering. Setelah itu tabung erlenmeyer uji diletakkan diatas shaker untuk dilakukan proses shakering. Hal tersebut bertujuan untuk mencampur semua komposisi yang terdapat di erlenmeyer agar merata dan tercampur menjadi homogen. Lama waktu pengamatan selain dilihat dari lamanya laju perumbuahn bakteri yang didapatkan dari tahap penentuan laju pertumbuhan bakteri juga ditentukan dari waktu pengamatan yang akan dilakukan selama 2 hari. Pada tahap ini akan dilakukan analisis parameter terkait suhu dengan mengguankan pH meter, *Optical Density* (OD) dengan menggunakan spektrofotometer, dan jumlah bakteri dengan menggunakan *Coloni Counter*. Selain itu juga akan dilakukan pengukuran berat pada masing-masing sampel untuk mengetahui jumlah bakteri sehingga berat bakteri pun dapat diketahui. Hal ini dilakukan untuk mengetahui apakah terjadi peyerapan logam berat terhadap bakteri saat di awal dan di akhir penelitian.

➤ Pengamatan terhadap parameter penelitian

Parameter pada penelitian ini terdiri dari enam parameter yang terdiri dari:

Konsentrasi total kromium

Parameter konsentrasi total kromium yang akan dianalisis sebanyak 3 kali yaitu pada awal, pertengahan dan akhir penelitian. Hal ini dilakukan untuk mengetahui absorbansi yang dilakukan oleh mikroorganisme. Jika analisis hanya dilakukan di awal dan di akhir penelitian, dapat terjadi kemungkinan absorbansi maksimum terjadi saat pertengahan penelitian. Sehingga analisis dilakukan sebanyak 3 kali.

pH

Analisis pada parameter pH dilakukan di setiap tahapan uji penelitian. Pada tahapan uji laju pertumbuhan bakteri, analisis pH dilakukan selama 2 jam sekali. Sedangkan pada uji biosorpsi juga dilakukan pengukuran pH setiap 2 jam sekali yaitu pada awal uji, pertengahan dan akhir. Penentuan jam pada uji biosorpsi ditentukan berdasarkan pembentukan fase logaritmik pada laju pertumbuhan bakteri.

Suhu

Analisis suhu dilakukan untuk mengetahui suhu yang dihasilkan dari proses penelitian berlangsung, baik dalam proses laju pertumbuhan ataupun pada uji biosorpsi (bioremediasi) bakteri. Analisis suhu akan dilakukan setiap 2 jam sekali yaitu pada awal uji, pertengahan dan akhir. Penentuan jam pada uji biosorpsi ditentukan berdasarkan pembentukan fase logaritmik pada laju pertumbuhan bakteri.

Optical Density (OD) (Absorbansi)

Pada analisis absorbansi Optical Density akan dilakukan pada tahap laju pertumbuhan bakteri dan Uji biosorpsi. Pada laju pertumbuhan bakteri analisis OD dilakukan sebanyak 12 kali dalam 24 jam dikarenakan dilakukan pengambilan nilai absorbansi setiap 2 jam sekali. Sedangkan pada uji bioarbsorpsi (bioremediasi) akan dilakukan setiap 2 jam sekali yaitu pada awal

uji, pertengahan dan akhir. Penentuan jam pada uji biosorpsi ditentukan berdasarkan pembentukan fase logaritmik pada laju pertumbuhan bakteri.

Berat kering bakteri

Analisis jumlah bakteri dilakukan hanya pada tahap uji biosorpsi (bioremediasi) saja. Hal ini dilakukan untuk mengetahui jumlah bakteri, sehingga dapat dibuktikan bakteri melakukan penyerapan terhadap logam berat atau tidak. Kenaikan berat kering suatu mikroba diiringi dengan kenaikan sintesa dan volume sel-sel. Jika jumlah bakteri di awal dan di akhir penelitian berbeda jumlahnya dengan berat jumlah bakteri di akhir lebih berat maka dapat dianalisis jika bakteri menyerap logam berat.

Jumlah koloni bakteri

Analisis jumlah bakteri dilakukan untuk menentukan jumlah mikroba yang hidup saja. Analisis jumlah bakteri ini dilakukan pada awal dan akhir uji bioremediasi. Dasar pehitungannya dengan mengencerkan suspensi dengan rentang pengenceran tertentu secara bertingkat. Metode hitungan didasarkan pada setiap sel yang dapat hidup kembangbiakan menjadi satu koloni. Sehingga jumlah koloni yang muncul mengandung indeks jumlah organisme yang terkandung dalam sampel.

3.3.7 Analisis dan Pembahasan

Pada Analisis data dan pembahasan, akan dituliskan secara deskriptif untuk menjelaskan hasil penelitian akibat pengaruh variabel dan parameter yang telah ditentukan. Analisis data dan pembahasan yang dituliskan meliputi beberapa hal berikut:

1. Penentuan kurva laju pertumbuhan bakteri uji didapatkan dari grafik dengan perbandingan data panjang gelombang dan waktu hidup bakteri uji.
2. Analisis konsentrasi logam berat dengan menggunakan metode AAS.
3. Pengaruh variasi perlakuan salinitas dan tanpa salin terhadap limbah logam berat.

4. Pengaruh variasi konsentrasi logam kromium (Cr^{3+}) terhadap penyisihan logam berat yang dilakukan oleh bakteri.
5. Analisis pH dan suhu bakteri dengan menggunakan pH meter.
6. Menentukan jumlah bakteri dengan metode pengenceran dan perhitungan koloni bakteri dengan *coloni counter*.
7. Menentukan logam kromium yang diabsorpsi dan diakumulasikan oleh bakteri.

3.3.8 Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan disusun berdasarkan hasil analisis data penelitian serta pembahasan. Kesimpulan akan menjawab rumusan masalah dan sebanding dengan yang diharapkan dalam penelitian. Kesimpulan merupakan point-point yang dapat dibuat secara simpel dan ringkas dari pembahasan yang dibuat. Saran diperlukan untuk menyempurnakan penelitian yang dilakukan saat ini dengan membuat rekomendasi untuk kelanjutan penelitian ini. Pada umumnya kesimpulan bersifat sementara.

BAB 4

ANALISIS DAN PEMBAHASAN

4.1 Penelitian Pendahuluan

Pada penelitian ini, terdapat tiga penelitian pendahuluan yang terdiri dari laju pertumbuhan bakteri, uji konsentrasi salinitas dan uji konsentrasi kromium trivalen.

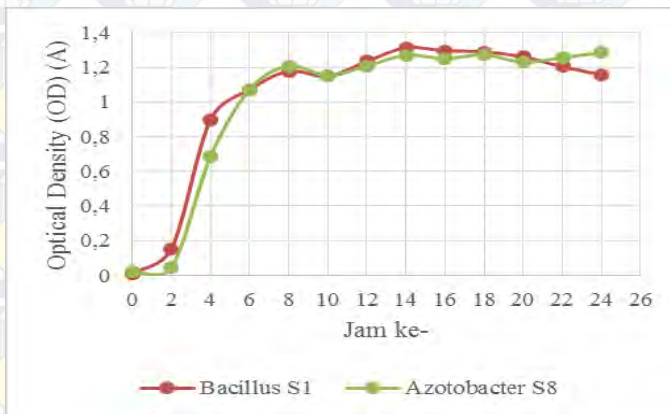
4.1.1 Laju Pertumbuhan Bakteri

Berdasarkan analisis laju pertumbuhan bakteri pada penelitian pendahuluan yang dilaksanakan selama 24 jam, didapati fase bakteri yaitu fase log pada masing-masing bakteri *Bacillus S1* dan *Azotobacter S8*. Fase log pada pertumbuhan bakteri uji berguna untuk mengetahui umur bakteri yang digunakan sebagai pedoman dalam pelaksanaan uji biosorpsi. Berdasarkan uji laju pertumbuhan bakteri didapatkan fase logaritmik selama 8 jam. Hal ini diketahui dari nilai OD yang menunjukkan adanya kenaikan mulai jam ke-0 hingga ke-8 sehingga dapat didapatkan grafik fase logaritmik sesuai dengan kurva laju pertumbuhan bakteri sesuai dengan Gambar 2.2. *Trend* grafik untuk laju pertumbuhan bakteri pada bakteri *Bacillus S1* dan *Azotobacter S8* dapat diketahui dari data penelitian (tabel 4.1) dan grafik (gambar 4.1).

Tabel 4. 1 Laju Pertumbuhan Bakteri

No.	Jam ke-	Optical Density (OD) (A)	
		<i>Azotobacter S8</i>	<i>Bacillus S1</i>
1	0	0,02	0,0115
2	2	0,0445	0,153
3	4	0,6845	0,8995
4	6	1,0725	1,072

No.	Jam ke-	Optical Density (OD) (A)	
		Azotobacter S8	Bacillus S1
5	8	1,208	1,1785
6	10	1,153	1,1495
7	12	1,209	1,2355
8	14	1,2705	1,3145
9	16	1,252	1,296
10	18	1,273	1,2905
11	20	1,23	1,261
12	22	1,2575	1,205



Gambar 4. 1 Hasil Analisa Laju Pertumbuhan Bakteri

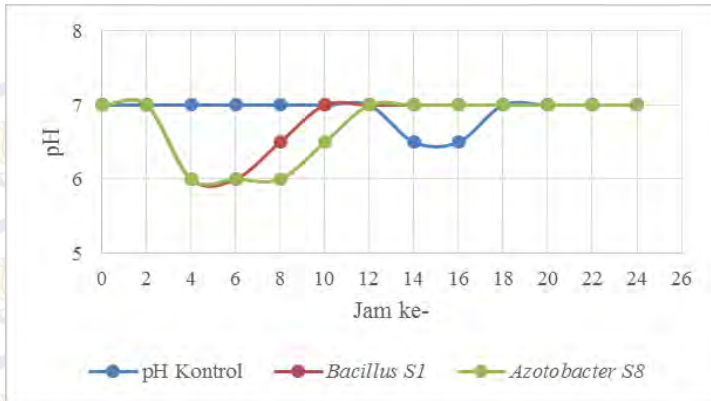
Dari gambar 4.1 menunjukkan adanya peningkatan nilai absorbansi pada jam ke 0-8. Hal tersebut ditunjukkan dengan grafik yang meninggi menunjukkan pembentukan fase logaritmik/fase eksponensial. Menurut Hogg (2005), pada saat fase eksponensial, sel mikroorganisme dalam keadaan stabil, sel-sel baru terbentuk dengan laju konstan dan sel mikroorganisme membelah secara optimum pada saat *double time* (waktu lipat dua) yang tercapai saat pertengahan fase

eksponensial/logaritmik. Pada fase ini, kebutuhan energi bakteri lebih tinggi karena kebutuhan zat-zat yang dibutuhkan dalam memenuhi kebutuhan nutrisinya juga lebih banyak diproduksi. Sehingga umur bakteri pada pertengahan fase logaritmik/eksponensial digunakan untuk uji biosorpsi, yang diharapkan dapat melakukan *removal* logam berat kromium (Cr^{3+}) dengan baik. Selain mengetahui nilai absorbansi, sebagai parameter uji pada laju pertumbuhan bakteri di dapatkan nilai parameter pH pada Tabel dan Grafik 4.2.

Tabel 4. 2 pH pada Laju Pertumbuhan Bakteri

No.	Jam ke-	pH		
		Kontrol	<i>Azotobacter</i> S8	<i>Bacillus</i> S1
1	0	7	7	7
2	2	7	7	7
3	4	7	6	6
4	6	7	6	6
5	8	7	6	6,5
6	10	7	6,5	7
7	12	7	7	7
8	14	6,5	7	7
9	16	6,5	7	7
10	18	7	7	7
11	20	7	7	7
12	22	7	7	7
13	24	7	7	7

Pada tabel dan gambar 4.2 menunjukkan bahwa pH bakteri mengalami penurunan di saat pertengahan fase log berlangsung, dan menunjukkan kisaran pH 6,5-7,5. Menurut Trihadiningrum (2012), hal tersebut menunjukkan bahwa bakteri mengalami proses metabolisme karena ditandai dengan berubahnya nilai pH menjadi asam atau basah.



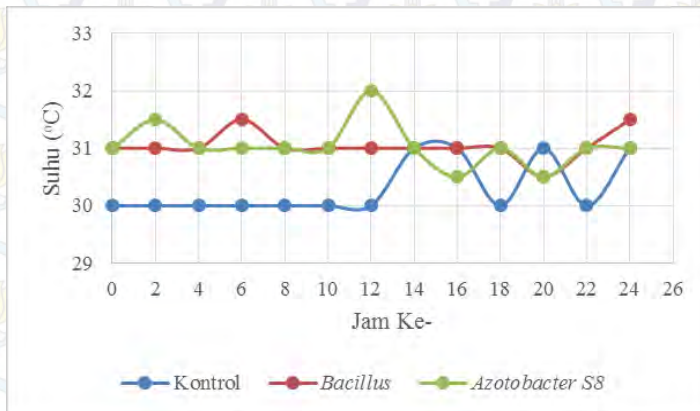
Gambar 4. 2 Grafik Hasil Analisa pH pada Laju Pertumbuhan

Selain nilai pH, parameter yang diamati dalam laju pertumbuhan ini adalah suhu. Perubahan suhu pada laju pertumbuhan ini dapat diamati pada Tabel dan Gambar 4.3.

Tabel 4. 3 Parameter Suhu pada Laju Pertumbuhan Bakteri

No.	Jam ke-	Suhu (°C)		
		Kontrol	<i>Azotobacter S8</i>	<i>Bacillus S1</i>
1	0	30	31	31
2	2	30	31,5	31
3	4	30	31	31
4	6	30	31	31,5
5	8	30	31	31
6	10	30	31	31
7	12	30	32	31
8	14	31	31	31
9	16	31	30,5	31
10	18	30	31	31

No.	Jam ke-	Suhu (°C)		
		Kontrol	<i>Azotobacter</i> S8	<i>Bacillus</i> S1
11	20	31	30,5	30,5
12	22	30	31	31
13	24	31	31	31,5



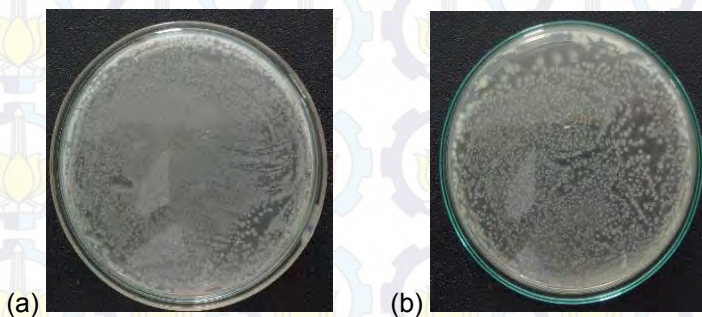
Gambar 4. 3 Hasil Analisis Suhu pada Laju Pertumbuhan Bakteri

Berdasarkan hasil penelitian laju pertumbuhan pada kedua bakteri uji, kisaran suhu kedua bakteri berada di sekitar 30-32°C. Menurut Trihadingrum (2012), mikroorganisme yang memiliki rentang suhu diantara 25-40°C termasuk mikroorganisme mesofilik jika di golongan berdasarkan suhunya.

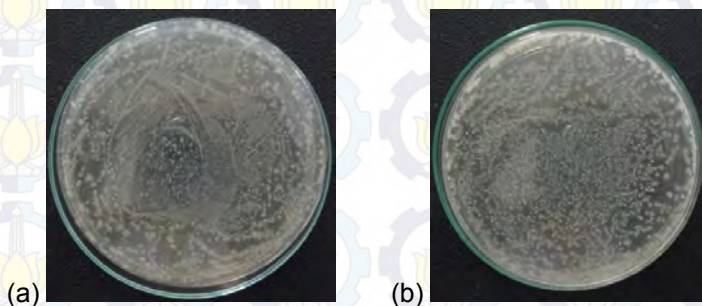
4.1.2 Uji Konsentrasi Salinitas

Pada tahap ini dilakukan penentuan uji konsentrasi salinitas. Hal ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri beradaptasi dalam keadaan yang salin (*euryhaline*). Konsentrasi yang digunakan dalam uji konsentrasi salinitas ini adalah 30 gram/L dan 8,5 gram/L. Menurut Abou-Elelea, dkk (2010) rentang konsentrasi salinitas yang diberikan terhadap *biological treatment* adalah 5g/L, 10 g/L, 15 g/L dan

30g/L. Sehingga pada penelitian ini dipilih konsentrasi dengan konsentrasi maksimum yaitu 30 g/L dan konsentrasi minimum dipilih 8,5 g/L. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri dapat hidup dengan keadaan lingkungan yang memiliki kadar garam (*euryhaline*). Hal tersebut terbukti dengan tumbuhnya koloni bakteri pada media agar dengan konsentrasi salinitas yang diberikan. Pada gambar 4.4 dan 4.5 dapat diketahui perbedaan jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing jenis konsentrasi salin dari jenis bakteri yang berbeda. Berdasarkan hasil penelitian, bakteri pada gambar a dengan salinitas 8,5 g/L memiliki jumlah koloni yang lebih banyak daripada gambar b dengan konsentrasi salinitas 30 g/L pada kedua jenis bakteri.



