

Uji Kemampuan *Bakteri Azotobacter S8* dan *Bacillus S1* Untuk Meremoval Kromium (Cr^{3+})

Silfiah Yunita¹⁾ dan Ipung Fitri Purwanti²⁾

Jurusan Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya, 60111 Indonesia
Email: ¹⁾silfiahunita@yahoo.com; ²⁾ipung.purwantitl@yahoo.com

Abstrak— *Bacillus S1* dan *Azotobacter S8* merupakan bakteri yang resisten terhadap logam berat. Kedua bakteri tersebut berpotensi sebagai biosorben dan bioakumulator, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai agensia bioremediasi pencemaran logam berat kromium. Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan kemampuan removal kandungan logam berat dengan menggunakan *Bacillus S1* dan *Azotobacter S8*.

Isolat bakteri yang digunakan merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, Jurusan Biologi FMIPA ITS yaitu *Bacillus S1* dan *Azotobacter S8*. *Bacillus S1* merupakan isolat bakteri yang diisolasi dari Kalimas Surabaya. Laju pertumbuhan bakteri dianalisis melalui kurva pertumbuhan *Bacillus S1* dan *Azotobacter S8* dengan pengukuran *Optical Density (OD)* menggunakan spektrofotometer. Sedangkan analisis biosorpsi total logam kromium (Cr^{3+}) dilakukan dengan metode *Atomic Absorption Spectrofotometer (AAS)* pada jam ke 0, ke 2 dan ke 4. Parameter uji yang diteliti pada penelitian ini adalah OD, suhu, pH, jumlah koloni bakteri (CFU/ml), jumlah berat kering bakteri dan total kromium. Konsentrasi paparan logam berat yang diberikan terdiri dari 100, 200 dan 250 mg/L.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan *Bakteri Azotobacter* dapat melakukan penyisihan kromium (Cr^{3+}) hingga mencapai 17,4 % , sedangkan *Bacillus S1* mencapai 16,9 % kromium trivalen sebesar 100 mg/L.

Kata Kunci— *Azotobacter S8* , *Bacillus S1*, **Bakteri Resisten Kromium, Kromium (Cr^{3+})**

I. PENDAHULUAN

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)^[1].

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)^[2]. 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.

Logam timbal, merkuri, kromium, arsen, tembaga, cobalt, kadmium, seng, nikel, berylium, mangan merupakan logam berat yang sangat toksik (Velasquez & Dussan, 2009)^[3]. Mendegradasi dan menghilangkan logam berat tersebut tidak semudah mendegradasi limbah organik dikarenakan logam berat bersifat *nonbiodegradable* (Gupta dan Rastogi, 2008)^[4]. 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)^[5], 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)^[6].

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)^[7] dan *Bacillus S1* (Zulaika, 2012)^[8]. *Azotobacter S8* merupakan bakteri yang bersifat kosmopolit dan memiliki resistensi terhadap banyak logam (Sholikah dan Nengah, 2013)^[9]. Sehingga *Azotobacter S8* berpotensi digunakan

sebagai agen bioremediator pencemaran kromium (Badjoeri, 2008)^[10] pada penelitian ini.

II. URAIAN PENELITIAN

A. Tahap Persiapan

Tahap persiapan pada penelitian ini berupa persiapan alat dan bahan yang digunakan dalam proses penelitian. Persiapan penelitian berupa sterilisasi alat uji dan substrat yang digunakan, pembuatan substrat pada media agar miring, pada cawan petri (*Nutrient Agar (NA)*), media cair (*Nurient Broth (NB)*), dan pembuatan larutan stock kromium serta larutan stock salinitas.

B. Tahap Uji Pendahuluan

Pada uji pendahuluan terdapat 3 tahapan uji yaitu uji laju pertumbuhan bakteri, uji konsentrasi kromium.

