



TUGAS AKHIR - SB184830

**OPTIMASI pH ALKALI TERHADAP
PRODUKSI CaCO_3 PADA BAKTERI
KARBONOKLASTIK DAN POTENSINYA
UNTUK MEMPERKUAT STRUKTUR BETON**

AJENG SELVYANA PANGESTU
0131154000053

Dosen Pembimbing
Dr. Enny Zulaika, MP

Departemen Biologi
Fakultas Sains
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2019



TUGAS AKHIR - SB184830

**OPTIMASI pH ALKALI TERHADAP PRODUKSI
CaCO₃ PADA BAKTERI KARBONOKLASTIK
DAN POTENSINYA UNTUK MEMPERKUAT
STRUKTUR BETON**

**AJENG SELVYANA PANGESTU
0131154000053**

**Dosen Pembimbing
Dr. Enny Zulaika, MP**

**Departemen Biologi
Fakultas Sains
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2019**



FINAL PROJECT - SB184830

**OPTIMIZATION OF ALKALY pH ON CaCO_3
PRODUCTION OF CARBONOCLASTIC
BACTERIA AND THE POTENTIAL TO
STRENGTHEN CONCRETE STRUCTURE**

**AJENG SELVYANA PANGESTU
0131154000053**

**Supervisor
Dr. Enny Zulaika, MP**

**Department of Biology
Faculty of Science
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2019**

LEMBAR PENGESAHAN

OPTIMASI pH ALKALI TERHADAP PRODUKSI CaCO_3 PADA BAKTERI KARBONOKLASTIK DAN POTENSINYA UNTUK MEMPERKUAT STRUKTUR BETON

TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Sains pada
Departemen S-I Biologi
Fakultas Sains
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh

AJENG SELVYANA PANGESTU
NRP. 0131154000053

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir :

Dr. Enny Zulaika, MP (Pembimbing)



OPTIMASI pH ALKALI TERHADAP PRODUKSI CaCO_3
PADA BAKTERI KARBONOKLASTIK DAN POTENSINYA
UNTUK MEMPERKUAT STRUKTUR BETON

Nama Mahasiswa : Ajeng Selvyana Pangestu
NRP : 0131154000053
Departemen : Biologi
Dosen Pembimbing : Dr. Enny Zulaika, MP

Abstrak

Bakteri karbonoklastik adalah bakteri yang dapat menghasilkan CaCO_3 dan berpotensi untuk memperkuat struktur beton. Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui pertumbuhan bakteri karbonoklastik pada pH optimum lebih dari 9 dan mengetahui potensinya sebagai penguat struktur beton.

Enam isolat bakteri karbonoklastik ditumbuhkan pada medium selektif Calcium Carbonate Precipitation (CCP). Optimasi pH untuk pertumbuhan dilakukan pada pH 9, 11, dan 13. Produksi kristal CaCO_3 dipresipitasikan pada medium cair CCP. Selanjutnya dilakukan penentuan umur starter dan pembuatan kultur starter untuk preparasi beton. Uji kuat tekan beton menggunakan mesin Compression Testing.

*Semua isolat bakteri karbonoklastik mampu tumbuh dan menghasilkan kristal CaCO_3 pada pH 9, 11, dan 13 dengan berat maksimal 16,01 mg/mL pada pH 9, 13, 15 mg/mL pada pH 11, dan 12,98 mg/mL pada pH 13. Semua isolat bakteri karbonoklastik mampu meningkatkan kekuatan struktur beton. Kuat tekan beton yang tertinggi pada pH 13 adalah beton dengan penambahan *Lysinibacillus JB2* sebesar 32,53 MPa dengan beban maksimal 25545,35 kgf.*

Kata kunci: bakteri karbonoklastik, beton, CaCO_3 , pH

OPTIMIZATION OF ALKALY pH ON CaCO₃ PRODUCTION
OF CARBONOCLASTIC BACTERIA AND THE POTENTIAL
TO STRENGTHEN CONCRETE STRUCTURE

Student Name : Ajeng Selvyana Pangestu
NRP : 0131154000053
Department : Biology
Advisor : Dr. Enny Zulaika, MP

Abstract.

Carbonoclastic bacteria are bacteria that can produce CaCO₃ and the potential to strengthen concrete structures. The purpose of the study was to determine the growth of carbonoclastic bacteria at the optimum pH above 9 and the potential to strengthen concrete structure.

Six carbonoclastic bacterial isolates were grown on selective Calcium Carbonate Precipitation (CCP) media. The pH optimization for the growth at pH 9, pH 11, and pH 13. Production of CaCO₃ crystals is precipitated in the CCP liquid media. Then the starter age was determined and the starter culture was made for concrete preparation. The concrete compressive strength using the Compression Testing machine.

All isolates of carbonoclastic bacteria are able to grow and produce CaCO₃ at optimum pH 9, 11, and 13 with a maximum weight of 16.01 mg/mL at pH 9, 13.15 mg/mL at pH 11, and 12.98 mg/mL at pH 13. All isolates o carbonoclastic bacteria isolates that were able to increasing the strength of the concrete srtucture. The highest concrete compressive strength at pH 13 is concrete with the addition of *Lysinibacillus* JB2 of 32.53 MPa with a maximum load of 25545.35 kgf.