Gambar 4. 4 Uji Konsentrasi Salinitas pada Bakteri *Bacillus S1*



Gambar 4. 5 Uji Konsentrasi Salinitas pada Bakteri *Azotobacter S8*

Keterangan:

(a) Uji Salinitas 8,5 gram/L

(b) Uji Salinitas 30 gram/L

Sehingga untuk konsentrasi salinitas yang akan digunakan pada uji biosorpsi pada penelitian utama yaitu konsentrasi salin dengan 8,5 g/L.

4.1.3 Uji Konsentrasi Kromium (Cr)

Uji konsentrasi kromium dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui *range* yang dapat digunakan sebagai konsentrasi pemaparan limbah logam berat sintetik (CrCl_3) terhadap bakteri uji. Uji konsentrasi bakteri terhadap logam berat ini dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada medium selektif Nutrient Agar (NA) yang mengandung konsentrasi *Chromium (III) Chloride* (CrCl_3) 50 mg/L, 75 mg/L, dan 100 mg/L. Resistensi dilakukan dengan menggunakan metode *streak* pada cawan petri. Isolat bakteri di inokulasikan secara aseptis ke medium Na-Cr kemudian di inkubasi selama 24 jam. Setelah itu keesokan harinya diamati koloni yang tumbuh. Koloni bakteri yang dimasukkan ke dalam kategori tumbuh ditentukan dari adanya pertumbuhan bakteri (lampiran B).

Berdasarkan uji yang telah dilakukan didapatkan range konsentrasi kromium adalah 50 mg/L, 75 mg/L dan 100 mg/L. Konsentrasi ini nantinya akan diterapkan sebagai konsentrasi dalam melaksanakan uji biosorpsi pada penelitian utama.

4.2 Penelitian Utama Uji Biosorpsi

Uji Biosorpsi akan berlangsung selama 8 jam. 4 jam pertama untuk laju pertumbuhan dan 4 jam berikutnya digunakan sebagai uji biosorpsi. Sebelum masuk dalam uji biosorpsi bakteri yang digunakan harus berumur 24 jam. Hal ini dilakukan untuk meremajakan bakteri yang digunakan untuk uji biosorpsi.

4.2.1 Uji Laju Pertumbuhan Bakteri (jam ke 0 –jam ke 4)

Uji Laju pertumbuhan bakteri ini akan berlangsung selama 4 jam. Tahap ini merupakan tahap awal pada uji biosorpsi yang akan diperlakukan terhadap kedua variasi bakteri yaitu *Bakteri Bacillus S1* dan *Azotobacter S8*. Uji laju pertumbuhan bakteri ini akan diteliti di setiap *running* uji biosorpsi pada konsentrasi kromium 50 mg/L, 75 mg/L dan 100 mg/L.

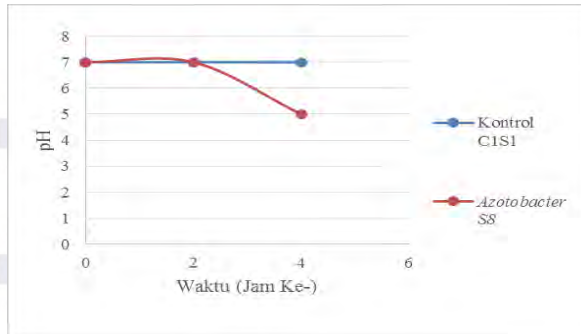
Pada laju pertumbuhan bakteri terdapat 3 parameter yang dianalisis yaitu sebagai berikut :

pH dan Suhu

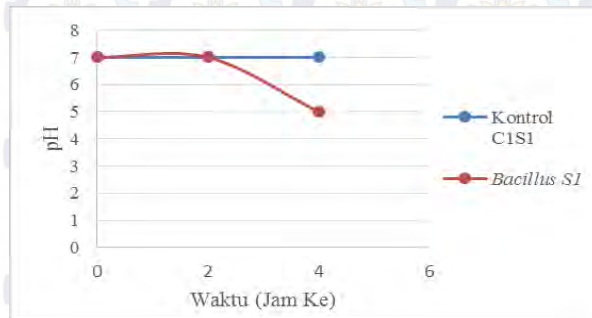
Menurut Trihadiningrum (2012), faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme adalah suhu, kondisi atmosferik pH dan tekanan osmosis. Dengan demikian pada penelitian ini dilakukan analisis mengenai pH dan suhu. Berdasarkan hasil penelitian, nilai pH pada analisis pH variasi konsentrasi 50 mg/L dan 75 mg/L bernilai sama baik pada perilaku salin ataupun tanpa salin pada kedua jenis bakteri (Tabel 4.4). Data penelitian menunjukkan rentang pH hasil analisis berkisar antara 7 pada jam ke 0 sampai jam ke 2 dan menurun pH nya menjadi 5 pada jam ke 4 (Gambar 4.6). Hal ini sesuai dengan *trend* nilai pH pada laju pertumbuhan bakteri di tahap uji pendahuluan yang telah dilakukan. Nilai pH normal yaitu 7 pada jam ke 0 dan jam ke 2, namun mengalami penurunan nilai pH pada jam ke 4 yaitu 6 (Tabel 4.2).

Tabel 4. 4 Hasil Analisis pH Pada Variasi Konsentrasi Kromium 50 mg/L dan 75 mg/L

No.	Jam ke-	pH		
		Kontrol	<i>Bacillus S1</i>	<i>Azotobacter S8</i>
1	0	7	7	7
2	2	7	7	7
3	4	7	5	5



(a)



(b)

Gambar 4. 6 Grafik Hasil Analisis pH dengan Perlakuan Salin dan Tanpa Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium Trivalen 50 mg/L dan 75mg/L.

Keterangan :

(a) Bakteri *Azotobacter S8*

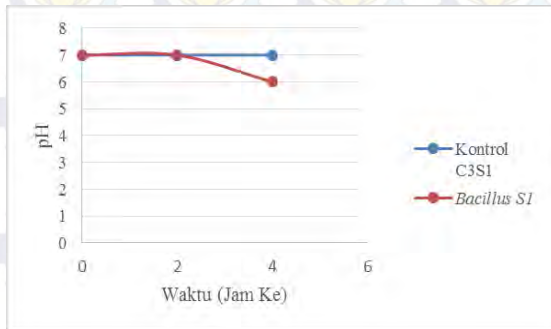
(b) Bakteri *Bacillus S1*

Data penelitian pH pada variasi konsentrasi 100 mg/L memiliki *trend* yang sama yaitu mengalami kesamaan nilai pada jam ke 0 dan jam ke 2, kemudian mengalami penurunann nilai pH pada jam ke 4. Namun terdapat perbedaan nilai pH bila dibandingkan dengan nilai pH pada variasi 50 mg/L dan 75 mg/L (Tabel 4.5).

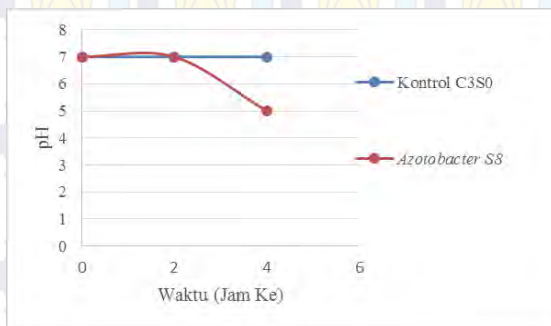
Tabel 4. 5 Analisis pH Pada Variasi Konsentrasi Kromium 100 mg/L

No.	Jam ke-	pH		
		Kontrol	<i>Azotobacter S8</i>	<i>Bacillus S1</i>
1	0	7	7	7
2	2	7	7	7
3	4	7	5	6

Pada konsentrasi 100 mg/L terdapat kesamaan data pada masing-masing bakteri baik pada perilaku salin dan tanpa salin.



(a)



(b)

Gambar 4. 7 Grafik Hasil Analisis pH dengan Perlakuan Salin dan Tanpa Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium Trivalen 100 mg/L.

Keterangan :

(a) *Bakteri Azotobacter S8*

(b) *Bakteri Bacillus S1*

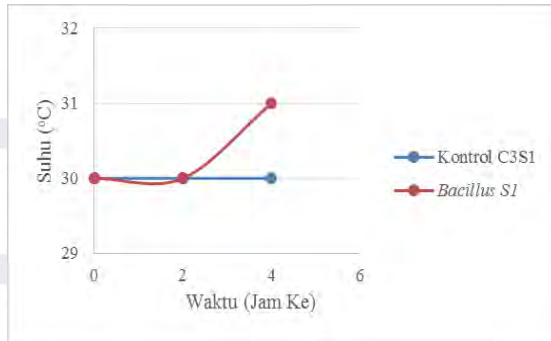
Nilai pH pada *Bakteri Bacillus S1*, memiliki kesamaan nilai baik dengan perlakuan salin dan tanpa salin. Pada *Bakteri Azotobacter S8* juga mengalami hal yang sama, memiliki kesamaan nilai pH baik pada perilaku salin dan tanpa salin. Pada jam ke 0 dan jam ke 2, antara *Bakteri Bacillus S1* dan *Azotobacter S8* jika dibandingkan dengan kontrol nilai pH nya sama yaitu 7. Namun nilai pH masing-masing jenis bakteri mengalami perubahan nilai pH pada jam ke 4 (Gambar 4.7). Pada *Bakteri Bacillus S1* nilai pH pada jam ke 4 adalah 6 sedangkan pada *Bakteri Azotobacter S8* nilai pH adalah 5.

Selain nilai pH, data pada suhu juga menunjukkan kesamaan data. Pada laju pertumbuhan bakteri di setiap *running* konsentrasi 50 mg/L, 75 mg/L dan 100 mg/L, nilai *trend* suhu bernilai sama baik pada perlakuan salin dan tanpa salin ataupun dari variasi jenis bakterinya. Suhu yang terbentuk berkisar antara 30°C hingga 31°C (Tabel 4.6).

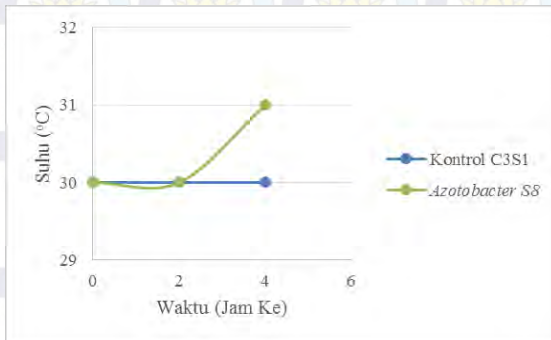
Pada jam ke 0 dan jam ke 2 baik pada perlakuan salin ataupun tanpa salin dengan variasi *Bakteri Azotobacter S8* dan *Bacillus S1*, suhu yang dihasilkan 30°C. Pada jam ke 4 suhu berubah naik menjadi 31°C (Gambar 4.8).

Tabel 4. 6 Hasil Analisis Suhu Pada Variasi Konsentrasi Kromium 50 mg/L, 75 mg/L ,100 mg/L

No.	Jam ke-	Suhu (°C)		
		Kontrol	<i>Azotobacter S8</i>	<i>Bacillus S1</i>
1	0	30	30	30
2	2	30	30	30
3	4	30	31	31



(a)



(b)

Gambar 4. 8 Grafik Hasil Analisis Suhu dengan Perlakuan Salin dan Tanpa Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium Trivalen 50 mg/L, 75 mg/L, 100 mg/L.

Keterangan :

(a) Bakteri *Azotobacter S8*

(b) Bakteri *Bacillus S1*

Bedasarkan data pH dan suhu, *running* laju pertumbuhan antara konsentrasi 50 mg/L, 75 mg/L, 100 mg/L dianalisis terjadi perubahan dan perbedaan nilai pada jam ke 4. Menurut Trihadiningrum (2012), adanya perubahan suhu ataupun perubahan pH pada laju pertumbuhan bakteri menunjukkan bahwa sedang terjadi proses metabolisme pada bakteri uji

tersebut. Hal ini dapat juga dibuktikan dengan mengkorelasikan data pH dan Suhu dengan data *Optical Density* (OD) pada nilai absorbansi yang didapatkan pada masing-masing bakteri dan perlakuannya.

Optical Density (OD) (A)

Optical Density (OD) bertujuan untuk mengetahui nilai absorbansi (A) pada sampel uji dengan menggunakan spektrofotometer. Pada penelitian ini, panjang gelombang yang digunakan adalah 600 nm (Nair, S dkk, 1993). Berdasarkan hasil penelitian, data *Optical Density* (OD) *running* konsentrasi 50 mg/L, 75 mg/L dan 100 mg/L memiliki nilai absorbansi yang berbeda beda baik pada perlakuan salin dan tanpa salin.

Pada *running* konsentrasi 50 mg/L pada perlakuan salin dan tanpa salin memiliki absorbansi yang berbeda. Namun *trend* pada nilai absorbansi masing-masing perlakuan dan variasi bakteri menunjukkan peningkatan nilai absorbansi (Tabel 4.7 dan Tabel 4.8). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri dapat beradaptasi dan berkembang biak pada media *Nutrient Broth* (NB).

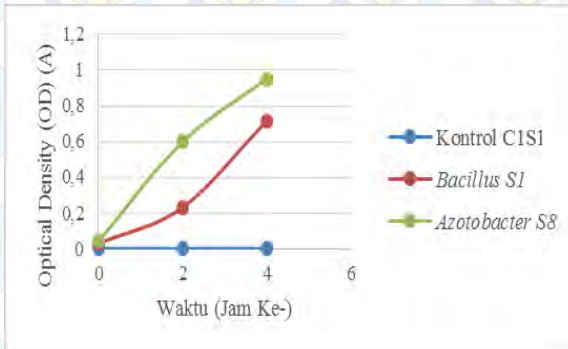
Tabel 4. 7 Hasil Analisis *Optical Density* (OD) Pada Variasi Konsentrasi Kromium 50 mg/L dengan Perlakuan Salin

No.	Jam ke-	<i>Optical Density</i> (OD) (A)		
		Kontrol	<i>Azotobacter S8</i>	<i>Bacillus S1</i>
1	0	0	0,043	0,029
2	2	0	0,6	0,232
3	4	0	0,953	0,718

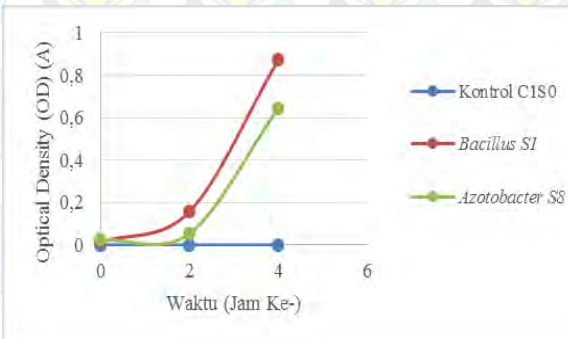
Tabel 4. 8 Hasil Analisis *Optical Density* (OD) Pada Variasi Konsentrasi Kromium 50 mg/L dengan Perlakuan Tanpa Salin

No.	Jam ke-	<i>Optical Density</i> (OD) (A)		
		Kontrol	<i>Azotobacter S8</i>	<i>Bacillus S1</i>
1	0	0	0,025	0,014
2	2	0	0,055	0,158

No.	Jam ke-	Optical Density (OD) (A)		
		Kontrol	<i>Azotobacter S8</i>	<i>Bacillus S1</i>
3	4	0	0,645	0,872



(a)



(b)

Gambar 4. 9 Grafik Hasil Analisis *Optical Density* (OD) Pada Variasi Konsentrasi Kromium Trivalen 50 mg/L.

Keterangan :

(a) *Perlakuan Salin*

(b) *Perlakuan Tanpa Salin*

Pada *running* konsentrasi 75 mg/L dan konsentrasi 100 mg/L pada perlakuan salin dan tanpa salin memiliki absorbansi yang berbeda tidak berbeda dengan *running* pada konsentrasi 50mg/L.