➤ Penentuan Laju Pertumbuhan Bakteri

Tahap uji laju pertumbuhan bakteri *Bacillus S1* dan *Azotobacter S8* dilakukan untuk mengetahui lama pertumbuhan bakteri dan mendapatkan fase logaritmik/fase eksponensial yang digunakan sebagai penentu waktu pada tahap uji biosorpsi (bioremediasi) logam berat kromium trivalen (Cr^{3+}). Uji Laju Pertumbuhan bakteri ini berlangsung selama 24 jam. Selama uji pertumbuhan berlangsung, dilakukan analisis pH, suhu dan *Optical Density (OD)*. Data *Optical Dencity (OD)* berupa nilai absorbansi 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 diketahui lamanya fase pertumbuhan antara kedua bakteri tersebut yang digunakan sebagai data untuk melakukan penelitian pada tahap uji biosorpsi logam berat kromium trivalen (Cr^{3+}). Fase yang digunakan merupakan fase eksponensial/fase logaritmik.

C. Tahap Uji Penelitian Utama

Tahap uji penelitian utama merupakan uji biosorpsi yang dilakukan untuk menentukan prosentase removal bakteri terhadap paparan kromium trivalen yang diberikan. Parameter yang akan dianalisis adalah pH, suhu, OD, jumlah koloni bakteri, berat kering bakteri dan konsentrasi kromium (Cr^{3+}). Parameter total kromium akan dianalisis pada 3 tahapan yakni pada Jam ke 0, ke 2 dan ke 4. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan data (*trend*) prosentase *removal*. Konsentrasi kromium trivalen yang digunakan sebanyak 3 konsentrasi yang berbeda yaitu C_1 , C_2 dan C_3 . Pengamatan variasi kontrol yaitu, $B0C1^*$, $B0C2^*$, $B0C3^*$. Variasi reaktor dengan jenis perlakuan antara variasi konsentrasi kromium trivalen dengan salinitas dijelaskan pada Tabel 1.

Pada uji bioremediasi, reaktor menggunakan erlenmeyer dengan volume 250 ml. Volume tersebut dipilih karena disesuaikan dengan kebutuhan volume larutan yang dibutuhkan selama analisis yaitu 150 ml dalam setiap erlenmeyer dan memperhitungkan kondisi reaktor yang mengalami proses pengadukan sebesar 120 rpm.

Tabel 1. Jenis Variasi Reaktor Dengan Jenis Perlakuan Antara Variasi Konsentrasi Kromium Trivalen

Variasi Penelitian	Konsentrasi Logam Cr	Komposisi
Bo	C1	B0C1*
	C2	B0C2*
	C3	B0C3*
B ₁	C1	B1C1
	C2	B1C2
	C3	B1C3
B ₂	C1	B2C1
	C2	B2C2
	C3	B2C3

Keterangan :

* Reaktor Kontrol

B₁ : Bakteri *Bacillus S1*

B₂ : Bakteri *Azotobacter S8*

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

C₁ : Konsentrasi logam kromium 100 mg/L

C₂ : Konsentrasi logam kromium 200 mg/L

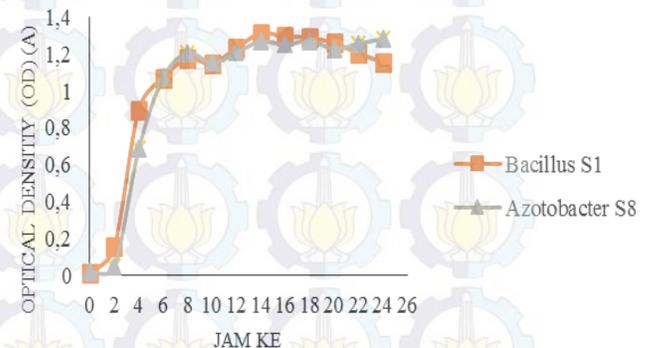
C₃ : Konsentrasi logam kromium 250 mg/L

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Uji Pendahuluan

➤ Laju Pertumbuhan Bakteri

Berdasarkan analisis laju pertumbuhan bakteri pada penelitian pendahuluan yang dilaksanakan selama 24 jam, didapatkan fase eksponensial/fase logaritmik pada *Bakteri Bacillus S1* dan *Azotobacter S8* seperti pada Gambar 1. Uji laju pertumbuhan bakteri didapatkan fase logaritmik selama 8 jam.