Keywords : CaCO₃, carbonoclastic bacteria, concrete, pH

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyusun Tugas Akhir dengan judul “Optimasi pH Alkali terhadap Produksi CaCO_3 pada Bakteri Karbonoklastik dan Potensinya untuk Memperkuat Struktur Beton”. Tugas Akhir ini merupakan suatu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Strata 1 (S1) pada departemen Biologi, fakultas Sains ITS.

Penelitian dan penyusunan Tugas Akhir ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, sehingga penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Dr. Enny Zulaika, MP selaku dosen pembimbing,
2. Bapak Farid Kamal Muzaki, S.Si., M.Si dan Bapak Dr.techn. Endry Nugroho Prasetyo, M.T selaku penguji,
3. Orang tua atas bimbingan, dukungan dan doanya, serta
4. Teman-teman angkatan 2015 atas dukungan moril yang diberikan.

Penulis menyadari bahwa penulisan Tugas Akhir ini masih belum sempurna, sehingga kritik dan saran yang membangun penulis harapkan demi perbaikan laporan selanjutnya. Penulis berharap semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat serta dapat memberikan informasi bagi semua pihak.

Surabaya, 16 Mei 2019

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	iii
TITLE PAGE.....	v
HALAMAN PENGESAHAN	vii
ABSTRAK	ix
<i>ABSTRACT</i>	xi
KATA PENGANTAR	xiii
DAFTAR ISI.....	xv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xxi

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Batasan Masalah	2
1.4 Tujuan.....	2
1.5 Manfaat.....	2

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri	3
2.1.1 Struktur Sel Bakteri	3
2.1.2 Kurva Pertumbuhan.....	5
2.1.3 Bakteri Karbonoklastik.....	7
2.2 Tanah Kapur	8
2.3 Kalsium Karbonat (CaCO ₃).....	10
2.4 Urease.....	10
2.5 pH.....	12

2.6 Beton	13
-----------------	----

BAB III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	17
3.2 Metode yang digunakan	17
3.2.1 Pembuatan Media CCP	17
3.2.2 Subkultur Isolat Bakteri Karbonoklastik	17
3.2.3 Optimasi pH Bakteri Karbonoklastik	17
3.2.4 Produksi Kristal CaCO_3	18
3.2.5 Penentuan Umur <i>Starter</i>	19
3.2.6 Pembuatan Kultur <i>Starter</i>	20
3.2.7 Preparasi Beton	20
3.2.8 Uji Kuat Tekan	22
3.3 Rancangan Penelitian dan Analisis Data	22

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Optimasi pH Pertumbuhan Bakteri Karbonoklastik	25
4.2 Produksi Kristal CaCO_3	28
4.3 Penentuan Umur <i>Starter</i>	30
4.4 Hasil Biobeton	33
4.5 Uji Kuat Tekan Beton	34

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan	37
5.2 Saran	37

DAFTAR PUSTAKA	39
----------------------	----

LAMPIRAN	45
----------------	----

DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 3.1	Modifikasi Perhitungan Proporsi Campuran Beton per Kg/m ³ untuk Beton 20 MPa.....	20
Tabel 4.1	Hasil Produksi Kristal CaCO ₃	28

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri.....	6
Gambar 2.2 Pengaruh pH terhadap Pertumbuhan Mikroorganisme.....	12
Gambar 3.1 Preparasi Beton.....	21
Gambar 4.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri Karbonoklastik.....	26
Gambar 4.2 Kurva Pertumbuhan Bakteri Karbonoklastik pH 13.....	27
Gambar 4.3 Kurva Pertumbuhan Bakteri Karbonoklastik untuk <i>Starter</i>	32
Gambar 4.4 Morfologi Luar Beton.....	33
Gambar 4.5 Kuat Tekan Beton.....	35
Gambar 4.6 Beban Maksimal Beton.....	35

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	Skema Kerja Penelitian..... 45
Lampiran 2	Hasil Produksi Kristal CaCO_3 46
Lampiran 3	Hasil Kristal CaCO_3 47
Lampiran 4	Hasil Biobeton..... 51
Lampiran 5	Alat untuk Menguji Kekuatan Beton (<i>Compression Testing Machine</i>)..... 52
Lampiran 6	Hasil Uji Kuat Tekan Beton..... 53
Lampiran 7	Uji Statistik ANOVA <i>One-Way</i> 54
Lampiran 8	Biodata Penulis..... 56

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Perkembangan konstruksi saat ini berdampak pada bertambahnya penggunaan beton sebagai material pembuat struktur bangunan. Beton merupakan campuran agregat halus, agregat kasar, air, dan semen (Balsala dkk., 2018). Bahan utama penyusun beton yang berfungsi sebagai pengikat material beton adalah semen yang berasal dari batu kapur dan mengandung kalsium karbonat (CaCO_3) (Siddique *et al.*, 2016). Menurut Wang *et al.* (2016), bakteri karbonoklastik mampu menghasilkan kristal CaCO_3 yang berpotensi untuk memperkuat struktur beton. Bakteri karbonoklastik secara enzimatik dapat menghidrolisis urease sehingga terbentuk ion karbonat (CO_3^{2-}) (Krishnapriya *et al.*, 2015).