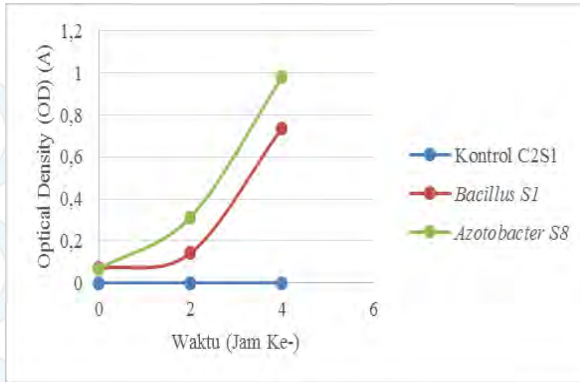
Tabel 4. 9 Hasil Analisis *Optical Density* (OD) Pada Variasi Konsentrasi Kromium 75 mg/L dengan Perlakuan Tanpa Salin

No.	Jam ke-	<i>Optical Density</i> (OD) (A)		
		Kontrol	<i>Azotobacter</i> S8	<i>Bacillus</i> S1
1	0	0	0,068	0,069
2	2	0	0,313	0,142
3	4	0	0,979	0,738

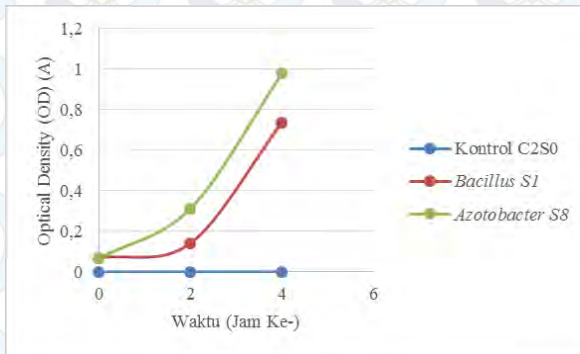
Tabel 4. 10 Hasil Analisis *Optical Density* (OD) Pada Variasi Konsentrasi Kromium 75 mg/L dengan Perlakuan Salin

No.	Jam ke-	<i>Optical Density</i> (OD) (A)		
		Kontrol	<i>Azotobacter</i> S8	<i>Bacillus</i> S1
1	0	0	0,068	0,069
2	2	0	0,313	0,242
3	4	0	0,679	0,538

Data penelitian Pada Tabel 4.9 dan tabel 4.10 menunjukkan bahwa nilai absorbansi pada *running* konsentrasi 75 mg/L baik dengan perlakuan salin ataupun tanpa salin menunjukkan peningkatan. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri dapat beradaptasi dan berkembang biak pada media *Nutrient Broth* (NB).



(a)



(b)

Gambar 4. 10 Grafik Hasil Analisis *Optical Density* (OD) dengan Perlakuan Salin dan Tanpa Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium Trivalen 75 mg/L.

Keterangan :

(a) *Perlakuan Salin*

(b) *Perlakuan Tanpa Salin*

Tabel 4. 11 Hasil Analisis *Optical Density* (OD) Pada Variasi Konsentrasi Kromium 100 mg/L dengan Perlakuan Tanpa Salin

No.	Jam ke-	<i>Optical Density</i> (OD) (A)		
		Kontrol	<i>Azotobacter</i> S8	<i>Bacillus</i> S1
1	0	0	0,068	0,043
2	2	0	0,198	0,226
3	4	0	0,761	0,805

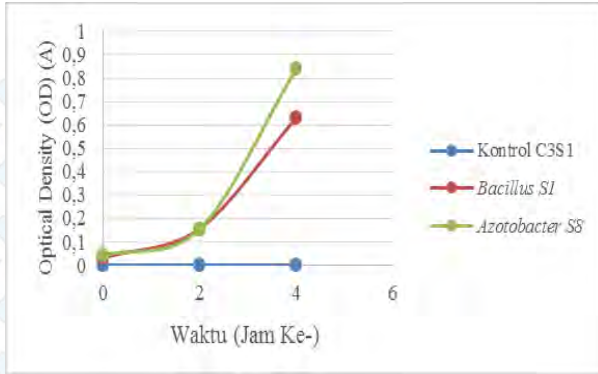
Tabel 4. 12 Hasil Analisis *Optical Density* (OD) Pada Variasi Konsentrasi Kromium 100 mg/L dengan Perlakuan Salin

No.	Jam ke-	<i>Optical Density</i> (OD) (A)		
		Kontrol	<i>Azotobacter</i> S8	<i>Bacillus</i> S1
1	0	0	0,042	0,032
2	2	0	0,155	0,156
3	4	0	0,84	0,63

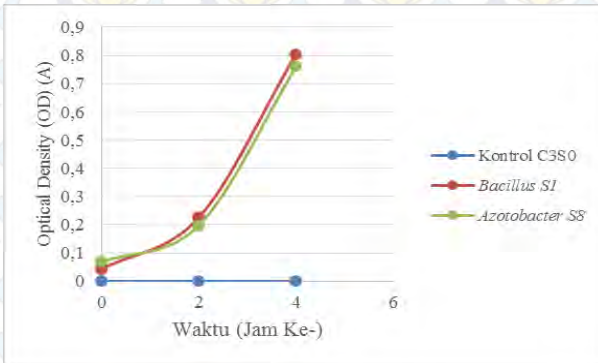
Data penelitian Pada Tabel 4.11 dan Tabel 4.12 menunjukkan bahwa nilai absorbansi pada *running* konsentrasi 100 mg/L baik dengan perlakuan salin ataupun tanpa salin menunjukkan peningkatan. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri dapat beradaptasi dan berkembang biak pada media *Nutrient Broth* (NB) (Gambar 4.11).

Berdasarkan data parameter suhu, pH dan *Optical Density* dapat dikorelasikan. Adanya perubahan nilai pH dan suhu pada jam ke 4 dan peningkatan nilai absorbansi pada setiap jamnya (jam ke 0, ke 2, an ke 4) menunjukkan bahwa bakteri dapat beradaptasi dan berekmbang biak pada media cair *Nutrient Broth* (NB).

Selanjutnya bakteri yang sudah berkembang biak dalam media cair *Nutrient Broth* (NB) akan di *centrifuge* dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit.



(a)



(b)

Gambar 4. 11 Grafik Hasil Analisis *Optical Density (OD)* dengan Perlakuan Salin dan Tanpa Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium Trivalen 100 mg/L.

Keterangan :

(a) *Perlakuan Tanpa Salin*

(b) *Perlakuan Salin*

Hal ini dilakukan untuk mendapatkan filtrat bakteri. Kemudian filtrat bakteri akan digunakan untuk uji biosorpsi dengan menggunakan larutan kromium trivalen tanpa media

dengan perlakuan salin dan tanpa salin pada masing-masing reaktor uji.

4.2.2 Uji Biosorpsi (jam ke 4-jam ke 8)

Biosorpsi dapat didefinisikan sebagai penghapusan logam atau metaloid spesies, senyawa dan partikulat yang merupakan solusi dengan menggunakan bahan biologis (Gadd, 1993). Uji biosorpsi bakteri ini akan berlangsung selama 4 jam. Tahap ini merupakan tahapan utama pada uji biosorpsi yang akan diperlakukan terhadap kedua variasi bakteri yaitu *Bakteri Bacillus S1* dan *Azotobacter S8*. Uji biosorpsi bakteri ini akan diteliti di setiap *running* uji biosorpsi pada konsentrasi kromium 50 mg/L, 75 mg/L dan 100 mg/L.

Pada penelitian utama ini, teradapat 6 parameter yang dianalisis yaitu parameter suhu, pH dan Optial density (OD), Konsentrasi total kromium, berat kering bakteri, dan jumlah koloni bakteri.

Parameter suhu, pH dan Optical Density (OD) diambil sampelnya disetiap jam ke 0 yaitu start up dari jam ke 4 lanjutan dari jam laju pertumbuhan bakteri. Kemudian jam ke 2 yaitu jam ke 6 dan yang terakhir pada jam ke 4 yaitu pada jam ke 8. Sedangkan parameter konsentrasi total kromium akan diambil sampelnya pada setiap dua jam sekali sehingga terbentuk trend pada grafik. Untuk parameter berat bakteri dan jumlah koloni bakteri diambil pada jam ke 0 dan jam ke 4 saja. Hasil peelitian pada masing-masing parameter adalah sebagai berikut:

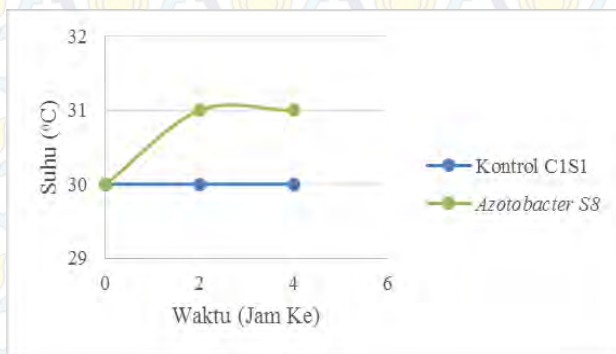
4.2.2.1 Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor lingkungan yang memepengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Untuk mengetahui pengaruh uji biosorpsi pada bakteri uji, maka analisis suhu dianalisis sebagai parameter pendukung. Berdasarkan hasil penelitan, dan pengamatan pada pemaparan konsentrasi kromium trivalen 50 mg/L , 75 mg/L an 100 mg/L, data suhu menunjukkan kesamaan baik pada perilaku salin ataupun tanpa salin. Data suhu pada uji biosorpsi berkisar 30°C-31°C (Tabel 4.13). Pada jam ke 0 nilai suhu menunjukkan 30°C,

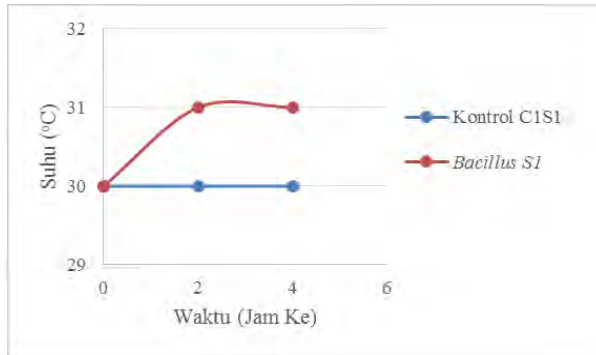
sedangkan pada jam ke 2 dan ke 4 suhu mengalami kenaikan menjadi 31°C. Hal ini dikarenakan terjadi proses biologis terhadap bakteri sehingga mempengaruhi faktor lingkungan di sekitarnya, salah satunya suhu, sehingga suhu mengalami peningkatan (Gambar 4.12).

Tabel 4. 13 Hasil Analisis Suhu Pada Variasi Konsentrasi Kromium 50 mg/L, 75 mg/L dan 100 mg/L dengan perlakuan Salin dan tanpa Salin

No.	Jam ke-	Suhu		
		Kontrol	<i>Azotobacter S8</i>	<i>Bacillus S1</i>
1	0	30	30	30
2	2	30	31	31
3	4	30	31	31



(a)



(b)

Gambar 4. 12 Grafik Hasil Analisis Suhu dengan Perlakuan Salin dan Tanpa Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 50 mg/L, 75 mg/L dan 100 mg/L.

Keterangan :

- (a) *Bakteri Azotobacter*
- (b) *Bakteri Bacillus*

4.2.2.2 pH

Selain suhu, parameter pH juga dianalisis sebagai parameter pendukung penelitian. Berdasarkan data yang dianalisis, *trend* pH pada uji biosorpsi sangat berbeda bila dibandingkan dengan *trend* pH saat laju pertumbuhan bakteri. pH pada uji biosorpsi cenderung bersifat asam, nilai pH dibawah pH normal 7 (Tabel 4.14 dan Tabel 4.15). Hal ini dikarenakan adanya paparan logam kromium trivalen (CrCl_3) yang bersifat asam sehingga memengaruhi kondisi pH yang terbentuk. Berdasarkan hasil analisis, terjadi kesamaan nilai pH pada *running* konsentrasi kromium trivalen 50 mg/L dan 75 mg/L baik pada perlakuan salin, tanpa salin dan dari variasi jenis bakterinya.. Pada perlakuan salin nilai pH pada masing-masing bakteri tidak konstan, sedikit fluktuatif. Pada *Bakteri Azotobacter S8* pada jam ke 2 mengalami kenaikan jika dibandingkan dengan pH kontrol (Gambar 4.13). Sedangkan pada perlakuan tanpa

salin hasil pH cenderung konstan sama dengan nilai kontrolnya (Gambar 4.14).

Tabel 4. 14 Hasil Analisis pH Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 50 mg/L dan 75 mg/L perlakuan Salin

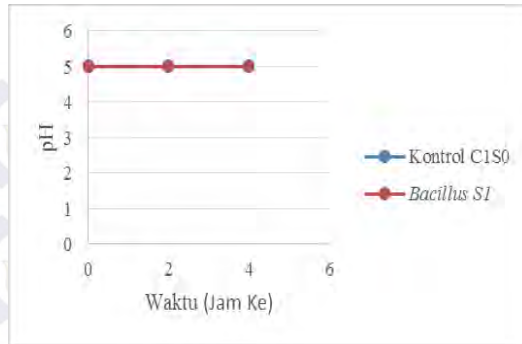
No.	Jam ke-	pH		
		Kontrol	<i>Azotobacter S8</i>	<i>Bacillus S1</i>
1	0	5	5	6
2	2	5	6	6
3	4	5	5	6

Tabel 4. 15 Hasil Analisis pH Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 50 mg/L dan 75 mg/L Perlakuan Tanpa Salin

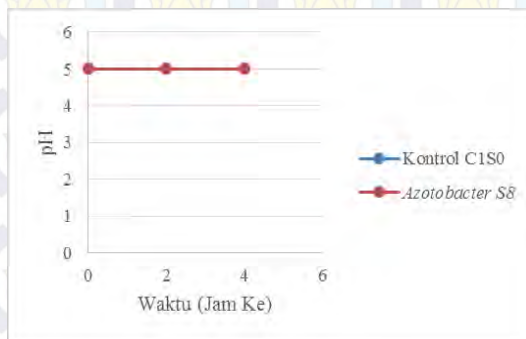
No.	Jam ke-	pH		
		Kontrol	<i>Azotobacter S8</i>	<i>Bacillus S1</i>
1	0	5	5	5
2	2	5	5	5
3	4	5	5	5



Gambar 4. 13 Grafik Hasil Analisis pH dengan Perlakuan Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 50 mg/L dan 75 mg/L.



(a)



(b)

Gambar 4. 14 Grafik Hasil Analisis pH dengan Perlakuan Tanpa Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 50 mg/L dan 75 mg/L.

Keterangan :

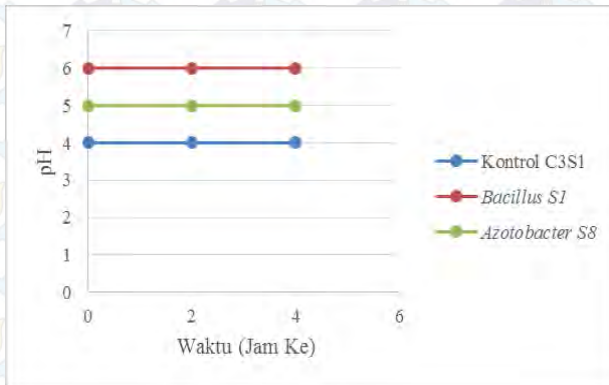
(a) Bakteri *Azotobacter*

(b) Bakteri *Bacillus*

Pada nilai pH konsentrasi 100 mg/L logam berat kromium trivalen antara perlakuan salin ataupun tanpa salin mengalami kesamaan data (Tabel 4.16). Bila dibandingkan dengan konsentrasi sebelumnya, nilai kontrol pada konsentrasi 100 mg/L cenderung lebih asam. Data pH dari jam ke 0 hingga jam ke 4 bernilai konstan pada masing-masing bakteri sehingga membentuk garis lurus (Gambar 4.15).

Tabel 4. 16 Hasil Analisis pH Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 100 mg/L Perlakuan Salin dan Tanpa Salin

No.	Jam ke-	pH		
		Kontrol	<i>Azotobacter S8</i>	<i>Bacillus S1</i>
1	0	4	5	6
2	2	4	5	6
3	4	4	5	6



Gambar 4. 15 Grafik Hasil Analisis pH dengan Perlakuan Tanpa Salin dan Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 100 mg/L.

4.2.2.3 *Optical Density (OD)*

Metode *Optical Density* dilakukan untuk mengetahui nilai absorbansi pada proses uji biosorpsi. Pada uji biosorpsi absorbensi yang didapatkan tidak sama *trendnya* jika dibandingkan pada nilai absorbensi pada laju pertumbuhan bakteri pada parameter OD. Terjadi perbedaan *trend* dikarenakan perbedaan faktor lingkungan, yaitu media hidup bakteri. Media hidup bakteri pada uji biosorpsi ini menggunakan larutan kromium trivalen yang disesuaikan dengan perlakuan masing-masing reaktor uji. Sehingga bakteri dipaksa untuk menyesuaikan

lingkungan hidupnya dengan lingkungan reaktor uji yang mengandung logam kromium trivalen. Tanpa adanya media *broth* sebagai makanan, bakteri akan menyesuaikan hidupnya dengan lingkungan sekitar sehingga akan melakukan proses absorpsi ataupun bioakumulasi. Sehingga akan diketahui trendnya dengan melakukan analisis *Optical Density (OD)*.