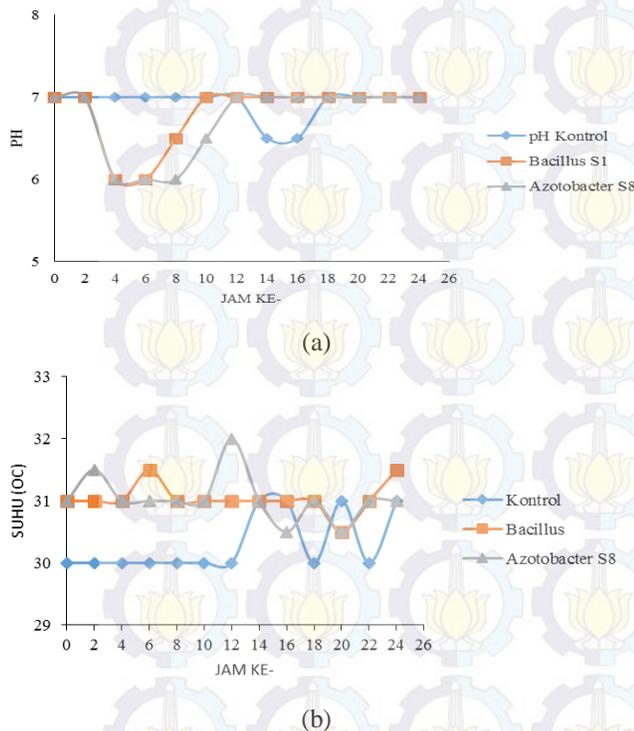


Gambar 1. Hasil Analisa Laju Pertumbuhan Bakteri

Berdasarkan Gambar 1, peningkatan nilai absorbansi terjadi pada jam ke 0-8. Hal tersebut ditunjukkan dari grafik yang meninggi membentuk fase logaritmik/fase eksponensial. Menurut Hogg (2005)^[11], 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 dan Suhu pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Analisa pH (a) dan Suhu (b) pada Laju Pertumbuhan Bakteri.

Pada Gambar 2 (a), pH bakteri mengalami penurunan di saat pertengahan fase logaritmik 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. Selain nilai pH, parameter yang diamati dalam laju pertumbuhan ini adalah suhu. Perubahan suhu pada laju pertumbuhan ini dapat diamati pada Gambar 2 (b). laju pertumbuhan pada kedua bakteri uji, kisaran suhu kedua bakteri berada di sekitar 30-32°C. Menurut Trihadiningrum (2012)^[12], mikroorganisme yang memiliki rentang suhu diantara 25-40°C termasuk mikroorganisme mesofilik jika di golongan berdasarkan suhunya.

B. Uji Biosorpsi

Uji Biosorpsi berlangsung selama 8 jam. 4 jam pertama untuk menumbuhkan bakteri dan 4 jam berikutnya digunakan sebagai uji biosorpsi. Bakteri yang digunakan harus berumur 24 jam. Hal ini dilakukan untuk meremajakan bakteri yang digunakan untuk uji biosorpsi.

➤ Uji Biosorpsi (Jam ke 0-Jam ke 4)