Menurut Tagavifar *et al.* (2018), tanah kapur mempunyai pH 7,6-8,6. Bakteri karbonoklastik uji merupakan bakteri yang diisolasi dari tanah kapur, sehingga mampu tumbuh di pH alkali. Enam isolat bakteri karbonoklastik telah diisolasi dari bukit Jaddih Bangkalan, goa Akbar Tuban, dan bukit Kapur Suci Gresik yaitu *Bacillus* JA1, *Lysinibacillus* JB2, *Bacillus* JB3, *Sporosarcina* JA4, *Bacillus* AK4, dan *Bacillus* SU1. Bakteri karbonoklastik tersebut mampu menghasilkan CaCO_3 dengan media selektif CCP (*Calcium Carbonate Precipitation*) (Utomo dan Zulaika, 2018). Berdasarkan Rukmana dan Zulaika (2017), *Bacillus* JB2 telah dieksplorasi potensinya untuk memperkuat struktur beton dan mempunyai kuat tekan lebih besar dibanding beton tanpa penambahan isolat bakteri yakni sebesar 33,30 MPa dengan mengabaikan faktor pH lingkungan.

Beton adalah sebuah bahan bangunan komposit yang terbuat dari kombinasi agregat kasar, pasir, dan air yang menggunakan pengikat semen. Menurut Heisig *et al.* (2016), semen memiliki pH 13 karena adanya zat aditif Na_2O dan K_2O .

1.2 Rumusan Masalah

Enam isolat karbonoklastik diatas belum diketahui kemampuannya dalam memproduksi kristal CaCO_3 pada pH alkali tinggi yang mendekati pH semen, sehingga rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Apakah isolat tersebut mampu tumbuh dan memproduksi kristal CaCO_3 pada medium CCP (*Calcium Carbonate Precipitation*) dengan pH optimum lebih besar dari 9.
2. Jika isolat di atas mampu memproduksi CaCO_3 pada pH optimum 13, apakah isolat tersebut mampu memperkuat struktur beton.

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian adalah:

1. Isolat yang digunakan merupakan isolat koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Departemen Biologi, Fakultas Sains ITS (Utomo dan Zulaika, 2018).
2. Optimasi pH dilakukan pada pH 9,11, dan 13.
3. Preparasi beton dilakukan pada pH 13.

1.4 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Mendapatkan pH optimum untuk pertumbuhan bakteri karbonoklastik yang mampu tumbuh dan menghasilkan CaCO_3 .
2. Mendapatkan bakteri yang dapat memperkuat struktur beton secara maksimal pada pH optimum 13.

1.5 Manfaat

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah bakteri karbonoklastik yang diisolasi dari bukit Jaddih Bangkalan, goa Akbar Tuban, dan bukit Kapur Suci Gresik mampu memperkuat struktur beton yang mendekati pH semen.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri

Nama bakteri berasal dari bahasa Yunani “*bacterion*” yang berarti batang atau tongkat. Nama tersebut dipakai untuk menyebut sekelompok mikroorganisme bersel satu, bersifat prokariotik yaitu tubuhnya terdiri atas sel yang tidak mempunyai pembungkus inti. Bakteri tersebar di tanah, air, dan sebagai simbiosis dari organisme lain. Bakteri memiliki ukuran tubuh yang sangat kecil, umumnya bentuk tubuh bakteri dapat dilihat menggunakan mikroskop pembesaran 1000 kali. Satuan ukuran tubuh bakteri adalah mikrometer atau mikron. Satu mikron sama dengan 1/1.000 milimeter. Lebar tubuh umumnya antara 1 sampai 2 mikron sedangkan panjangnya antara 2-5 mikron (Madigan *et al.*, 2015).

2.1.1 Struktur Sel Bakteri

Menurut Madigan *et al.*, (2015), struktur sel bakteri terdiri atas struktur tambahan, dinding sel, dan bagian dalam dinding sel. Dinding sel, membran sel, dan nukleotida terdapat pada seluruh jenis bakteri. Bagian tambahan lainnya hanya terdapat pada bakteri tertentu saja. Adapun struktur bakteri antara lain :

a. Dinding sel

Dinding sel ditemukan pada semua bakteri hidup. Dinding sel berfungsi untuk mempertahankan bentuk sel dan mencegah sel mengalami lisis. Dinding sel bakteri tersusun atas makromolekul peptidoglikan yang terdiri dari monomer-monomer tetrapeptidoglikan (polisakarida dan asam amino). Berdasarkan susunan kimia dinding selnya, bakteri dibedakan atas bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif (Madigan *et al.*, 2015).