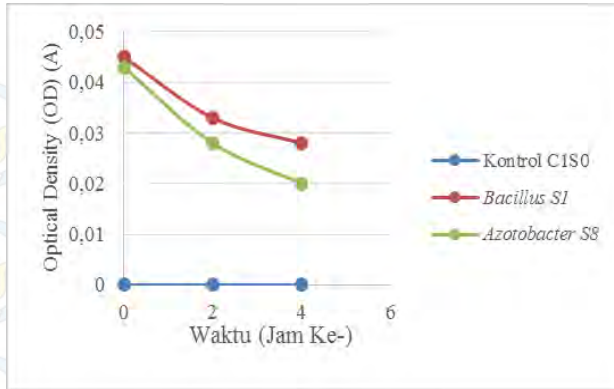
Berikut ini data mengenai absorpsi saat *running* analisis *Optical Density* dengan konsentrasi kromium trivalen 50 mg/L, 75 mg/L dan 100mg/L.

Tabel 4. 17 Hasil Analisis *Optical Density (OD)* Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 50 mg/L Perlakuan Salin

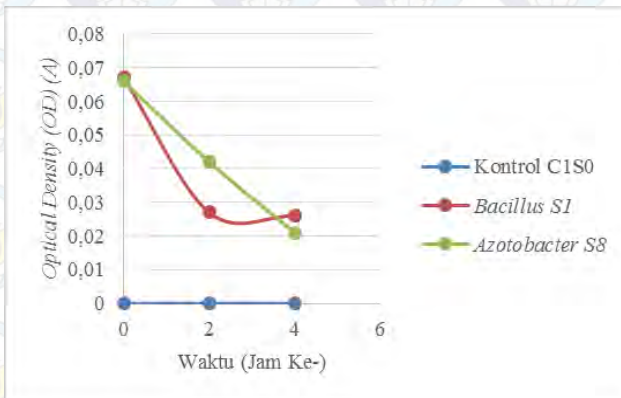
No.	Jam ke-	<i>Optical Density (OD) (A)</i>		
		Kontrol	<i>Azotobacter S8</i>	<i>Bacillus S1</i>
1	0	0	0,043	0,045
2	2	0	0,028	0,033
3	4	0	0,02	0,028

Tabel 4. 18 Hasil Analisis *Optical Density (OD)* Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 50 mg/L Perlakuan Tanpa Salin

No.	Jam ke-	<i>Optical Density (OD) (A)</i>		
		Kontrol	<i>Azotobacter S8</i>	<i>Bacillus S1</i>
1	0	0	0,066	0,067
2	2	0	0,042	0,027
3	4	0	0,021	0,026



(a)



(b)

Gambar 4. 16 Grafik Hasil Analisis pH dengan Perlakuan Tanpa Salin dan Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 50 mg/L.

Keterangan :

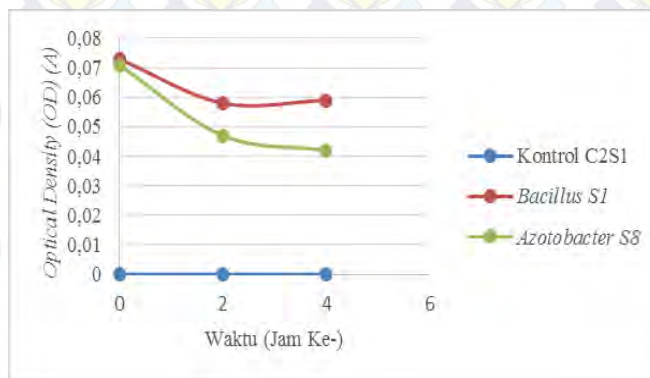
- (a) Perlakuan Salin
- (b) Perlakuan Tanpa Salin

Tabel 4. 19 Hasil Analisis *Optical Density (OD)* Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 75 mg/L Perlakuan Tanpa Salin

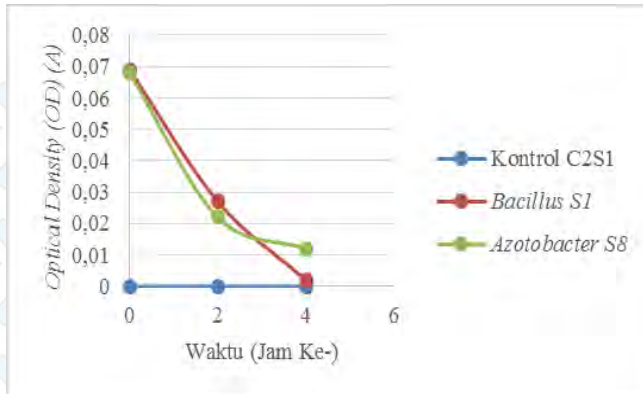
No.	Jam ke-	<i>Optical Density (OD) (A)</i>		
		Kontrol	<i>Azotobacter S8</i>	<i>Bacillus S1</i>
1	0	0	0,071	0,073
2	2	0	0,047	0,058
3	4	0	0,042	0,059

Tabel 4. 20 Hasil Analisis *Optical Density (OD)* Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 75 mg/L Perlakuan Tanpa Salin

No.	Jam ke-	<i>Optical Density (OD) (A)</i>		
		Kontrol	<i>Azotobacter S8</i>	<i>Bacillus S1</i>
1	0	0	0,068	0,069
2	2	0	0,022	0,027
3	4	0	0,012	0,002



(a)



(b)

Gambar 4. 17 Grafik Hasil Analisis pH dengan Perlakuan Tanpa Salin dan Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 75 mg/L.

Keterangan :

(a) Perlakuan Salin

(b) Perlakuan Tanpa Salin

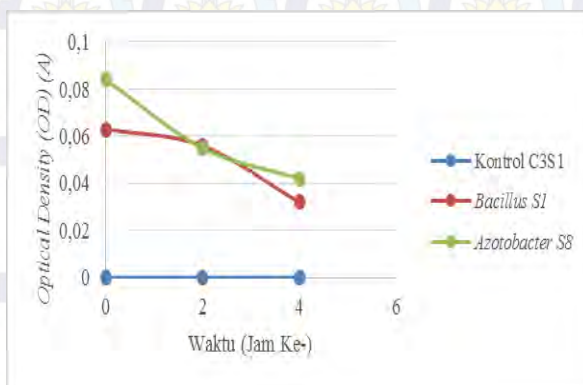
Pada Konsentrasi 100 mg/L baik pada perilaku tanpa salin ataupun dengan salin trend nilai absorbansi menurun. Hal ini bisa saja terjadi karena adanya proses biosorpsi ataupun bioakumulasi pada bakteri uji.

Tabel 4. 21 Hasil Analisis *Optical Density (OD)* Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 100 mg/L Perlakuan Tanpa Salin

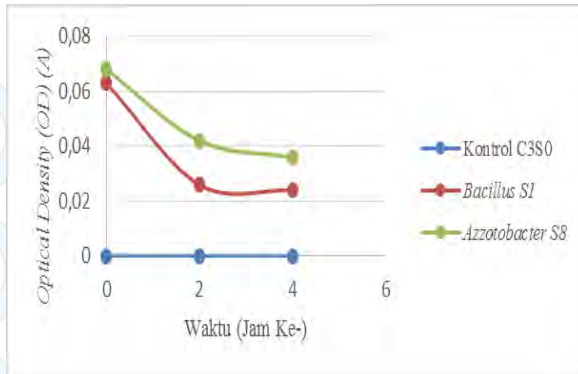
No.	Jam ke-	<i>Optical Density (OD)</i> (A)		
		Kontrol	<i>Azotobacter S8</i>	<i>Bacillus S1</i>
1	0	0	0,084	0,063
2	2	0	0,055	0,056
3	4	0	0,042	0,032

Tabel 4. 22 Hasil Analisis *Optical Density* (OD) Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 100 mg/L Perlakuan Tanpa Salin

No.	Jam ke-	<i>Optical Density</i> (OD) (A)		
		Kontrol	<i>Azotobacter</i> S8	<i>Bacillus</i> S1
1	0	0	0,068	0,063
2	2	0	0,042	0,026
3	4	0	0,036	0,024



(a)



(b)

Gambar 4. 18 Grafik Hasil Analisis pH dengan Perlakuan Tanpa Salin dan Salin Pada Variasi Konsentrasi Kromium trivalen 100 mg/L.

Keterangan :

- (a) Perlakuan Salin
- (b) Perlakuan Tanpa Salin

Berdasarkan data Optical Density pada masing-masing hasil running paparan konsentrasi 50 mg/L, 75 mg/L dan 100 mg/L, trend data menunjukkan penurunan nilai absorbansi. Proses biosorpsi ataupun bioakumulasi terjadi, sehingga mempengaruhi jumlah bakteri yang terdapat pada reaktor uji.

4.2.2.4 Total kromium

Analisis total kromium dilakukan untuk mengetahui proses biosorpsi ataupun bioakumulasi yang dilakukan oleh bakteri. Pada jam ke 0, ke 2 dan ke 4 sampel total kromium akan diambil sampelnya pada masing-masing reaktor uji pada running konsentrasi 50 mg/L, 75 mg/L dan 100 mg/L.

Parameter total kromium dianalisis pada jam ke 0, ke 2 dan jam 4 pada uji biosorpsi. Hal ini dilakukan untuk mengetahui biosorpsi ataupun bioakumulasi yang terjadi pada bakteri. Hal tersebut dibuktikan dengan pengambilan sampel pendukung data pada jam ke 0 dan jam ke 4. Berikut ini merupakan data pada

analisis total kromium pada kosnentrasi awal 50 mg/L, 75 mg/L dan 100 mg/L.

Tabel 4. 23 Hasil Analisis Total Kromium pada Konsentrasi 50mg/L

TANPA SALIN			SALIN		
KONTROL C1S0		59,2	KONTROL C1S1 AW		122,65
AzoC1S0	Jam ke 0	109,18	AzoC1S1	Jam ke 0	105,49
	Jam ke 2	46,11		Jam ke 2	101,44
	Jam Ke 4	57,91		Jam Ke 4	101,25
BaC1S0	Jam ke 0	106,05	BaC1S1	Jam ke 0	102,36
	Jam ke 2	39,1		Jam ke 2	102,73
	Jam Ke 4	60,49		Jam Ke 4	101,81

Tabel 4. 24 Hasil Analisis Total Kromium pada Konsentrasi 75mg/L

TANPA SALIN			SALIN		
KONTROL C2S0		203,8	KONTROL C2S1 AW		204,35
AzoC2S0	Jam ke 0	178,71	AzoC2S1	Jam ke 0	192,55
	Jam ke 2	185,54		Jam ke 2	186,83
	Jam Ke 4	183,51		Jam Ke 4	184,06
BaC2S0	Jam ke 0	179,27	BaC1S1	Jam ke 0	182,40
	Jam ke 2	185,17		Jam ke 2	181,3
	Jam Ke 4	184,43		Jam Ke 4	177,79

Tabel 4. 25 Hasil Analisis Total Kromium pada Konsentrasi 100mg/L

TANPA SALIN			SALIN		
KONTROL C2S0		239,21	KONTROL C3S1 AW		253,96
AzoC2S0	Jam ke 0	224,64	AzoC3S1	Jam ke 0	221,32
	Jam ke 2	217,07		Jam ke 2	230,91
	Jam Ke 4	223,9		Jam Ke 4	222,98
BaC2S0	Jam ke 0	214,12	BaC3S1	Jam ke 0	215,41

TANPA SALIN			SALIN		
	Jam ke 2	221,13		Jam ke 2	218,55
	Jam Ke 4	215,78		Jam Ke 4	218,18

Berdasarkan data-data dari hasil total kromium pada Tabel 4.23 hingga Tabel 4.25, diketahui bahwa data konsentrasi kromium awal tidak sesuai dengan data konsentrasi awal perhitungan yaitu 50 mg/L, 75 mg/L dan 100 mg/L. Hal tersebut dapat dilihat pada hasil kontrol masing-masing konsentrasi yang mengalami kenaikan nilai.

Hal tersebut dapat terjadi diakarenakan kesalahan dalam pembuatan larutan stock pada paparan larutan kromium trivalen dan pengaruh alat uji yang tidak dalam kondisi yang baik. Sehingga konsentrasi awal tidak sesuai dengan konsentrasi hasil yang diuji dengan metode *Atomic Absorbtion Spectrophotometer* (AAS).

Sehingga konsentrasi awal 50 mg/L berubah konsentrasi menjadi 100 mg/L, konsentrasi 75 mg/L berubah menjadi 200 mg/L dan pada konsentrasi 100 mg/L menjadi 250 mg/L.

Untuk menghitung prosentase removal digunakan perhitungan dengan menggunakan kontrol awal dari kontrol perlakuan uji biosorpsi pada masing-masing konsentrasi. Hal ini dilakukan karena kontrol tidak mengandung bakteri. Sehingga dari hasil perhitungan prosentase removal kromium di dapatkan data analisis seabgai berikut :

Tabel 4. 26 Hasil Analisis Prosentase (%) Total Kromium Pada Konsentrasi 100 mg/L dengan Konsentrasi Awal 50 mg/L

Konsentrasi Kromium	Jenis Bakteri	Salin (%)	Tanpa Salin (%)
50 mg/L	<i>Azotobacter S8</i>	17,44802	46,95915
	<i>Bacillus S1</i>	16,99144	42,960868

Tabel 4. 27 Hasil Analisis Prosentase (%) Total Kromium Pada Konsentrasi 200 mg/L dengan Konsentrasi Awal 75 mg/L

Konsentrasi Kromium	Jenis Bakteri	Salin (%)	Tanpa Salin (%)
75 mg/L	<i>Azotobacter S8</i>	9,929043	9,9558391
	<i>Bacillus S1</i>	12,99731	9,5044161

Tabel 4. 28 Hasil Analisis Prosentase (%) Total Kromium Pada Konsentrasi 250 mg/L dengan Konsentrasi Awal 100 mg/L

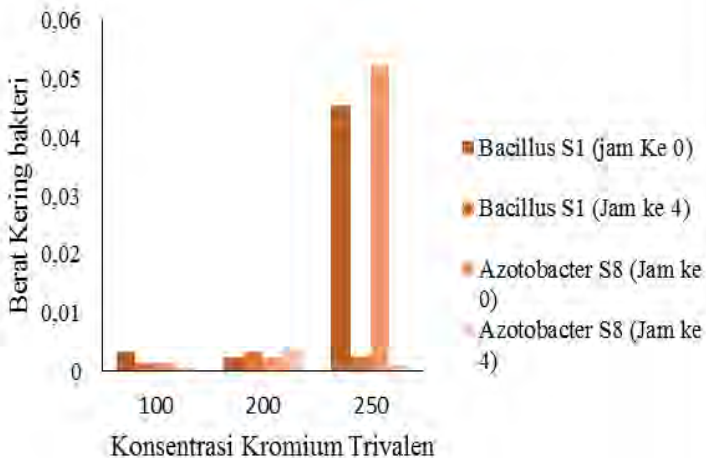
Konsentrasi Kromium	Jenis Bakteri	Salin (%)	Tanpa Salin (%)
100 mg/L	<i>Azotobacter S8</i>	12,19877	6,4002341
	<i>Bacillus S1</i>	14,08883	9,794741

Berdasarkan hasil analisis prosentase total kromium pada Tabel 4.26-4.28 diketahui bahwa prosentase removal terbesar terjadi pada konsentrasi paparan logam kromium trivalen dengan konsentrasi 100 mg/L atau pada konsentrasi awal paparan logam kromium 50 mg/L. Pada kedua bakteri uji dengan perlakuan tanpa salin ini, prosentase removal oleh Bakteri *Azotobacter S8* sebesar 46,95 % dan Bakteri *Bacillus S1* 42,96 %. Capaian prosentase removal yang tidak begitu tinggi ini, disebabkan karena kemampuan bakteri dengan paparan logam berat dengan range konsentrasi yang telah ditentukan terlalu tinggi. Untuk mengetahui nilai prosentase removal maksimum dapat dilakukan pada penelitian selanjutnya dengan menurunkan konsentrasi paparan kromium yang diberikan. Sehingga jika terdapat perairan yang tercemar logam berat kromium, dapat dikelola secara biologis dengan pengelolaan bioremediasi dengan menggunakan bakteri Uji *Azotobacter S8* dan *Bacillus S1* ini. Sehingga kedua bakteri uji ini, berguna sebagai agen bioremediasi pada wilayah perairan yang tercemar logam berat kromium.