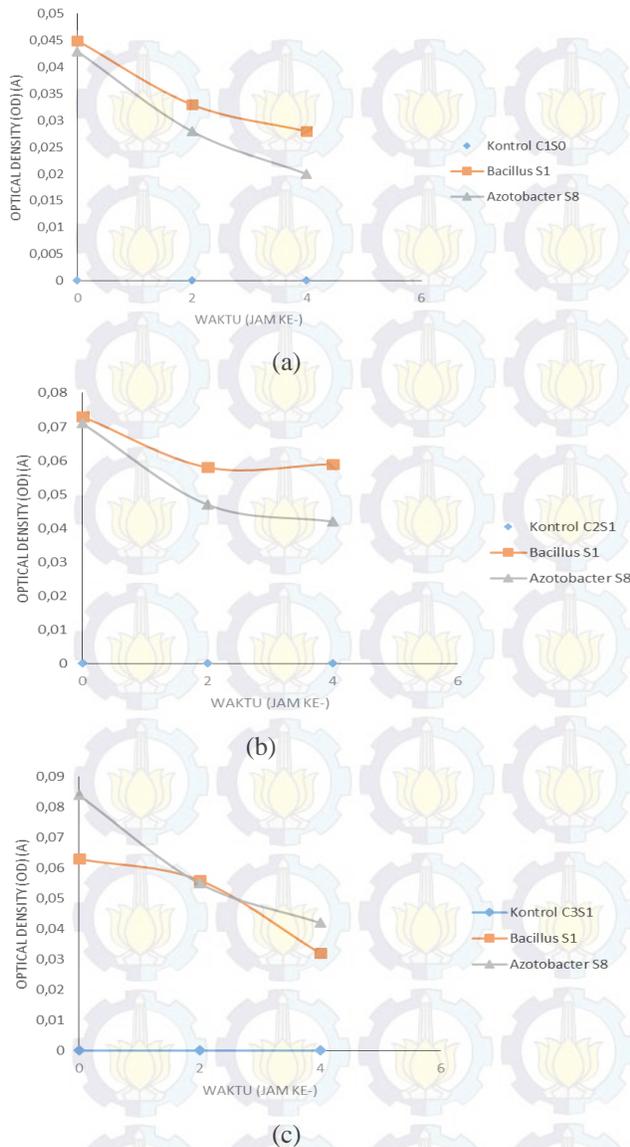
Biosorpsi dapat didefinisikan sebagai penghapusan logam atau metaloid spesies, senyawa dan partikulat yang merupakan solusi dengan menggunakan bahan biologis (Gadd, 1993)^[13]. Uji biosorpsi bakteri ini berlangsung selama 4 jam. Tahap ini merupakan tahapan utama pada uji biosorpsi yang akan diperlakukan terhadap kedua variasi bakteri yaitu *Bakteri Bacillus S1* dan *Azotobacter S8*. Uji biosorpsi bakteri ini diteliti di setiap *running* uji biosorpsi pada konsentrasi kromium 100 mg/L, 200 mg/L dan 250 mg/L. Pada penelitian utama ini, terdapat 6 parameter yang dianalisis yaitu suhu, pH dan *Optical 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 saat dilakukan *start up*. Kemudian jam ke 2 dan yang terakhir pada jam ke 4. Sedangkan parameter konsentrasi total kromium diambil sampelnya pada setiap dua jam sekali. Parameter berat bakteri dan jumlah koloni bakteri diambil pada jam ke 0 dan jam ke 4 saja. Hasil penelitian pada masing-masing parameter adalah sebagai berikut :

Suhu dan pH

Suhu merupakan salah satu faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Berdasarkan hasil penelitian, Data suhu pada uji biosorpsi berkisar 30°C-31°C. Pada jam ke 0 nilai suhu menunjukkan 30°C, sedangkan pada jam 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. Selain suhu, parameter pada uji biosorpsi sangat berbeda bila dibandingkan dengan trend pH saat laju pertumbuhan bakteri. pH pada uji biosorpsi cenderung bersifat asam, dibawah pH normal 7. Hal ini dikarenakan adanya paparan logam kromium trivalen (CrCl_3) yang bersifat asam sehingga mempengaruhi kondisi pH yang terbentuk. Berdasarkan hasil analisis, terjadi kesamaan nilai pH pada *running* konsentrasi kromium trivalen 100 mg/L dan 200 mg/L. Pemberian larutan salin menyebabkan nilai pH pada masing-masing bakteri sedikit fluktuatif. Pada *Bakteri Azotobacter S8* pada jam ke 2 mengalami kenaikan jika dibandingkan dengan pH kontrol. Pada pH konsentrasi 100 mg/L, nilai kontrol pada cenderung lebih asam, bila dibandingkan dengan konsentrasi kromium 200 mg/L dan 250 mg/L. Data pH dari jam ke 0 hingga jam ke 4 bernilai konstan pada masing-masing variasi bakteri.

Optical Density (OD)

Analisis *Optical Density* dilakukan untuk mengetahui nilai absorbansi pada proses uji biosorpsi. Terjadi perbedaan *trend* bila dibandingkan dengan OD pada laju pertumbuhan bakteri, karena perbedaan faktor lingkungan, yaitu media hidup bakteri. Media hidup bakteri pada uji biosorpsi ini menggunakan larutan kromium trivalen yang di sesuaikan dengan perlakuan masing-masing reaktor uji. 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.