Bakteri Gram positif memiliki peptidoglikan setebal 20-80 nm dengan komposisi terbesar teichoic, asam teichunori, dan berbagai macam polisakarida. Asam teichoic berfungsi sebagai

antigen permukaan pada bakteri Gram positif. Asam teikhoat terletak di antara lapisan membran sitoplasma dan lapisan peptidoglikan. Selain itu bakteri Gram positif memiliki 40 lembar peptidoglikan pada dinding selnya, yang merupakan 50% dari seluruh komponen penyusun dinding sel. Polisakarida dan asam amino pada lembar peptidoglikan bersifat sangat polar (Madigan *et al.*, 2015).

Bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan tipis (5-10 nm) dengan komposisi utama: lipoprotein, membran luar dan lipopolisakarida. Membran luar pada Gram negatif juga memiliki sifat hidrofilik, namun komponen lipid pada dinding selnya justru memberikan sifat hidrofobik. Selain itu, terdapat saluran khusus yang terbuat dari protein yang disebut porins sebagai tempat masuknya komponen hidrofilik seperti gula dan asam amino yang penting untuk kebutuhan nutrisi bakteri. Lipoprotein mengandung 57 asam amino yang merupakan ulangan sekuen 15 asam amino yang saling bertaut dengan ikatan peptida dengan residu asam diaminpimelat dari sisi tetrapeptida rantai peptidoglikan. Lipoprotein merupakan komponen yang mendominasi dinding sel Gram negatif dan berfungsi menjaga stabilitas membran luar dan tempat perlekatan pada lapisan peptidoglikan (Madigan *et al.*, 2015).

b. Membran Sitoplasma

Membran sitoplasma merupakan bagian bakteri yang mengatur keluar masuknya senyawa kimia dari dan ke dalam sel. Membran sel menyebabkan mikroorganisme mampu berada pada posisi yang tepat pada lingkungan media yang kompleks dan selalu berubah karena bakteri mampu mengambil dan menahan nutrient yang diperlukan dan membuang produk buangan. Membran sel memberikan kemudahan proses biokimiawi seperti pemindahan ion-ion mineral, gula, asam amino, elektron, serta metabolit yang lain melewati membran (Madigan *et al.*, 2015).

c. Nukleoid

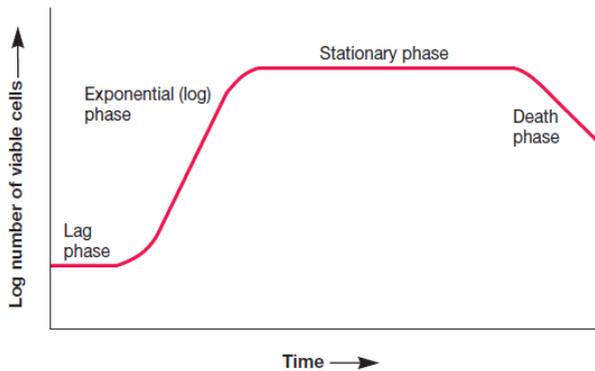
Nukleoid merupakan komponen struktur sel bakteri yang terdiri dari kromosom sirkuler dan fungsinya mirip dengan inti pada sel tanaman maupun sel hewan. Nukleoid terdiri dari bahan genetik yang berupa satu untaian ganda DNA berbentuk heliks. Panjang DNA dapat mencapai 1,2 nm, akan tetapi terlipat menjadi 2 nm (Madigan *et al.*, 2015).

d. Endospora

Spora bakteri umumnya disebut endospora, karena spora dibentuk di dalam sel. Bentuk spora bermacam-macam, bulat atau bulat memanjang, bergantung pada spesiesnya. Ukuran endospora lebih kecil atau lebih besar daripada diameter sel induknya. Kebanyakan bakteri pembentuk spora adalah penghuni tanah, tetapi spora bakteri dapat tersebar dimana saja. Letak endospora di dalam sel serta ukurannya tidak sama bagi semua spesies. Beberapa spora letaknya sentral yaitu dibentuk di tengah-tengah sel, terminal, yaitu dibentuk di ujung, subterminal yaitu dibentuk di dekat ujung. Adanya letak serta ukuran endospora sangat bermanfaat di dalam pencirian dan identifikasi bakteri. Bakteri penghasil endospora dibagi menjadi dua kelompok, termasuk marga *Bacillus* jika merupakan gram positif, dan termasuk marga *Clostridium* jika merupakan gram negatif (Madigan *et al.*, 2015).

2.1.2 Kurva Pertumbuhan

Tipe pertumbuhan bakteri tidak berlangsung dalam periode waktu yang kontinyu, namun dipengaruhi oleh lingkungan dan nutrisi yang terkandung di dalamnya. Pertumbuhan bakteri dapat digambarkan dalam kurva pertumbuhan seperti pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri (Prescott *et al.*, 2008).

1. Fase lag

Fase lag merupakan waktu yang dibutuhkan mikrobia untuk tumbuh beradaptasi dalam medium baru. Fase ini terjadi pertambahan massa dan volume sel mikrobia. Panjang atau pendeknya interval fase lag tergantung pada jenis inokulum, medium yang sedikit nutrisi dan kondisi pertumbuhan mikrobia saat diinokulasikan (Madigan *et al.*, 2015).