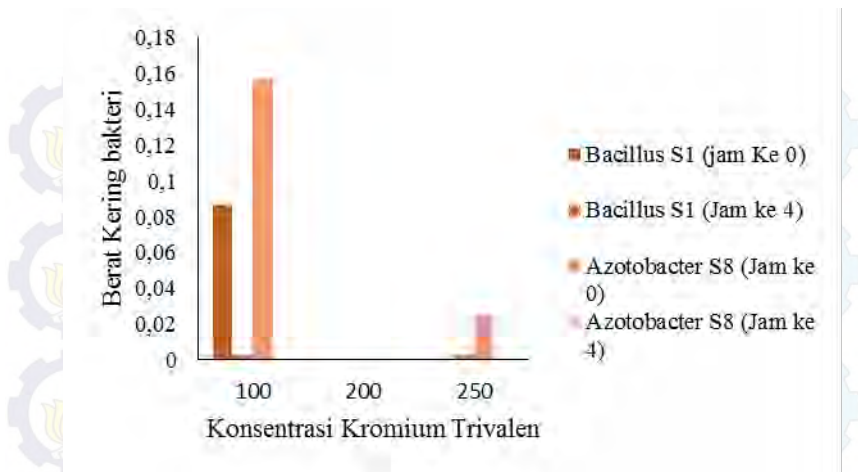
4.2.2.5 Berat Kering Bakteri

Berat kering bakteri merupakan salah satu metode untuk mengukur pertumbuhan mikroorganismenya (Trihadiningrum, 2012).

Berat kering bakteri menunjukkan jumlah bakteri yang terkandung dalam larutan dengan cara menyaring bakteri dengan menggunakan kertas saring dengan bantuan *vacum pump*. Untuk membuktikan adanya proses biosorpsi atau bioakumulasi pada bakteri uji, parameter berat kering bakteri dapat menjadi data pendukung untuk melengkai keterkaitan data mengenai pertumbuhan bakteri pada penelitian ini. Pada penelitian ini analisis mengenai berat kering bakteri dilakukan pada jam ke 0 dan jam ke 4 pada Uji biosorpsi. Pengambilan sampel dilakukan di jam ke 0 untuk mengetahui berat bakteri pada jam tersebut saat awal mula uji biosorpsi. Sedangkan pengambilan sampel dilakukan kembali pada jam ke 4 bertujuan untuk mengetahui berat kering bakteri saat di akhir analisis. Hasil analisis bakteri pada *running* konsentrasi uji biosorpsi dapat dilihat pada Gambar 4.19 berikut ini :



(a)



(b)

Gambar 4.19 Grafik Analisis Mengenai Berat Kering Bakteri pada jam ke 0 dan jam ke 4 Pada Masing-Masing Konsentrasi Paparan Kromium

Keterangan :

- (a) Perlakuan Salin
- (b) Perlakuan Tanpa Salin

Berdasarkan data pada gambar 4.19, Bakteri uji *Azotobacter S8* pada perilaku salin dengan konsentrasi 250 mg/L kromium trivalen memiliki jumlah bakteri yang cukup tinggi jika dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Sedangkan pada kondisi tanpa salin Bakteri *Bacillus S1* memiliki nilai pertumbuhan bakteri yang tinggi pada konsentrasi paparan kromium trivalen 100 mg/L. Berdasarkan data penelitian tersebut, dapat diketahui bahwa pada kondisi salin diantara kedua bakteri uji, Bakteri *Azotobacter S8* dan *Bacillus S1* dapat bertahan pada keadaan salin dengan paparan logam berat kromium yang cukup tinggi. Sedangkan tanpa pengaruh salinitas, jumlah kedua bakteri meningkat pada konsentrasi 100 mg/L. Pada konsentrasi 200 mg/L dengan keadaan tanpa salin terjadi penurunan jumlah bakteri dan mengalami peningkatan pada konsentrasi berikutnya. Hal ini disebabkan karena bakteri pada jam ke 0 dan jam ke 4

mengalami proses adaptasi terhadap paparan kromium yang diberikan saat uji biosorpsi berlangsung. Menurut Waluyo (2009), Pada saat proses biosorpsi berlangsung, enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme memodifikasi struktur polutan beracun menjadi tidak kompleks sehingga menjadi metabolit yang tidak beracun dan berbahaya. Mineralisasi atau yang bisa diartikan dengan dekomposisi suatu xenobiotik menjadi ion anorganik dan karbon dioksida terjadi hampir pada semua keadaan karena menghasilkan produk akhir yang biasanya tidak bersifat toksik.

4.2.2.6 Jumlah Koloni Bakteri

Jumlah koloni bakteri merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui pertumbuhan bakteri selain berat kering bakteri. Pengamatan jumlah koloni bakteri bertujuan untuk mengetahui banyaknya koloni bakteri yang dapat tumbuh pada media agar pada cawan petri dari sampel yang diencerkan secara seri. Perhitungan koloni tersebut dihitung menggunakan *Bacteria Colony Counter* (Stuart, UK). Prinsip dari metode hitungan cawan adalah menumbuhkan sel mikroba yang masih hidup pada metode agar, sehingga sel mikroba tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop. Cawan media agar yang berisi pembiakan dipilih dan dihitung dengan kriteria memiliki 30-300 koloni. Jumlah mikroba dalam sampel ditentukan dengan mengalikan jumlah koloni dengan faktor pengenceran pada cawan media agar. Satuan yang digunakan untuk menyatakan jumlah koloni bakteri adalah CFU/mL (CFU = *Colony Forming Units*) (Waluyo 2008).

Pada penelitian ini, sampel yang diencerkan secara seri dimulai dari pengenceran 10^{-7} hingga 10^{-9} . Parameter Jumlah Koloni bakteri ini hanya diambil saat jam ke 0 dan jam ke 4 saja. Sample yang digunakan saat menghitung jumlah koloni merupakan sample hasil uji biosorpsi. Dari larutan sample tersebut diambil sebanyak 1 mL untuk dimasukkan kedalam tabung reaksi pengencer pertama (10^{-1}) yang berisi 9 mL larutan salin. Lalu diambil 1 mL dari 10^{-1} kedalam pengencer 10^{-2} dan tabung dikocok hingga homogen. Percobaan diulangi sampai

seterusnya hingga pengenceran ke 10^{-9} . Pengamatan mengambil pengenceran 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} . Larutan diambil dengan pipet tetes dan diratakan dengan *glass rodd* sebanyak 0,1 mL larutan untuk dibiakan pada media *Nutrient Agar* (NA). *Glass rodd* yang digunakan harus dalam keadaan sudah steril, yaitu dengan cara direndam dalam alkohol dan dipanaskan dengan api. Semua cawan petri diinkubasi selama 24 jam didalam inkubator. Hasil pengamatan jumlah koloni bakteri pada cawan petri setelah diinkubasi 24 jam.

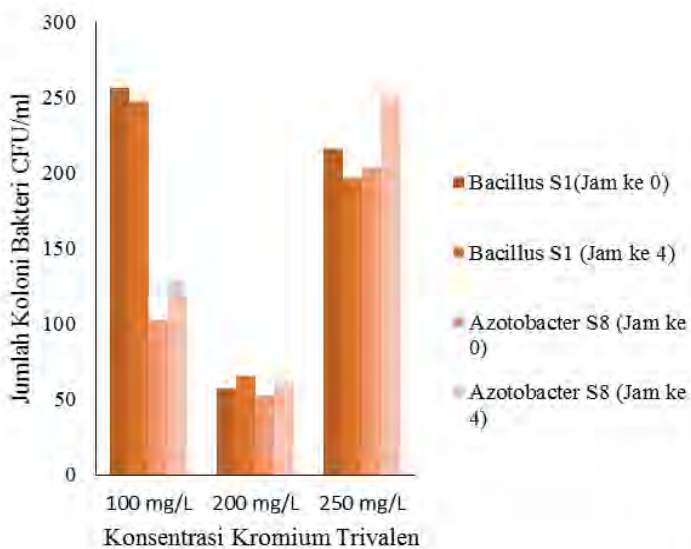
Pada penelitian yang dilakukan, jumlah koloni bakteri yang terbentuk memiliki nilai yang berada dalam rentang ketentuan perhitungan koloni bakteri yaitu pada rentang 30-300 koloni bakteri. perhitungan koloni bakteri berlaku sebagai berikut: bila perhitungan <30 maka diambil jumlah koloni dengan pengenceran terendah. Bila perhitungan >300 dari semua pengenceran, maka jumlah koloni diambil dari pengenceran tertinggi. Bila ada 2 cawan dengan pengenceran rendah dan tinggi yang berurutan dan mempunyai jumlah koloni 30-300 dan hasil bagi jumlah koloni pengenceran tertinggi dan terendah ≤ 2 maka jumlah yang dicantumkan adalah nilai rata-rata. Jika hasil bagi pengenceran tertinggi dan terendah >2 maka jumlah yang dilaporkan adalah dari cawan dengan pengenceran terendah. Semakin tinggi tingkat pengenceran yang dilakukan maka jumlah koloni bakteri semakin sedikit yang akan terbentuk. Hal ini dapat dilihat pada pengenceran 10^{-7} yang memiliki jumlah koloni yang terlalu banyak dan pada pengenceran 10^{-9} memiliki jumlah koloni paling sedikit pada cawan. Jumlah koloni yang berkurang seiring dengan peningkatan pengenceran disebabkan karena jumlah bakteri yang terkandung dalam tiap volume inokulan yang dipindahkan semakin berkurang akibat pengenceran yang dilakukan.

Jumlah sel bakteri yang terdapat dalam sampel dapat ditentukan dengan rumus sebagai berikut.

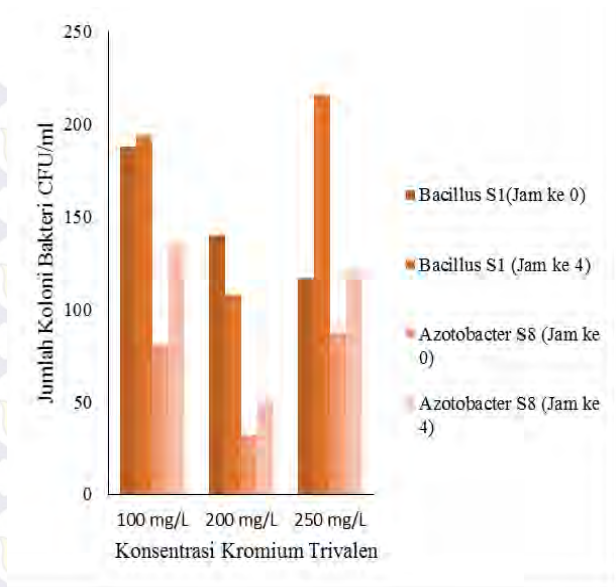
$$\sum \text{sel} = \sum \text{koloni} \times \frac{1}{fp} \times \frac{1}{\sum \text{inokulan}} \quad (\text{Waluyo, 2009})$$

Satuan untuk $\sum \text{sel}$ adalah CFU/mL dimana CFU merupakan *colony forming units* per mL. Semakin besar

pengenceran, maka jumlah koloni semakin kecil sehingga jumlah mikroorganismenya dapat dihitung. Fp merupakan faktor pengenceran sedangkan Σ inokulan merupakan larutan pengencer yang diambil untuk diinokulasikan. Pada percobaan volume inokulan yang digunakan sebesar 0,1 mL. Jumlah bakteri pada percobaan baik cawan sebar maupun cawan petri tidak dapat dihitung, karena tidak memenuhi kriteria. Berdasarkan Penelitian yang telah dilakukan jumlah koloni bakteri pada kedua bakteri uji dengan perlakuan salin dan tanpa salin dapat diketahui pada gambar 4.20 berikut :



(a)



(b)

Gambar 4.20 Hasil Analisis Jumlah Koloni Bakteri Pada Jam Ke 0 dan Jam Ke 4 Pada Konsentrasi Kromium Trivalen (Cr^{3+}) 100 mg/L, 200 mg/L dan 250 mg/L

Keterangan :

- (a) Perlakuan Salin
- (b) Perlakuan Tanpa Salin

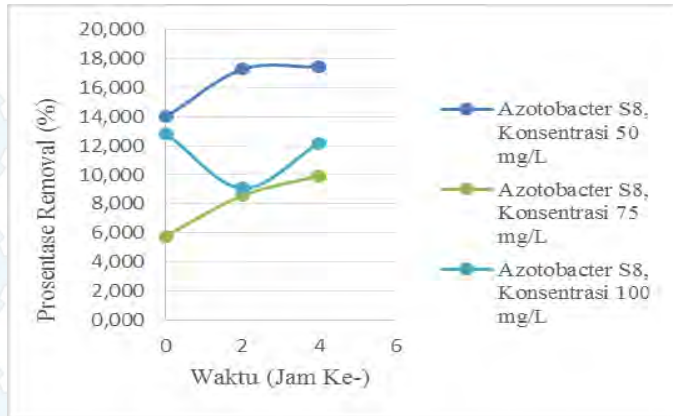
Berdasarkan Gambar 4.20, Jumlah koloni yang terbentuk baik pada perlakuan salin ataupun tanpa salin berada pada range perhitungan yaitu 30-300 koloni bakteri.

Pada hasil analisis kedua bakteri uji dengan perlakuan salin (Gambar 4.20 a), jika dibandingkan Jumlah koloni yang terbentuk antara bakteri *Bacillus S1* dan *Azotobacter S8*, Bakteri *Bacillus S1* memiliki jumlah yang lebih banyak jika dibandingkan dengan Bakteri *Azotobacter S8*. Namun kedua bakteri uji sama-sama mengalami penurunan jumlah koloni bakteri pada konsentrasi 200 mg/L.

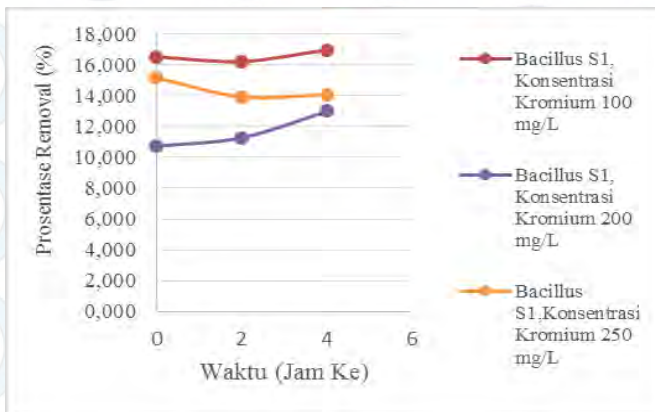
Berdasarkan hasil analisis kedua bakteri uji tanpa salin (Gambar 4.20 b) jumlah koloni yang terbentuk pada Bakteri *Bacillus* S1 dan konsentrasi kromium 100 mg/L adalah sebanyak 188×10^7 cfu/ml pada jam ke 0 dan menjadi 194×10^7 cfu/ml pada jam ke 4. Sedangkan jumlah koloni bakteri *Azotobacter* S8 sebanyak 81×10^7 cfu/ml pada jam ke 0 dan menjadi sebanyak 135×10^7 pada jam ke 4. Jumlah koloni yang terbentuk seiring dengan prosentase removal total kromium trivalen dan berat kering bakteri. Semakin besar prosentase removal menunjukkan maka jumlah koloni bakteri semakin sedikit pula, sedangkan semakin kecil prosentase removal semakin banyak jumlah koloni yang terbentuk.

4.2.3 Hubungan Prosentase Removal Kromium (Cr^{3+}) (%) dengan Waktu Uji Biosorpsi Terhadap Bakteri Uji

Hubungan prosentase removal kromium dengan waktu biosorpsi kromium dikorelasikan dengan tujuan untuk mengetahui biosorpsi yang terjadi pada kedua bakteri terhadap waktu yang ditentukan. Menurut Priadie (2012), dalam proses uji biosorpsi diketahui upaya bakteri dalam melakukan penurunan kadar polutan yang diberikan. Untuk mengetahui *trend* prosentase removal kromium trivalen dengan waktu jam uji sampling yang diberikan terhadap bakteri uji sebagai berikut (Gambar 4.19 – Gambar 4.20) :



(a)

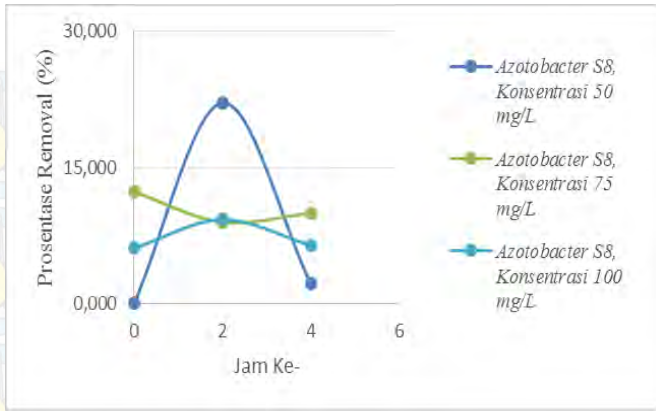


(b)

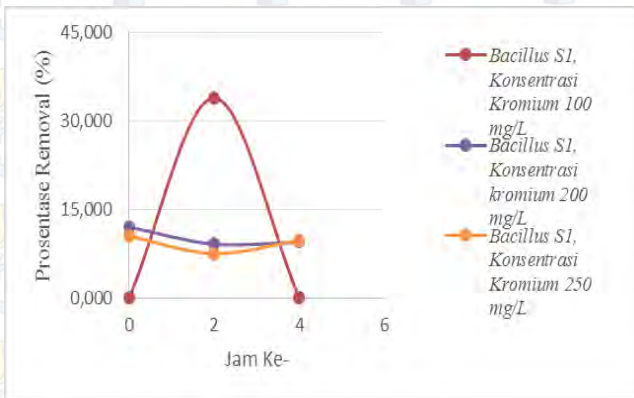
Gambar 4. 21 Grafik Hasil Analisis Prosentase Kromium Trivalen di Setiap Waktu Sampling Pada perlakuan Salin dengan konsentrasi paparan kromium trivalen yang diberikan

Keterangan :

- (a) Bakteri *Azotobacter S8*
- (b) Bakteri *Bacillus S1*



(a)



Gambar 4. 22 Grafik Hasil Analisis Prosentase Kromium Trivalen di Setiap Waktu Sampling pada Perlakuan Tanpa Salin dengan konsentrasi paparan kromium trivalen yang diberikan

Keterangan :

- (a) Bakteri *Azotobacter S8*
- (b) Bakteri *Bacillus S1*

Berdasarkan data hasil prosentase kromium pada setiap jam sampling pada uji biosorpsi, diketahui pada tabel 4.29 terdapat hasil yang bernilai 0. Hal tersebut terjadi karena proses

adaptasi atau terjadinya desorpsi pada bakteri di jam awal uji biosorpsi berlangsung.