Gambar 3. Hasil Analisis *Optical Density* (OD) Pada Variasi Konsentrasi (a) Kromium trivalen 100 mg/L, (b) Kromium trivalen 200 mg/L, (c) Kromium trivalen 250 mg/L

Berdasarkan data Gambar 3 *Optical Density* pada masing-masing hasil running paparan konsentrasi 100 mg/L, 200 mg/L dan 250 mg/L, *trend* data menunjukkan penurunan nilai absorbansi. Proses biosorpsi ataupun bioakumulasi terjadi, sehingga mempengaruhi jumlah bakteri yang terdapat pada reaktor uji. Hal tersebut diketahui dengan menurunnya nilai absorbansi dari jam ke 0 hingga jam ke 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 100, 200 dan 250 mg/L. Hal ini dilakukan untuk mengetahui biosorpsi ataupun bioakumulasi yang terjadi pada bakteri. Hal tersebut dibuktikan dengan pengambilan sampel pada jam ke 0 dan jam ke 4. Tabel 2 merupakan data

pada analisis total kromium pada konsentrasi 100, 200 dan 250 mg/L.

Tabel 2. Hasil Analisis Kromium Trivalen Pada Setiap Waktu Sampling pada Uji Biosorpsi konsentrasi 100, 200, dan 250 mg/L

Konsentrasi Kromium Trivalen		100 mg/L	200 mg/L	250 mg/L
KONTROL		122,65	204,35	253,96
Azotobacter S8	Jam ke 0	105,49	192,55	221,32
	Jam ke 2	101,44	186,83	230,91
	Jam Ke 4	101,25	184,06	222,98
Bacillus S1	Jam ke 0	102,36	182,40	215,41
	Jam ke 2	102,73	181,3	218,55
	Jam Ke 4	101,81	177,79	218,18

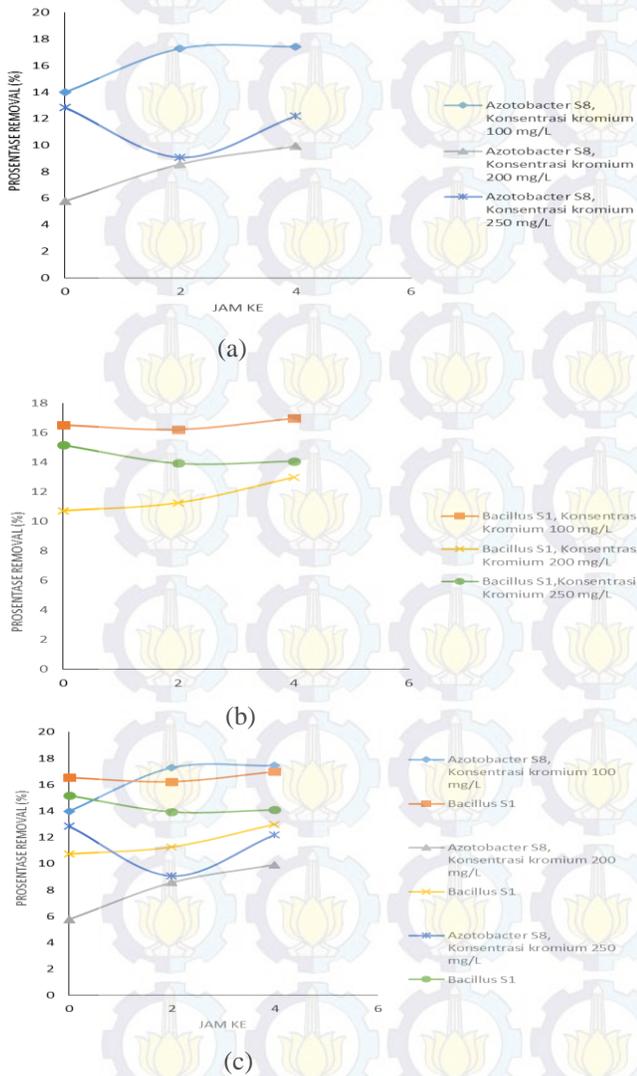
Berdasarkan Tabel 2 dan Gambar 9 hasil total kromium, diketahui bahwa data tidak sesuai dengan konsentrasi awal perhitungan yaitu 50 mg/L, 75 mg/L dan 100 mg/L. Hal tersebut dapat terjadi diakarenakan kesalahan dalam pembuatan larutan stock pada paparan larutan kromium trivalen dan pengaruh alat uji 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 menjadi 100 mg/L, konsentrasi 75 mg/L berubah menjadi 200 mg/L dan pada konsentrasi 100 mg/L menjadi 250 mg/L. Dalam menentukan prosentase removal digunakan perhitungan dengan menggunakan kontrol awal dari kontrol perlakuan uji biosorpsi pada masing-masing konsentrasi. Hal ini dapat dilakukan karena kontrol tidak mengandung bakteri. Sehingga dari hasil perhitungan prosentase removal kromium di dapatkan data analisis seperti pada Tabel 3.