2. Fase eksponensial

Fase saat populasi mikrobia mengalami pembelahan paling tinggi dan konstan dalam waktu generasi yang pendek. Waktu generasi mikrobia merupakan waktu yang dibutuhkan sel mikrobia untuk membelah menjadi 2 sel. Setiap sel mikrobia membelah 2 kali lipat sehingga peningkatan jumlah populasi selalu 2^n , n adalah jumlah generasi. Pertambahan jumlah sel dalam populasi disebut sebagai pertumbuhan mikrobia (Madigan *et al.*, 2015).

3. Fase stasioner

Fase pembelahan sel yang terjadi sangat lambat. Jumlah pembelahan sel dengan sel yang mati seimbang, sehingga jumlah sel relatif konstan (pertumbuhan 0). Sel mikroba tetap

aktif melakukan metabolisme energi dan proses biosintesis lainnya. Metabolit sekunder banyak dihasilkan mikrobia pada fase ini. Fase stasioner terjadi karena terbatasnya nutrisi esensial dalam kultur yang mulai berkurang untuk organisme aerobik, dan banyaknya sisa metabolisme yang tertimbun dalam medium kultur sehingga pertumbuhan mikroba terhambat (Madigan *et al.*, 2015).

4. Fase kematian

Jika perubahan lingkungan tidak menguntungkan, kurangnya nutrisi esensial dalam medium dan meningkatnya akumulasi zat toksik dalam medium. Grafik fase kematian seperti grafik fase eksponensial yaitu logaritmik (kematian sel tiap jam adalah konstan). Sel mikrobia yang mati akan mengalami lisis (Madigan *et al.*, 2015).

2.1.3 Bakteri Karbonoklastik

Bakteri yang dapat menghasilkan kristal CaCO_3 atau bakteri karbonoklastik sering ditemukan di sejumlah besar genus bakteri. Bakteri tersebut ditemukan di berbagai lingkungan, seperti tanah, *freshwater*, lautan dan danau garam, bakteri tersebut ditemukan dalam pengendapan mineral karbonat (Wei *et al.*, 2015).

Proses *self-healing concrete*, bakteri yang diinokulasi dalam beton akan membentuk endospora karena kondisi yang tidak menguntungkan. Ketika air dan udara masuk melalui retakan mikro, endospora dapat bergerminasi secara vegetatif dalam beton dan mulai mempercepat produksi kristal CaCO_3 untuk memperbaiki retak mikro dalam beton (Nain *et al.*, 2019). Menurut Krishnapriya *et al.*, (2015), kristal CaCO_3 berasal dari bakteri urease positif yang telah ditemukan dan berperan dalam pembentukan CaCO_3 oleh produksi enzim urease. Enzim ini mengkatalisis hidrolisis urea menjadi ammonia dan karbonat, yang mengakibatkan peningkatan pH dan pembentukan kristal CaCO_3 di lingkungan.

Berdasarkan Wei *et al.*, (2015), pembentukan endapan CaCO_3 oleh bakteri dikarenakan hidrolisis urea yang menghasilkan produksi amonia dan karbonat. Amonia bertindak untuk menaikkan pH dari medium yang merupakan kondisi yang menguntungkan untuk pengendapan CaCO_3 . Karbonat mengikat ion kalsium dan menghasilkan pembentukan kristal CaCO_3 yang diendapkan lingkungan.

Menurut Al Thawadi (2011), presipitasi CaCO_3 oleh bakteri menggunakan urea sebagai sumber energi dan menghasilkan amonium yang meningkatkan nilai pH lingkungan serta membentuk karbonat hingga terjadi presipitasi CaCO_3 . Kondisi pH basa merupakan faktor utama dalam proses presipitasi dimana proses tersebut melibatkan hidrolisis urea, peningkatan alkalinitas lingkungan, dan permukaan untuk adsorpsi ion Ca^{2+} . Pada umumnya, pembentukan karbonat oleh bakteri terjadi dalam dua jalur metabolisme yaitu secara autotrof dan heterotrof. Secara autotrof, CO_2 digunakan sebagai sumber karbon sehingga jumlahnya menurun di lingkungan sekitar bakteri. Dengan adanya ion Ca^{2+} penurunan jumlah ini kemudian meningkatkan produksi CaCO_3 . Sedangkan secara heterotrof, presipitasi dapat terjadi secara aktif dan pasif. Presipitasi secara aktif melibatkan pertukaran ion melalui membran sel oleh adanya pompa ion. Sedangkan degradasi urea, dimana produk metabolik berupa amonia mampu meningkatkan nilai pH untuk memicu terjadinya presipitasi.

2.2 Tanah Kapur

Tanah berkapur (*calcareous soils*) adalah tanah yang terbentuk dari batu kapur yang mengalami pelapukan dan berbagai sifat fisiko-kimianya dipengaruhi oleh aktivitas CaCO_3 . Umumnya tanah memiliki pH netral sampai alkalin dan terdapat kalsium terlarut sangat tinggi. Tanah berkapur akan berbuih jika dilarutkan asam klorida. Tanah berkapur terkadang dikategorikan tanah alkalis. Kalsit dan aragonit (CaCO_3), dolomit

($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$), dan magnesit (MgCO_3) adalah jenis mineral kalsium (Wang *et al.*, 2019).