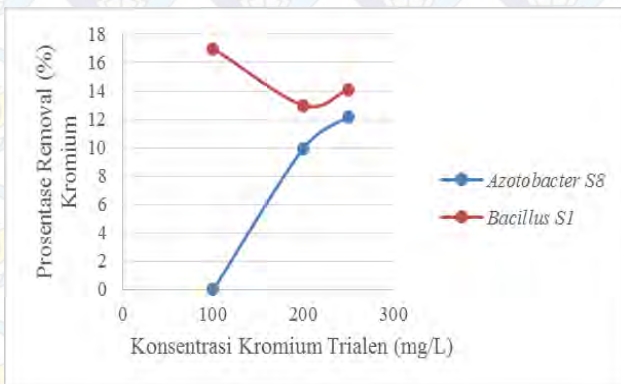
Sedangkan pada jam ke 0 baik pada bakteri dengan perlakuan pemberian salin ataupun tanpa salin pada Gambar 4.19 dan pada Gambar 4.20, bakteri mengalami penurunan nilai prosentase ataupun kenaikan di setiap perlakuan yang diberikan. Hal ini terjadi karena bakteri mengalami proses desorpsi/adaptasi diawal karena faktor paparan pencemar yang diberikan. Sehingga nilai prosentase bakteri mengalami penurunan ataupun kenaikan jika dibandingkan dengan jam berikutnya. Namun saat jam ke 2, pada kedua bakteri uji perlakuan tanpa salin ataupun dengan salin, jumlah prosentase bakteri mengalami peningkatan dan penurunan kembali. Peningkatan prosentase ataupun penurunan nilai pada tiap jam uji, dapat terjadi karena bakteri yang dapat beradaptasi dengan paparan pencemar yang diberikan mengalami proses biosorpsi terhadap paparan logam. Sehingga, jika bakteri mengalami peningkatan//penurunan prosentase removal dari jam sebelumnya, berarti bakteri yang bertahan melakukan modifikasi terhadap struktur polutan beracun menjadi tidak kompleks. Saat proses ini berlangsung, Mineralisasi atau yang bisa diartikan dengan dekomposisi suatu xenobiotik menjadi ion anorganik dan karbon dioksida, yang terjadi hampir pada semua keadaan karena menghasilkan produk akhir yang biasanya tidak bersifat toksik (Walluyo, 2009).

Untuk membuktikan proses biosorpsi secara *detail* di setiap jamnya, dapat dilakukan dengan cara mengecek nilai absorbansi paparan kromium trivalensi dengan menggunakan spektrofotometer. Namun pada penelitian ini tidak dilakukan, sehingga dapat menjadi saran dan masukan pada penelitian selanjutnya.

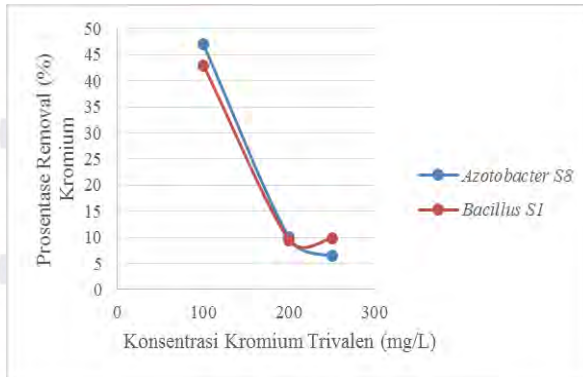
Selain itu dapat juga ditambahkan kontrol uji dengan perlakuan yang sama yaitu salin dan tanpa salin tanpa pemberian logam trivalen. Hal ini tidak dilakukan dalam penelitian ini sehingga penentuan bakteri mengalami biosorpsi ataupun bioakumulasi tidak diketahui dan dapat menjadi saran pada penelitian yang selanjutnya.

4.2.4 Hubungan Prosentase Removal Kromium (Cr^{3+}) (%) dengan Konsentrasi Kromium (Cr^{3+}) yang Diberikan Terhadap Bakteri Uji.

Hubungan prosentase kromium (Cr^{3+}) dengan konsentrasi kromium dikorelasikan dengan tujuan untuk mengetahui perbandingan nilai paparan konsentrasi yang diberikan kepada bakteri uji dengan hasil prosentase removal kromium. Selain itu, dapat digunakan sebagai acuan dalam proses pengelolaan pencemaran air oleh logam berat kromium secara biologis dengan syarat kondisi limbah yang ada sama dengan kondisi pada saat penelitian. Syarat-syarat yang di dapat dari penelitian ini adalah kedua bakteri uji yaitu Bakteri Azotobacter S8 dan Bacillus S1 merupakan bakteri mesofilik karena memiliki rentang suhu diantara 25-40°C. Dapat bertahan pada pH yang asam antara 4-6. Jika kondisi perairan memiliki kadar salinitas, kadar salinitas yang dianjurkan untuk penggunaan bakteri ini adalah 8,5 g/L.



(a)



(b)

Gambar 4. 23 Hasil Prosentase Kromium dengan konsentrasi Kromium Trivalen 100 mg/L, 200 mg/L dan 250 mg/L

Keterangan :

- (a) Perlakuan Salin
- (b) Perlakuan Tanpa Salin

Berdasarkan hasil penelitian, konsentrasi paparan kromium trivalen (Cr^{3+}) yang diberikan mempengaruhi hasil prosentase removal pada kedua bakteri uji. Pada Gambar 4.23 a dan b baik pada perlakuan salin ataupun tanpa salin, pada konsentrasi paparan kromium trivalen (Cr^{3+}) 100 mg/L menunjukkan prosentase removal kromium tertinggi, kecuali pada Bakteri *Azotobacter S8* dengan perlakuan salin yang mengalami penurunan nilai prosentase removal. Selain itu trend bakteri pada masing-masing konsentrasi menunjukkan bahwa pada jam ke 2 menuju jam ke 4 mengalami kenaikan prosentase removal bakteri. Hal tersebut dianalisis diakrenakan bakteri mengalami masa regenerasi, sehingga bakteri yang dapat beradaptasi dengan kondisi lingkungan barunya yang terpapar kromium trivalen mengalami pembelahan sel dan bertambah banyak dan terjadi peningkatan prosentase removal. Hal tersebut terbukti dengan meningkatnya nilai absorbansi pada data *Optical Density (OD)*.

4.2.5 Hubungan Konsentrasi Kromium Trivalent (Cr^{3+}) dengan Berat Kering Bakteri

Hubungan antara Konsentrasi Kromium Trivalent dengan berat kering bakteri merupakan korelasi yang menunjukkan pengaruh paparan kromium yang diberikan terhadap pertumbuhan bakteri. Sehingga jumlah bakteri/pertumbuhan bakteri dapat diketahui dari massa yang ditimbang. Konsentrasi kromium pada perlakuan tanpa salinitas menunjukkan nilai prosentase removal yang paling tinggi yaitu *Bakteri Azotobacter* mencapai 46,95%, sedangkan *Bacillus S1* mencapai 42,96%. Sedangkan Berat kering bakteri yang terbentuk adalah 0,0034 mg/L pada Bakteri *Bacillus S1* pada jam ke 0 dan menjadi 0,0014 mg/L pada jam ke 4. Sedangkan pada Bakteri *Azotobacter S8* pada jam ke 0 sebesar 0,0015 mg/L menjadi 0,0008 mg/L pada jam ke 4. Hal ini menunjukkan adanya korelasi antara prosentase dan berat kering bakteri bahwa semakin besar prosentase removal maka semakin sedikit bakteri yang ada.

4.2.6 Hubungan Konsentrasi Kromium Trivalent (Cr^{3+}) dengan Jumlah Koloni Bakteri

Hubungan antara konsentrasi kromium trivalent (Cr^{3+}) dengan jumlah koloni bakteri tidak jauh berbeda dengan hubungan antara konsentrasi kromium trivalent dan berat kering bakteri. Pada perlakuan tanpa salinitas dengan pemaparan kromium trivalent sebesar 100 mg/L, menunjukkan nilai prosentase removal yang paling tinggi yaitu *Bakteri Azotobacter* mencapai 46,95%, sedangkan *Bacillus S1* mencapai 42,96%.

Hal tersebut seiring dengan jumlah koloni bakteri yang terbentuk

Sedangkan Berat kering bakteri yang terbentuk adalah 0,0034 mg/L pada Bakteri *Bacillus S1* pada jam ke 0 dan menjadi 0,0014 mg/L pada jam ke 4. Sedangkan pada Bakteri *Azotobacter S8* pada jam ke 0 sebesar 0,0015 mg/L menjadi 0,0008 mg/L pada jam ke 4. Hal ini menunjukkan adanya korelasi

antara prosentase dan berat kering bakteri bahwa semakin besar prosentase removal maka semakin sedikit bakteri yang ada.

4.2.7 Hubungan Konsentrasi Kromium Trivalen (Cr^{3+}) dengan Berat Kering Bakteri dan Jumlah Koloni Bakteri

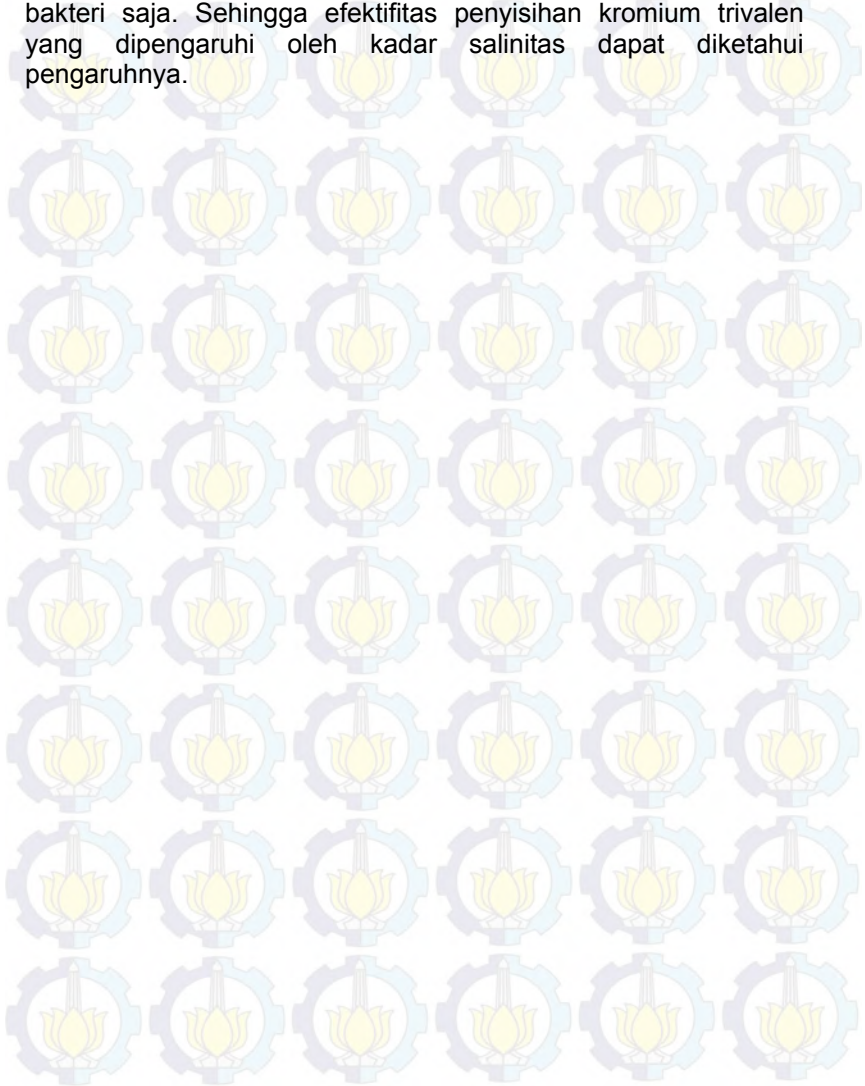
Hubungan konsentrasi kromium trivalen (Cr^{3+}) dengan berat kering bakteri dan jumlah koloni merupakan suatu keterkaitan pembuktian mengenai data pertumbuhan bakteri. berdasarkan penelitian yang dilakukan konsentrasi kromium pada perlakuan tanpa salinitas menunjukkan nilai prosentase removal yang paling tinggi yaitu *Bakteri Azotobacter* mencapai 46,95%, sedangkan *Bacillus S1* mencapai 42,96%. Sedangkan Berat kering bakteri yang terbentuk adalah 0,0034 mg/L pada Bakteri *Bacillus S1* pada jam ke 0 dan menjadi 0,0014 mg/L pada jam ke 4. Sedangkan pada Bakteri *Azotobacter S8* pada jam ke 0 sebesar 0,0015 mg/L menjadi 0,0008 mg/L pada jam ke 4.

Sedangkan data pada jumlah koloni menunjukkan penurunan jumlah bakteri pada prosentase removal yang tertinggi yaitu pada Bakteri *Bacillus S1* dengan konsentrasi kromium 100 mg/L adalah sebanyak 188×10^7 cfu/ml pada jam ke 0 dan menjadi 194×10^7 cfu/ml pada jam ke 4. Sedangkan jumlah koloni bakteri *Azotobacter S8* sebanyak 81×10^7 cfu/ml pada jam ke 0 dan menjadi sebanyak 135×10^7 pada jam ke 4. Korelasi antara berat kering bakteri dan jumlah koloni bakteri menunjukkan bahwa semakin besar prosentase removal maka semakin sedikit bakteri yang ada.

4.2.8 Pengaruh Salinitas terhadap Efektifitas Penyisihan Kromium Trivalen (Cr^{3+})

Pengaruh salinitas terhadap logam berat kromium berdasarkan dengan data kontrol salinitas yang diambil di setiap jam titik sampel pada masing-masing konsentrasi menunjukkan bahwa adanya salinitas tidak berpengaruh dengan prosentase removal logam berat kromium. Namun hal ini belum menjadi analisis yang tepat dikarenakan perlu adanya penambahan

kontrol pada saat uji biosorpsi berlangsung yaitu kontrol salinitas tanpa pemberian paparan kromium yang hanya berisi campuran bakteri saja. Sehingga efektifitas penyisihan kromium trivalen yang dipengaruhi oleh kadar salinitas dapat diketahui pengaruhnya.