Tabel 3 Prosentase (%) Total Kromium Pada Masing masing Konsentrasi Kromium Trivalen

Prosentase Kromium (%)	Jenis Bakteri	100 mg/L	200 mg/L	250 mg/L
	<i>Azotobacter S8</i>	17,44802	9,929043	12,19877
	<i>Bacillus S1</i>	16,99144	12,99731	14,08883

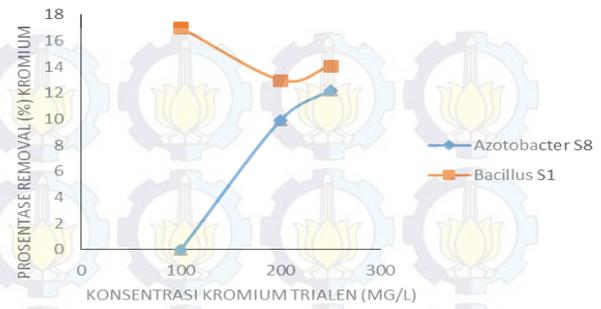
Berdasarkan hasil analisis prosentase total kromium Tabel 3 diketahui bahwa prosentase removal terbesar terjadi pada konsentrasi paparan logam kromium trivalen awal 50 mg/L atau 100 mg/L. Pada kedua bakteri uji, prosentase removal oleh *Bakteri Azotobacter S8* 17,44 % dan *Bakteri Bacillus S1* adalah 16,99 %. Capaian prosentase removal yang tidak begitu tinggi, disebabkan bakteri tidak resisten dengan paparan logam berat dengan range konsentrasi yang terlalu tinggi. Menurut Sholikah dan Nengah (2013)^[13], *Bakteri Bacillus S1* dapat resisten dan melakukan removal merkuri (Hg^{2+}) mencapai 89% pada 12 jam inkubasi dan 90% pada 24 jam inkubasi. Sedangkan menurut Arinda (2013)^[14] bakteri mulai bervariasi dengan konsentrasi paparan Hg^{2+} sebesar 25-50 ppm.

Sedangkan menurut Luqman (2008), *Bakteri Azotobacter S8* resisten terhadap 30 ppm $HgCl_2$ dengan prosentase removal sebesar 83,3 %. Hasil analisis antara prosentase removal kromium pada uji biosorpsi tidak terlalu besar, hal ini mengindikasikan bahwa paparan konsentrasi kromium trivalen yang terlalu besar dan bakteri yang resisten terhadap merkuri belum tentu resisten dengan logam berat lainnya yaitu kromium trivalen.



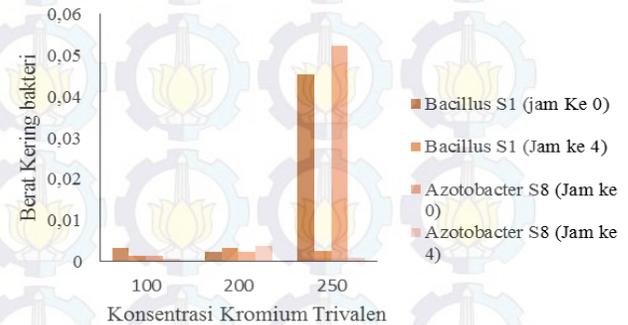
Gambar 4. Prosentase Kromium Trivalen di Setiap Waktu Sampling Pada perlakuan Salin (a) *Bakteri Azotobacter S8* (b) *Bakteri Bacillus S1* (c) *Bakteri Bacillus S1* dan *Azotobacter S8*