Enam isolat bakteri karbonoklastik telah diisolasi dari pegunungan kapur yakni *Bacillus* JA1, *Lysinibacillus* JB2, *Bacillus* JB3, *Sporosarcina* JA4, *Bacillus* AK4, dan *Bacillus* SU1. *Bacillus* JA1, *Lysinibacillus* JB2, *Bacillus* JB3, dan *Sporosarcina* JA4 berasal dari sampel tanah kapur bukit Jaddih Bangkalan. *Bacillus* AK4 merupakan isolat yang diisolasi dari sampel stalakmit muda goa Akbar Tuban. *Bacillus* SU1 berasal dari bukit kapur Suci Gresik (Utomo dan Zulaika, 2018).

Bukit Jaddih Bangkalan dan bukit kapur Suci Gresik merupakan bekas penambangan batu kapur. Batuan kapur adalah batuan sedimen yang kandungan utamanya CaCO_3 , sedangkan *dolomitic limestone* mengacu pada *limestone* yang mengandung CaCO_3 dan $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$. Pelarutan dan represipitasi parsial dari mineral karbonat adalah proses yang dominan terjadi pada tanah berkapur. Tanah yang berkembang dari bahan induk berkapur dikendalikan oleh proses pelarutan, represipitasi, dan pencucian karbonat dan ion lain hasil reaksi dengan karbonat. Karakteristik kimia tanah berkapur dipengaruhi adanya CaCO_3 . Adanya air dan karbondioksida menyebabkan terbentuknya asam karbonat yang melarutkan CaCO_3 (Kischuk, 2000).

Goa Akbar Tuban terletak pada deretan pegunungan kapur utara. Goa tersebut terdapat stalaktit yakni sejenis mineral sekunder yang menggantung di langit-langit gua kapur. Mineral ini merupakan kalsium karbonat (CaCO_3) yang ditemukan pada daerah berkapur. Karbonat ditemukan pada fraksi pasir, debu, dan klei pada tanah. Karbonat pada klei dan debu halus adalah yang terreaktif. Reaktivitas karbonat pada tanah berkapur dikendalikan oleh distribusi ukuran partikel, mineralogi, morfologi permukaan, dan agregasi dengan komponen tanah lainnya. Defisiensi unsur hara pada tanah berkapur umumnya terjadi pada unsur hara mikro seperti Fe, Cu, Mn, Zn, dan B. Rendahnya ketersediaan unsur mikro dikarenakan pengaruh pH tanah dan interaksinya dengan CaCO_3 . Selain itu Fe dapat bereaksi dengan CaCO_3 membentuk

Fe-oksida yang tidak larut. Defisiensi juga ditemukan pada unsur hara makro N, P, dan K. Rendahnya ketersediaan P pada tanah berkapur disebabkan adsorpsi permukaan ion fosfat oleh CaCO_3 yang terlarut (Kischuk, 2000).

2.3 Kalsium Karbonat (CaCO_3)

Kalsium karbonat (CaCO_3) adalah salah satu mineral alami yang terendapkan di bumi dalam bentuk batu alam yang ditemukan di lingkungan seperti air laut, air tawar, dan tanah. Kalsium karbonat bersifat penting dalam banyak bidang, termasuk pertukaran CO_2 secara global, pembentukan sisik, penyimpanan energi, dan material penyusun cangkang dan rangka. CaCO_3 memiliki tiga jenis kristal, yaitu: kalsit dengan morfologi rombik (kotak miring), aragonit dengan morfologi jarum, dan vaterit dengan morfologi sferoid berpori. Kalsit merupakan bentuk kalsium karbonat yang paling stabil terhadap suhu dan tekanan (Wang *et al.*, 2019). Vaterit merupakan yang paling tidak stabil dan paling sulit terbentuk. Pembentukan vaterit dipengaruhi oleh banyak parameter, seperti: pH, temperatur, dan konsentrasi reaktan (Wang *et al.*, 2019). Kristal CaCO_3 berikutnya adalah aragonit. Kristal ini terbentuk dari kondisi supersaturasi rendah membutuhkan temperatur larutan tinggi. Kristal CaCO_3 dengan morfologi berbentuk jarum ini biasanya disintesis pada temperatur diatas 600C (Wang *et al.*, 2019).

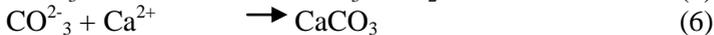
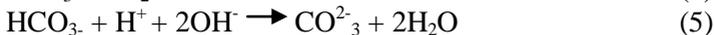
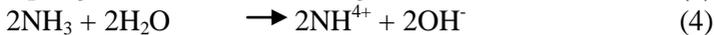
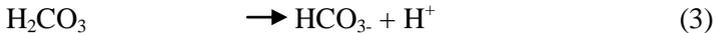
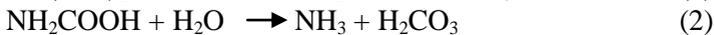
2.4 Urease

Urease atau urea amidohidrolase merupakan enzim yang mengkatalis hidrolisis dari urea menjadi ammonia dan karbonat. Urease adalah sebuah protein yang ditemukan dalam bakteri, kapang, dan beberapa tanaman tingkat tinggi. Karakteristiknya yaitu pH optimum 7,4 suhu optimum 64⁰C. Beberapa tanaman memanfaatkan urease untuk keperluan yang sama. Urease ditemukan dalam jumlah yang besar pada spesies kacang-kacangan dan beberapa tanaman lainnya. Urease juga terdapat pada beberapa jaringan binatang dan pencernaan mikroorganisme.