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

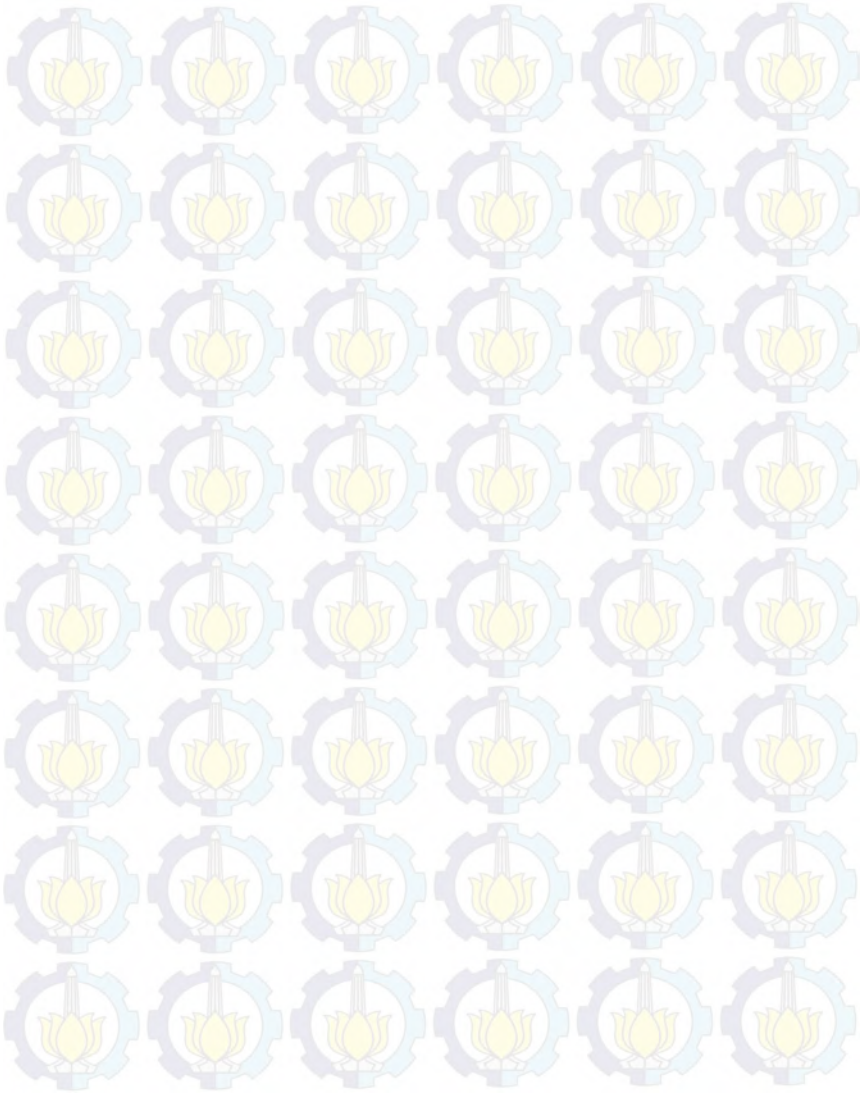
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diketahui kesimpulan sebagai berikut :

1. *Bakteri Azotobacter* dapat melakukan penyisihan kromium (Cr^{3+}) hingga mencapai 46,95% , sedangkan *Bacillus S1* mencapai 42,96% dengan kondisi tanpa salinitas pada konsentrasi awal kromium trivalen sebesar 50 mg/L.
2. Pengaruh salinitas terhadap % removal logam berat kromium tidak ada pengaruhnya

Saran dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

- Dapat dilakukan penambahan analisis kontrol pada uji biosorpsi dengan kontrol berisi bakteri dengan perlakuan yang salin dan tanpa salin tanpa mengguankan pencemar CrCl_3
- Dilakuakan analisis kromium trivalen pada setaip waktu uji sampling dengan mengguankan spektrofotometer. Sehingga data untuk proses biosorpsi/ bioakumulasi dapat diketahui.
- Penelitian lanjutan mengenai variasi konsentrasi logam berat yang disesuaikan dengan keadaan sesungguhnya di alam. Sehingga dapat menjadi laternatif pengolahan yang dapat membantu aktivitas manusia.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”



LAMPIRAN A

DATA PENELITIAN

A. Perhitungan Kromium (Cr)

Berikut ini perhitungan larutan tiap konsentrasi :

$$\text{CrCl}_3 = \left(\frac{\text{MrCrCl}_3 * 6\text{H}_2\text{O}}{\text{ArCr}} \right)$$

$$\text{CrCl}_3 = \left(\frac{266,44}{51,9961} \right)$$

$$\text{CrCl}_3 = 5,124230471 \text{ mg/L}$$

➤ Penelitian Pendahuluan

➤ Konsentrasi 10 ppm

$$\text{CrCl}_3 = 5,124230471 \times 10 \text{ mg/L}$$

$$\text{CrCl}_3 = 51,24831698 \text{ mg/L}$$

$$\text{CrCl}_3 = 0,05124 \text{ g/L}$$

➤ Konsentrasi 50 ppm

$$\text{CrCl}_3 = 5,124230471 \times 50 \text{ mg/L}$$

$$\text{CrCl}_3 = 256,2115 \text{ mg/L}$$

$$\text{CrCl}_3 = 0,25621 \text{ g/L}$$

➤ Konsentrasi 100 ppm

$$\text{CrCl}_3 = 5,124230471 \times 100 \text{ mg/L}$$

$$\text{CrCl}_3 = 512,423 \text{ mg/L}$$

$$\text{CrCl}_3 = 0,5124 \text{ g/L}$$

➤ Uji Bioremediasi

➤ Konsentrasi 50 ppm

$$\text{CrCl}_3 = 5,124230471 \times 50 \text{ mg/L}$$

$$\text{CrCl}_3 = 256,2115 \text{ mg/L}$$

$$\text{CrCl}_3 = 0,2562 \text{ g/L}$$

- Konsentrasi 75 ppm
 $\text{CrCl}_3 = 5,124230471 \times 75 \text{ mg/L}$
 $\text{CrCl}_3 = 384,31729 \text{ mg/L}$
 $= 0,3843 \text{ g/L}$
- Konsentrasi 100 ppm
 $\text{CrCl}_3 = 5,124230471 \times 100 \text{ mg/L}$
 $\text{CrCl}_3 = 512,423 \text{ mg/L}$
 $\text{CrCl}_3 = 0,5124 \text{ g/L}$

B. Perhitungan Larutan Salin

1. Konsentrasi 8,5 gr

$$8,5 \text{ gr} = \left(\frac{100}{1000}\right) \times 8,5 \text{ gr}$$

$$= 0,85 \text{ g/ml}$$

2. Konsentrasi 3 gr

$$3 \text{ gr} = \left(\frac{100}{1000}\right) \times 3 \text{ gr}$$

$$= 3 \text{ g/ml}$$

C. Perhitungan Media Penelitian

- Media Nutrient Broth (NB)

Untuk penggunaan media NB dalam 1 liter digunakan NB sebanyak 8 gram dengan merek Merc.

Laju Pertumbuhan Bakteri

$$: \frac{8 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} = \frac{x}{300 \text{ ml}}$$

$$: x = \frac{300 \text{ ml} \times 8 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}}$$

$$x = 2,4 \text{ gram}$$

- Media Nutrient Agar (NA)

Untuk penggunaan media NB dalam 1 liter digunakan NB sebanyak 20 gram dengan merek Merc.

Membuat Agar Miring

$$: \frac{20 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} = \frac{x}{5 \text{ ml}}$$

$$: x = \frac{5 \text{ ml} \times 20 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}}$$

$$x = 0,1 \text{ gram}$$

$$\text{Membuat agar pada cawan petri : } \frac{20 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} = \frac{x}{15 \text{ ml}}$$

$$x = \frac{15 \text{ ml} \times 20 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}}$$

$$x = 0,3 \text{ gram}$$

D. Hasil Uji Laboratorium dan Penelitian

➤ Hasil Uji Total kromium dari Laboratorium

Perlakuan tanpa salin.

No.	Konsentrasi Kromium (mg/L)	Kontrol (mg/L)	Jenis bakteri					
			<i>Bacillus S1</i>			<i>Azotobacter S8</i>		
			Jam ke0	Jam ke2	Jam ke4	Jam ke0	Jam ke2	Jam ke4
1	50	59,2	106,05	39,1	60,49	109,18	46,11	57,91
2	75	203,8	179,27	185,17	184,43	178,71	85,54	183,51
3	100	239,21	214,12	221,13	215,78	224,64	217,07	223,9

Perlakuan dengan salin.

No.	Konsentrasi Kromium (mg/L)	Kontrol (mg/L)	Jenis bakteri					
			<i>Bacillus S1</i>			<i>Azotobacter S8</i>		
			Jam ke 0	Jam ke 2	Jam ke 4	Jam ke 0	Jam ke 2	Jam ke 4
1	50	122,65	102,36	102,73	101,81	105,49	101,44	101,25
2	75	204,35	182,40	181,3	177,79	192,55	186,83	184,06
3	100	253,96	215,41	218,55	218,18	221,32	230,91	222,98

➤ Hasil Prosentase (%) Kromium Trivalen Pada Setiap Waktu Sampling

Hasil Prosentase Kromium Pada Setiap Waktu Sampling pada Uji Biosorpsi Konsentrasi Kromium Trivalen 100 mg/L dengan konsentrasi kromium awal 50 mg/L

TANPA SALIN			SALIN		
AzoC1S0	Jam ke 0	0	AzoC1S1	Jam ke 0	13,991
	Jam ke 2	22,111		Jam ke 2	17,293
	Jam Ke 4	2,179		Jam Ke 4	17,448
BaC1S0	Jam ke 0	0	BaC1S1	Jam ke 0	16,543
	Jam ke 2	33,953		Jam ke 2	16,241
	Jam Ke 4	0		Jam Ke 4	16,991

Hasil Prosentase Kromium Pada Setiap Jam Sampling pada Uji Biosorpsi Konsentrasi Kromium Trivalen 200 mg/L dengan konsentrasi kromium awal 75mg/L

TANPA SALIN			SALIN		
AzoC2S0	Jam ke 0	12,311	AzoC2S1	Jam ke 0	5,774
	Jam ke 2	8,960		Jam ke 2	8,574
	Jam Ke 4	9,956		Jam Ke 4	9,929
BaC2S0	Jam ke 0	12,036	BaC1S1	Jam ke 0	10,741
	Jam ke 2	9,141		Jam ke 2	11,280
	Jam Ke 4	9,504		Jam Ke 4	12,997

Hasil Prosentase Kromium Pada Setiap Waktu Sampling pada Uji Biosorpsi Konsentrasi Kromium Trivalen 250 mg/L dengan konsentrasi kromium awal 100 mg/L

TANPA SALIN			SALIN		
AzoC2S0	Jam ke 0	6,091	AzoC3S1	Jam ke 0	12,852
	Jam ke 2	9,255		Jam ke 2	9,076
	Jam Ke 4	6,400		Jam Ke 4	12,199

TANPA SALIN			SALIN		
BaC2S0	Jam ke 0	10,489	BaC3S1	Jam ke 0	15,180
	Jam ke 2	7,558		Jam ke 2	13,943
	Jam Ke 4	9,795		Jam Ke 4	14,089

- Hasil Prosentase (%) Kromium trivalen (Cr^{3+}) dengan Konsentrasi Paparan Kromium

Hasil Prosentase Kromium dengan Konsentrasi Kromium Trivalen 100 mg/L, 200 mg/L dan 250 mg/L

Perlakuan	Bakteri	Konsentrasi Kromium Trivalen		
		100 mg/L	200 mg/L	250 mg/L
Salin	<i>Azotobacter S8</i>	0	9,929043	12,19877
	<i>Bacillus S1</i>	16,991439	12,99731	14,08883
Tanpa Salin	<i>Azotobacter S8</i>	46,95	9,955839	6,400234
	<i>Bacillus S1</i>	42,960868	9,504416	9,794741

- Hasil Analisis Berat Kering Bakteri

Hasil Analisis Berat Kering Bakteri Pada Perlakuan Salin

Bakteri	Jam ke 0			Jam ke 4		
	100 mg/L	200 mg/L	250 mg/L	100 mg/L	200 mg/L	250 mg/L
<i>Bacillus S1</i>	0,0034	0,0025	0,0453	0,0014	0,0034	0,0026
<i>Azotobacter S8</i>	0,0015	0,0024	0,0524	0,0008	0,0039	0,001

Hasil Analisis Berat Kering Bakteri Pada Perlakuan Tanpa Salin

Bakteri	Jam ke 0			Jam ke 4		
	100 mg/L	200 mg/L	250 mg/L	100 mg/L	200 mg/L	250 mg/L
<i>Bacillus S1</i>	0,0867	0,0004	0,0009	0,0027	0,0009	0,0027
<i>Azotobacter S8</i>	0,1568	0,0006	0,025	0,0006	0,0006	0,0009

➤ Hasil Analisis Jumlah Koloni

Konsentrasi Kromium Trivalen/Bakteri	100 mg/L	200 mg/L	250 mg/L	100 mg/L	200 mg/L	250 mg/L
	Jam ke 0			Jam ke 4		
	10-7 (CFU/ml)	10-7 (CFU/ml)	10-7 (CFU/ml)	10-7 (CFU/ml)	10-7 (CFU/ml)	10-7 (CFU/ml)
Tanpa Salin						
<i>Bacillus S1</i>	188	140	117	194	108	216
<i>Azotobacter S8</i>	81	32	87	135	51	121
Salin						
<i>Bacillus S1</i>	256	57	216	248	66	197
<i>Azotobacter S8</i>	102	52	204	130	62	252

LAMPIRAN B

DOKUMENTASI PENELITIAN

A. Persiapan Peneiltian

Sterilisasi Alat Uji dan Substrat



Autoclaf



Alat-alat dan substrat dalam autoclaf

Peremajaan Isolat bakteri



Bacillus S1



Azotobacter S8

Pada Agar
miring

Pada Cawan
Petri

B. Penelitian Pendahuluan

➤ Uji Laju Pertumbuhan Bakteri



Memasak media Nutrient Broth (NB)



a. Media NB + Bakteri *Azotobacter* S8
b. Media NB sebagai Kontrol
c. Media NB+Bakteri *Bacillus* S1



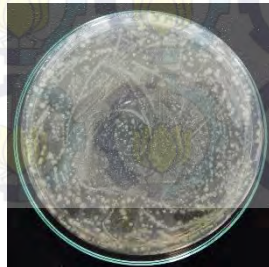
Proses pengadukan (Shaker)

➤ Uji Konsentrasi Salinitas

Salinitas dengan kadar NaCl 8,5 gram/L

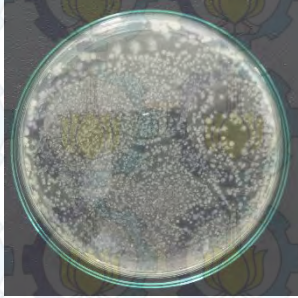


Bacillus S1

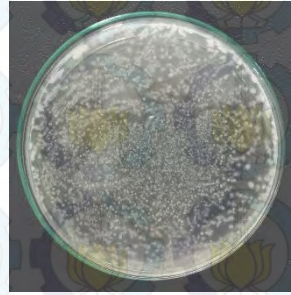


Azotobacter S8

Salinitas dengan kadar NaCl 30 gram/L



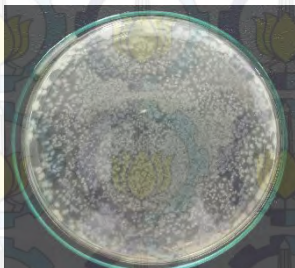
Bacillus S1



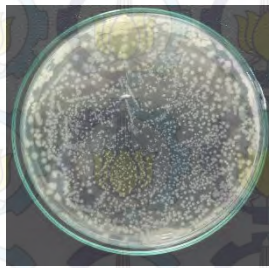
Azotobacter S8

➤ **Uji konsentrasi Kromium (Cr^{3+})**

Bacillus S1



50 ppm



75 ppm



100 ppm

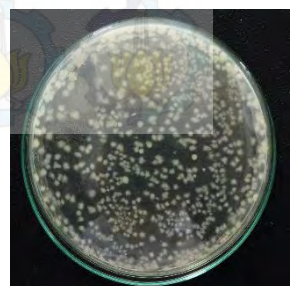
Azotobacter S8



50 ppm



75 ppm



100 ppm



Memasak media Nutrient Broth (NB)



a. Media NB + Bakteri *Azotobacter S8*
b. Media NB sebagai Kontrol
c. Media NB+Bakteri *Bacillus S1*



Proses pengadukan (Shaker)



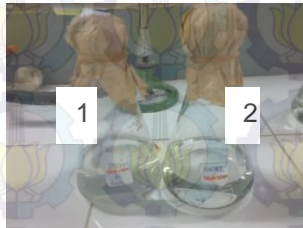
Bakteri *Bacillus S1* dan *Azotobacter S8* saat akan di *centrifuge*



Bakteri *Bacillus S1* dan *Azotobacter S8* setelah di *centrifuge*



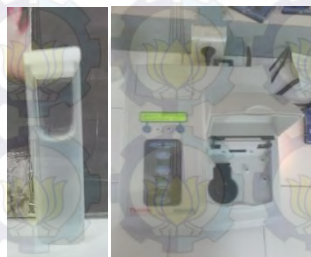
1. Tanpa salin+krom+bakteri
2. Kontrol (krom)



(1) Salin+krom+bakteri
(2) Kontrol (salin+krom)



Analisa pH dan suhu



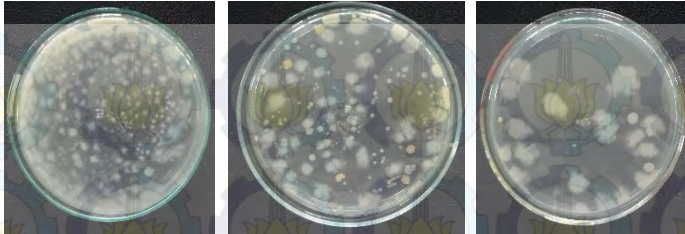
Analisa Optical Density (OD)



Hasil sampel untuk
analisis total
kromium





Analisa berat kering
bakteri saat dioven








Analisis jumlah Koloni


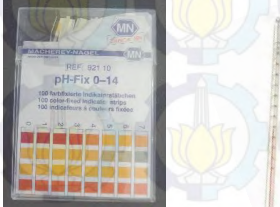

C. Dokumentasi Alat dan Bahan

- **Alat Penelitian**


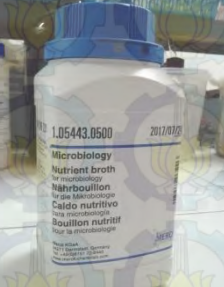
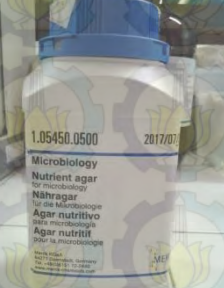
No.	Gambar	Keterangan
1		Bacterial Colony <ul style="list-style-type: none"> • Merek : Stuart • Asal dari : UK BY BIBBY STIRILIN, STD. STONE, STAFF ORDSHIRE, ST 15 OSA, UK • Cat No. : SC 06 • Seri : R 000100053 • Tegangan : 230 V – 50 Hz • Daya : 70 W • Fuses : F3,15 A
2		Incubator <ul style="list-style-type: none"> • Asal dari : OGAWA SEIKI CO. LTD. Tokyo Central P.O BOX No. 1618 Tokyo Japan.