Berdasarkan data analisis, jika prosentase kromium dibandingkan dengan variasi konsentrasi kromium trivalen menunjukkan bahwa prosentase kromium terbesar terjadi pada konsentrasi kromium trivalen awal 100 mg/L atau 200 mg/L (Gambar 5). *Bakteri* resisten logam berat mengalami proses biosorpsi atau bioakumulasi maksimal pada range 100 mg/L. Hal tersebut terbukti dengan nilai prosentase pada konsentrasi variasi kromium trivalen lainnya yang lebih rendah.



Gambar 5. Hasil Analisis Prosentase Kromium dengan perbandingan Konsentrasi kromium trivalen di Setiap Waktu Sampling Pada Pemberian Salin Berat Kering Bakteri

Berat kering bakteri merupakan salah satu metode untuk mengukur pertumbuhan mikroorganisme (Trihadiningrum, 2012)^[12]. Untuk membuktikan adanya proses biosorpsi atau bioakumulasi pada bakteri uji, parameter berat kering bakteri dapat mendukung hal tersebut. 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. Gambar 6 menunjukkan berat kering bakteri pada uji biosorpsi.



Gambar 6 Analisis Berat Kering Bakteri Pada Uji Biosorpsi Konsentrasi Kromium Trivalen 100, 200 mg/L dan 250 mg/L

Berdasarkan Tabel 4 dan Gambar 11, pada jam ke 0 jika dibandingkan dengan jam ke 4 baik pada *Bakteri Bacillus S1* dan *Azotobacter S8* jumlah berat kering bakteri pada konsentrasi 100 mg/L 200 mg/L dan 250 mg/L mengalami penurunan jumlah berat kering bakteri. Hal ini membuktikan bahwa berat kering bakteri jika dikorelasikan dengan parameter *Optical Density* (OD) (Gambar 3) sesuai karena antara jumlah berat kering bakteri dan nilai absorbansi sama-sama mengalami penurunan. Sehingga bakteri dianalisis mengalami proses biosorpsi.

Jumlah Koloni Bakteri

Pengamatan jumlah koloni bakteri bertujuan untuk mengetahui banyaknya koloni bakteri yang dapat tumbuh pada media agar. Pengamatan dilakukan dengan cara melakukan perhitungan bakteri yang tumbuh pada media agar yang berisi biakan bakteri yang disebut juga metode penghitungan bakteri hidup atau metode penghitungan koloni. Perhitungan koloni

tersebut dihitung menggunakan dengan *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 2009)^[15].

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

$$\sum \text{sel} = \sum \text{koloni} \times \frac{1}{fp} \times \frac{1}{\sum \text{inokulan}} \quad (\text{Waluyo, 2009})^{[15]}$$

Satuan untuk \sum sel adalah CFU/mL dimana CFU merupakan *colony forming units* per mL. Semakin besar pengenceran, maka jumlah koloni semakin kecil sehingga jumlah mikroorganisme dapat dihitung. Fp merupakan faktor pengenceran sedangkan \sum 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. Hasil grafik jumlah koloni bakteri *Bacillus S1* konsentrasi 100, 200 dan 250 mg/L dan Bakteri *Azotobacter S8* konsentrasi 100, 200 dan 250 mg/L perlakuan larutan salin pada Gambar 7.



Gambar 7 Hasil Analisa Jumlah Koloni Bakteri pada *Bakteri Bacillus S1* dan *Azotobacter S8*