Urease penting dalam sejarah enzimologi sebagai enzim pertama yang dimurnikan dan dikristalkan (Hammad *et al.*, 2013).

Urease merupakan enzim sitosolik dan ditemukan pada bakteri, yeast, dan beberapa tumbuhan (Hammad *et al.*, 2013). Enzim ini menggunakan urea sebagai substrat yang dihidrolisis menjadi amonia dan asam karbonat sebagai produk akhir. Urease berperan memudahkan organisme menggunakan urea sebagai sumber nitrogen (Wang *et al.*, 2016).

Aktivitas urease terdistribusikan dengan luas oleh bakteri tanah dan air dimana mikroorganisme yang dianggap mampu menghidrolisis urea terdiri dari 17-30% aerofilik, mikroaerofilik dan mikroorganisme anaerob. Aktivitas urease telah diteliti dan dapat ditemukan pada bakteri penghasil urease seperti *Aerobacter aerogenes*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus* sp. CR2, *Bacillus thuringiensis*, *Deleye halophila*, *Halmona eurihalina*, *Helicobacter pylori*, *Kocuria flava* CR1, *Lactobacillus sphaericus* CH5, *Methylocystis parvum*, *Myxococcus xanthus*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas denitrificans*, *Spolooactobacillus* sp., *Sporosarcina ginsengisoli*, dan *Sporosarcina pasteurii* (Anbu *et al.*, 2016). Berikut laju reaksi hidrolisis urease :

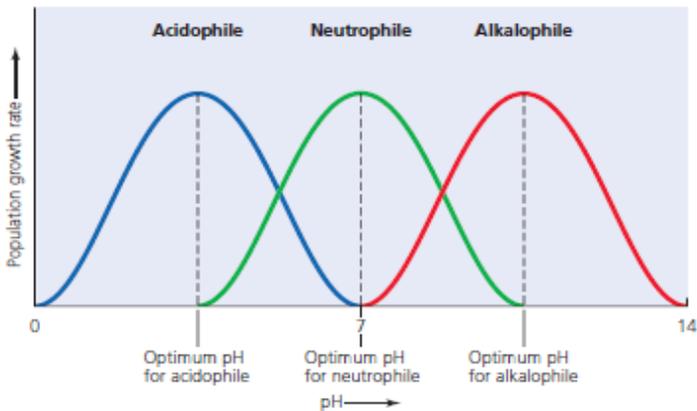


Satu mol urea akan dihidrolisis secara intraseluler menghasilkan 1 mol ammonia dan 1 mol kabarmat (Reaksi 1), yang akan secara spontan terhidrolisis membentuk 1 mol ammonia tambahan dan asam karbonik (Reaksi 2). Produk ini selanjutnya akan membentuk ion bikarbonat di dalam air, 2 mol

ammonium, dan 2 mol hidroksida (Reaksi 3 dan 4). Ammonium yang dihasilkan akan meningkatkan pH lingkungan, sehingga ion bikarbonat dapat membentuk ion karbonat (Reaksi 5). Apabila terdapat ion kalsium di lingkungan, maka ion karbonat dan ion kalsium akan saling berikatan dan membentuk presipitat kalsium karbonat (CaCO_3) (Reaksi 6). Reaksi 7 menunjukkan keseluruhan reaksi di dalam sistem, menunjukkan bahwa apabila ditambahkan urea dan kalsium dalam sistem, maka akan menghasilkan ammonium dan kalsium karbonat (Anbu *et al.*, 2016).

2.5 pH

Berdasarkan pertumbuhan pH, mikroorganisme dibedakan menjadi 3, yaitu asidofil yang tumbuh pada pH kurang dari 5.5; neutrofil atau mesofil, tumbuh pada pH netral yaitu pH 5.5-7.9; alkalifil pada pH lebih dari 8 (Cappucino and Sherman, 2014). Pengaruh pH terhadap pertumbuhan mikroorganisme dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Pengaruh pH terhadap Pertumbuhan Mikroorganisme (Cappucino and Sherman, 2014).

pH berpengaruh terhadap aktivitas enzim dalam mengkatalisis suatu reaksi. Hal ini disebabkan konsentrasi ion hidrogen mempengaruhi struktur dimensi enzim dan aktivitasnya.

Masing-masing mikroorganismenya tumbuh dengan baik pada pH optimum. Setiap enzim memiliki pH optimum dimana struktur tiga dimensinya paling efektif dalam mengikuti substrat. Apabila konsentrasi ion hidrogen berubah dari konsentrasi optimal, aktivitas enzim secara progresif hilang sampai pada akhirnya enzim menjadi tidak fungsional. Selain itu, pH rendah atau tinggi menyebabkan enzim terdenaturasi yang mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim (Madigan *et al.*, 2015).