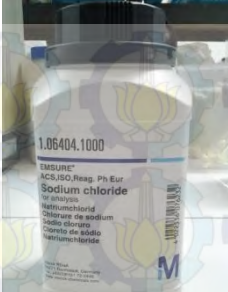
No.	Gambar	Keterangan
		
3		<p><i>Spectrophotometer</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Merek : Thermo Fisher Scientific • Dirakit di : USA. Conforma to Std. UL61010-1. Cert. to CAN/CSA Std. C2.2 No. 61010-1 • Model : 4001/4 • Cat : 4001-03 • S/N : 356R 228003 • Tegangan 100-240 V – 50/60 Hz • Amp. :1,0

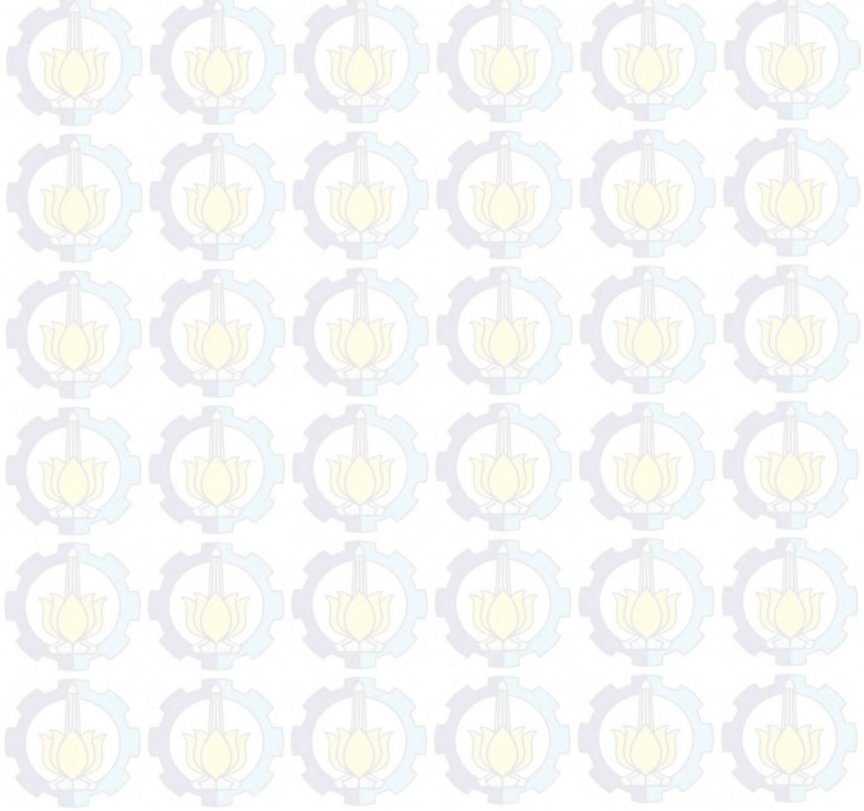
No.	Gambar	Keterangan
4		<p><i>Autoclave</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Merek : Hirayama • Tegangan : 50/60 Hz • Waktu : 60/70 menit
5		<p><i>Centrifuge</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Merek : Jouan 44600 Saint-Nazaire • Asal dari : France par • Type : E-82 • Tahun : 1982 • V. Max. : 10.000 T/mn • Berat maks. : 4,6 kg • Ø Cuve : 320 mm
6		<p><i>Digital Platform Shaker</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Asal dari : NEW BRUNSWICK SCIENTIFIC, CO., INC. Edison; New Jersey, USA. • Model : INNOVA 2050 • Mfg No. : M1190-0012 • No. Seri : 990424577 • Tegangan : 230 V – 50/60 Hz • Phase : 1 • VA : 35

No.	Gambar	Keterangan
7		<p>Kompur Listrik</p> <ul style="list-style-type: none"> • Merek : Maspion • Asal dari : INDONESIA • Model : S-302 • Tegangan : 220 V - 50 Hz • Daya : 600 W • No. : 30200449
8	 <p style="text-align: center;">a. b.</p>	<p>a. Indikator pH</p> <ul style="list-style-type: none"> • Merek : Macherey-Nagel (MN). • Model : REF 921 10 <p>b. Termometer</p>
9		<p><i>Vacuum Pump</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Merek : Value • Model : VE 115 N • <i>Free Air Displacement</i> : 2.0 CFM • <i>Ultimate Vacuum</i> : 150 micron • Tegangan : 230 V~ - 50/60 Hz • <i>Power</i> : ¼ HP • <i>Oil Capacity</i> : 250 ml

• **Bahan Penelitian**

No.	Gambar	Keterangan
		<p><i>Chromium (III) chloride hexahydrate</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Merek : Merck • Asal dari : DARMSTADT, GERMANY 64271
2		<p><i>Nutrient Broth (NB)</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Merek : Merck • Asal dari : DARMSTADT, GERMANY 64271
3		<p><i>Nutrient Agar (NA)</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Merek : Merck • Asal dari : DARMSTADT, GERMANY 64271

No.	Gambar	Keterangan
4		<p><i>Sodium chloride</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Merek : Merck • Asal dari : DARMSTADT, GERMANY 64271



DAFTAR PUSTAKA

- Abou-Elela, S. I, Kamel, M.M, Fawzy, M.E. 2010. *Biological Treatment of Saline Wastewater Using A Salt-Tolerant Microorganism. Desalination* 250.1-5.
- Arinda, T. 2013. Tingkat Resistensi Merkuri dan variasi Fragmen Genom Bakteri Bacillus Dari Kali Mas Surabaya. Surabaya. Tugas Akhir- Jurusan Biologi, FMIPA, ITS.
- Badjoeri, M. 2008. Uji Kemampuan Bacillus megaterium Menyerap Logam Berat Merkuri. Pusat Penelitian Limnologi LIPI: Bogor.
- Charlena. 2004. Pencemaran Logam Berat Timbal (Pb) dan Cadmium (Cd) pada Sayur-sayuran. Program Pascasarjana / S3 / Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Chojnacka, K. 2010. Biosorption and Bioaccumulation-The Prospects for Practical Applications. *Environmental International* (36) 299-307.
- Darmono. 1995. Logam Dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup. Jakarta : UI-Press.
- Eaton, D. Andrew dkk. 2005. Standards Methods for the Eximination Of Water & Wastewater. NW Washington. Cetennial Edition.
- Gadd, G. M. 1993. Interactions Of Fungi With Toxic Metals. *Phytologist* 124:25-60.
- Garcia, R dan Baez, A.P. 2014. Atomic Absorption Spectrofotometry (AAS). Centro de Ciencias de la Atmsfera, Universida Nacional Autonoma de Mexico, Ciudad Universitaria, Mexico City, Mexico.
- Gupta, V. K & Rastogi, A. 2008. Biosorption of Lead (II) From Aqueous Solution By Tanpaliving Algal Biomass Oedogonium sp. A Comparative Study, *Colloids and Surfaces B:Biointerfaces*. 64 170-178.

- Hamastuti, H, O, Elysa.D, Juliastuti, S.R, Hendriarianie, N. 2012. Peran Mikroorganisme Azotobacter chroococcum, Pseudomonas fluorescens, dan Aspergillus niger pada Pembuatan Kompos Limbah Sludge Industri Pengolahan Susu. Jurnal-Teknik POMITS Vol. 1, No. 1, 1-5. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS).
- Hogg, S. 2005. Essential Microbiology. John Wiley & Sons Ltd:England.
- Huang, C.C., Narita, M., Yamagata, T., I., Endo, G., 1999. Structure Analysis of Class II Transposon Encoding The Mercury Resistance of The Gram-Positive Bacterium Bacillus megaterium MBI, a Strain Isolated From Minamata Bay, Japan. Gene. 234:361-369.
- Joshi, N. 2003. Biosorption of Heavy metal. Thesis- Departement of Biotechnology and Environmental Sciences. Thapar Institute of Engineering Technology.
- Luqman, A. 2008. Kisaran Resistensi Merkuri dan Pola Fragmentasi Genom Bakteri Azotobacter. Tugas Akhir-Jurusan Biologi-FMIPA, ITS.
- Malik, A.2004. Metal Bioremediation Through Gowing Cells. Environment International.30,261-278.
- Mawarti, U.2005. Akumulasi Logam Kadmium Pada Bacillus Pb138. Bogor.Thesis-Institut Pertanian Bogor.
- Ministry of State for Population and Enviromental of Indonesia, dan Dalhousie, University Canada. 1992. Environmental Management in Indonesia. Report of Soil Quality Standars for Indonesia.
- Nair, S, Bharathi, P.A, dan Chandramohan, D. 1993. Effect Of Heavy Metals On Marine Bacillus sp. and Flavobacterium sp. Ecotoxicology 2, 220-229.
- Palar H. 2004. Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat . Penerbit PT. Rieneka Cipta. Jakarta.

Priadie, Bambang. 2012. Teknik Bioremediasi Sebagai Alternatif Dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Air. Peneliti Muda Bidang Teknik lingkungan SDA, Program Pasca Sarjana-UNDIP.

Putri, L. M. 2008. Fitoremediasi Tanah Tercemar Logam Berat Timbal (Pb) Dengan Menggunakan Tumbuhan Lidah Mertua (*Sansivireia trifasciata*) di Kelurahan Tambak Wedi, Kecamatan Kenjeran, Surabaya. Surabaya. Tugas Akhir Jurusan Teknik Lingkungan, FTSP, ITS.

S.A., Mansour, M.M. Sidky. 2002. *Ecotoxicological Studies*. 3. Heavy metals contaminating water and fish from Fayoum Governorate, Egypt. *Food Chemistry* 78, 15–22.

Sholikah dan Nengah. 2013. Uji Potensi Genera *Bacillus* Sebagai Bioakumulator Merkuri. Surabaya. Tugas Akhir Jurusan Biologi, FMIPA, ITS.

SNI-7387 tahun 2009. Tentang Batas Cemaran Logam Berat Dalam Pangan. tanggal 15 Maret pukul :15.35

Trihadiningrum, Y. 2012. *Mikrobiologi lingkungan*. Surabaya. ITS PRESS.

Velasquez, L dan Dussan J., 2009. Biosorption and Bioaccumulation of Heavy Metals On Dead and Living Biomass of *Bacillus sphaericus*. *Journal of Hazardous Materials* 167:13-716.

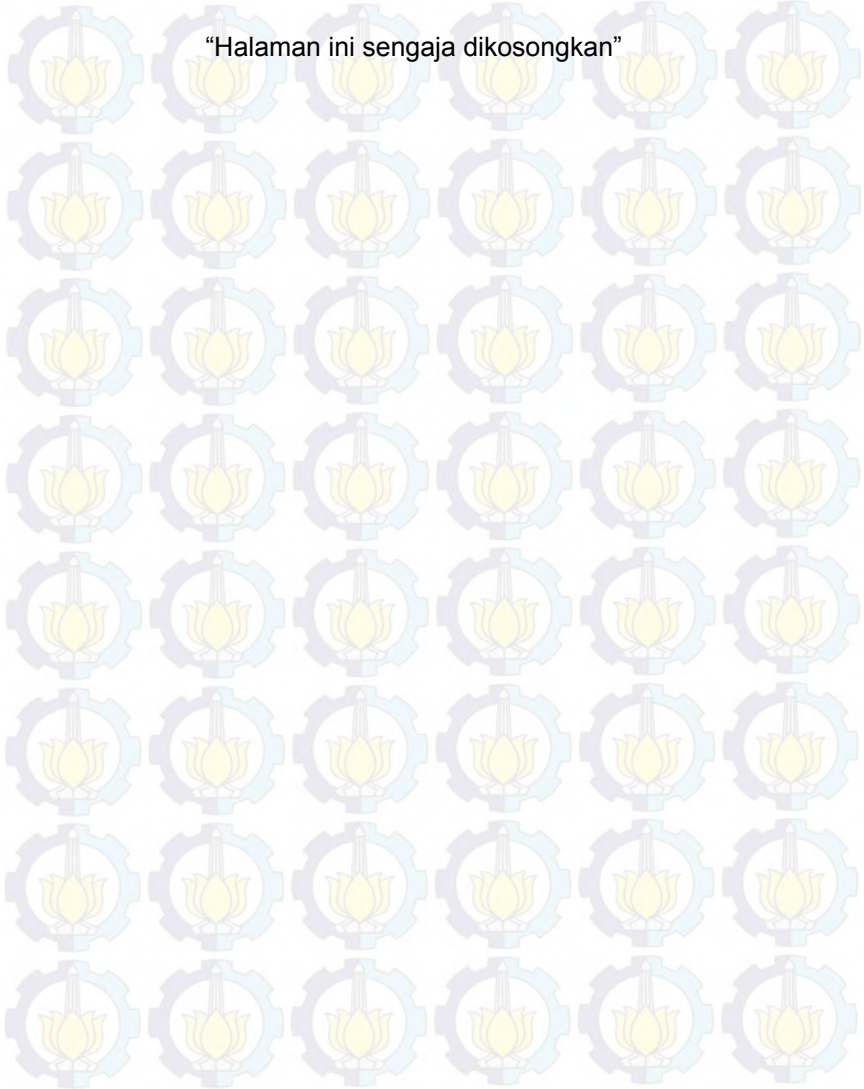
Vijayaraghavan, K dan Yun, Y.S. 2008. Bacterial Biosorbents And Biosorption. *Biotechnology Advances*. 26:266-291.

Waluyo, L. 2009. *Mikrobiologi Lingkungan*. Malang. UMM PRESS.

Wood, F.O. 2014. Salt (NaCl). *Encyclopaedia Britannica*.

Zulaika, E., Luqman, A., Arinda, T., Sholikah, U. 2012. Bakteri Resisten logam berat yang berpotensi sebagai biosorben dan bioakumulator. Seminar Nasional SCET. FTSP-ITS.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”



PROFIL PENULIS



Silfiyah Yunita, dilahirkan di Surabaya pada tanggal 24 Juni 1992. Penulis telah melalui pendidikan formal yaitu di TK Kartini Surabaya, SD Negeri Pacar Kembang III 194 Surabaya, kemudian melanjutkan ke SMP Negeri 37 Surabaya dan SMA Negeri 9 Surabaya. Setelah lulus dari SMA pada tahun 2010, penulis melanjutkan studinya di Jurusan Teknik Lingkungan ITS Surabaya melalui Jalur SNMPTN.

Penulis yang gemar menggambar, fotografi dan bernyanyi ini, aktif dalam beberapa Organisasi, komunitas dan LMB kegiatan kampus. Kegiatan tersebut seperti Himpunan Mahasiswa Teknik Lingkungan (HMTL), Paduan Suara ITS dan ITS Jazz. Beberapa pelatihan yang pernah diikuti penulis seperti Pra LKMM TD, LKMM TD, Leadership Organization Training (LOT) HMTL; ISO 9001-2008 dan OHSAS 18001-2014. Penulis juga pernah melaksanakan kerja praktek di BBTKLPP Surabaya pada tahun 2013 dan di PT Barata Indonesia Kota Surabaya tahun 2014. Segala bentuk komunikasi yang ingin disampaikan kepada penulis terkait tugas akhir ini dapat disampaikan melalui email silfiyahyunita@ymail.com.