Berdasarkan data pada gambar 7, Bakteri uji *Azotobacter S8* pada perilaku salin dengan konsentrasi 250 mg/L kromium trivalen memiliki jumlah bakteri yang cukup tinggi yaitu 252 CFU/ml. Kedua bakteri uji, Bakteri *Azotobacter S8* dan *Bacillus S1* dapat bertahan pada keadaan salin dengan pemaparan logam berat kromium yang cukup tinggi. Namun jika dibandingkan, pada hasil analisis kedua bakteri uji dengan perlakuan salin, jumlah koloni yang terbentuk antara kedua bakteri uji, Bakteri *Bacillus S1* memiliki jumlah bakteri yang lebih banyak jika dibandingkan dengan Bakteri *Azotobacter S8*. Bakteri *Bacillus S1* memiliki 256 CFU/ml koloni bakteri pada jam ke 4 uji biosorpsi dengan konsentrasi paparan kromium 250 mg/L. Sedangkan Bakteri *Azotobacter S8* 197 CFU/L. Hal ini

menunjukkan hubungan bahwa semakin tinggi removal yang dilakukan oleh bakteri tersebut maka jumlah koloni bakteri akan semakin sedikit jumlahnya.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan *Bakteri Azotobacter* dapat melakukan penyisihan kromium (Cr^{3+}) hingga mencapai 17,4 % , sedangkan *Bacillus S1* mencapai 16,9 % dengan kondisi salinitas kromium trivalen awal 50 mg/L atau sebesar 100 mg/L.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan kepada Nengah Dwianita Kuswyasari, S.si.,M.Si, selaku Kepala Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, Jurusan Biologi, FMIPA, ITS Surabaya atas isolat bakteri yang direkomendasikan.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Putri, L. M. Fitoremediasi Tanah Tercemar Logam Berat Timbal (Pb) Dengan Menggunakan Tumbuhan Lidah Mertua (*Sansivireia trifasciata*) di Kelurahan Tambak Wedi, Kecamatan Kenjeran, Surabaya. Tugas Akhir Jurusan Teknik Lingkungan, FTSP, ITS. (2008).
- [2] S.A., Mansour, M.M. Sidky. Ecotoxicological Studies. 3. Heavy metals contaminating water and fish from Fayoum Governorate, Egypt. *Food Chemistry* 78, 15–22. (2002).
- [3] Velasquez, L dan Dussan J. Biosorption and Bioaccumulation of Heavy Metals On Dead and Living Biomass of *Bacillus sphaericus*. *Journal of Hazardous Materials* (2009).167:13-716.
- [4] Gupta, V. K & Rastogi, A. Biosorption of Lead (II) From Aqueous Solution By Tanpaliving Algal Biomass *Oedogonium sp. A Comparative Study, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 64 170-178. (2008).
- [5] Malik, A. Metal Bioremediation Through Gowing Cells. *Environment International*.30,261-278.(2004)
- [6] Vijayaraghavan, K dan Yun, Y.S.. *Bacterial Biosorbents And Biosorption*. *Biotechnology Advances*. (2008).26:266-291.
- [7] Mawarti, U. Akumulasi Logam Kadmium Pada *Bacillus Pb138*. Bogor. Thesis-Institut Pertanian Bogor.(2005).
- [8] Zulaika, E, Luqman, A, Arinda, T, Sholikhah, U. Bakteri Resisten Logam Berat yang Berpotensi sebagai Biosorben dan Bioakumulatuaor. Seminar Nasional SCET.FTSP-ITS.(2012)
- [9] Sholikhah dan Nengah. Uji Potensi Genera *Bacillus* Sebagai Bioakumulator Merkuri. Surabaya. Tugas Akhir Jurusan Biologi, FMIPA, ITS. 2013.
- [10] Badjoeri, M. Uji Kemampuan *Bacillus megaterium* Menyerap Logam Berat Merkuri. Pusat Penelitian Limnologi LIPI: Bogor. (2008).
- [11] Hogg, S. *Essential Microbiology*. John Wiley & Sons Ltd: England. (2005).
- [12] Trihadiningrum, Y. 2012. *Mikrobiologi lingkungan*. Surabaya. ITS PRESS.
- [13] Gadd, G. M. 1993. Interactions Of Fungi With Toxic Metals. *Phytologist* 124:25-60.
- [14] Arinda, T. 2013. Tingkat Resistensi Merkuri dan variasi Fragmen Genom Bakteri *Bacillus* Dari Kali Mas Surabaya. Surabaya. Tugas Akhir- Jurusan Biologi, FMIPA, ITS.
- [15] Waluyo, L. 2009. *Mikrobiologi Lingkungan*. Malang. UMM PRESS.