2.6 Beton

Beton adalah sebuah bahan bangunan komposit yang terbuat dari kombinasi agregat dengan pengikat semen. Beton didapatkan dengan cara mencampur agregat halus (pasir), agregat kasar (kerikil), atau jenis agregat lain dan air, dengan semen *portland* atau semen hidrolik yang lain, kadang-kadang dengan bahan tambahan (aditif) yang bersifat kimiawi ataupun fisikal pada perbandingan tertentu, sampai menjadi satu kesatuan yang homogen. Campuran tersebut akan mengeras seperti batuan. Pengerasan terjadi karena peristiwa reaksi kimia antara semen dengan air. Beton yang sudah mengeras memiliki rongga-rongga antara butiran yang besar (agregat kasar atau batu pecah), dan diisi oleh batuan kecil (agregat halus atau pasir), dan pori-pori antara agregat halus diisi oleh semen dan air (pasta semen). Semen juga berfungsi sebagai perekat atau pengikat dalam proses pengerasan, sehingga butiran-butiran agregat saling terikat dengan kuat sehingga terbentuklah suatu kesatuan yang padat dan tahan lama (Tjokrodinuljo, 2007). Spesimen beton, terdiri dari :

1. Agregat Halus

Agregat halus untuk pembuatan beton berupa pasir alam sebagai hasil disintegrasi alami dari batu-batuan atau berupa pasir buatan yang dihasilkan oleh alat pemecah batu. Agregat halus pada penelitian ini menggunakan jenis agregat halus yaitu pasir alam (Sutrisno, 2013).

2. Semen Portland (PC)

Semen adalah suatu jenis bahan yang memiliki sifat adhesif (*adhesive*) dan kohesif (*cohesive*) yang memungkinkan melekatnya fragmen-fragmen mineral menjadi suatu massa yang padat. Semen merupakan bahan yang jadi dan mengeras dengan adanya air yang dinamakan semen hidrolic (*hydraulic cement*). Semen *portland* atau biasa disebut semen adalah bahan pengikat hidrolit berupa bubuk halus yang dihasilkan dengan cara menghaluskan klinker (bahan ini terutama terdiri dari silikat-silikat kalsium yang bersifat hidrolis), dengan batu gips sebagai bahan tambahan. Semen yang digunakan adalah Semen Portland Tipe I (Sutrisno, 2013).

3. Agregat kasar

Agregat kasar diperoleh dari proses pemecahan bongkahan batu besar kemudian digiling sesuai dengan kebutuhan dan dalam penelitian ini agregat yang dibutuhkan dengan diameter maksimal 19 mm. Keunggulan agregat kasar ini adalah berat jenisnya yang lebih ringan dibandingkan dengan agregat yang bisa digunakan untuk pembuatan beton pada umumnya, walaupun kekuatannya tidak lebih besar. Agregat kasar sendiri memiliki peranan yang penting dalam suatu beton selain untuk mengurangi volume dari pasta semen, agregat kasar juga memiliki fungsi sebagai penentu kekuatan suatu beton (Sutrisno, 2013).

4. Air

Air adalah bahan dasar pembuatan beton yang paling murah. Fungsi air dalam pembuatan beton adalah untuk membuat semen bereaksi dan sebagai bahan pelumas antara butir-butir agregat. Air yang dibutuhkan untuk pereaksi semen sekitar 25-30 persen dari berat semen. Tetapi kenyataannya apabila faktor air semen (berat air dibagi berat semen) kurang dari 0,35 maka adukan sulit dikerjakan, sehingga umumnya faktor air semen lebih dari 0,40 yang mana terdapat kelebihan air yang tidak bereaksi dengan semen. Kelebihan air berfungsi sebagai pelumas

agregat, sehingga membuat adukan mudah dikerjakan. Tetapi seiring dengan semakin mudahnya pengerjaan menyebabkan beton menjadi porous atau terdapat banyak rongga, maka kuat tekan beton itu sendiri akan menurun (Tjokrodinuljo, 2007).

Sebagai material komposit, sifat beton sangat tergantung pada sifat serta interaksi masing-masing unsur, yakni ikatan yang ditimbulkan oleh reaksi kimia antara semen dan air, serta agregat dimana semen yang mengeras itu beradhesi dengan baik. Susunan beton secara umum, yaitu: 7-15% semen, 16-21% air, 25-30% pasir, dan 31-51% kerikil. Kekuatan beton terletak pada perbandingan jumlah semen dan air, rasio perbandingan air terhadap semen (W/C ratio) yang semakin kecil akan menambah kekuatan (*Compressive Strength*) (Nugraha, 2007).

Menurut Suhadirman (2011), untuk menguji kuat tekan beton, digunakan benda uji berbentuk silinder 15 x 30 cm yang diuji pada umur 28 hari, sedang proporsi campurannya dirancang berdasarkan perancangan adukan menurut American Concrete Institute (ACI). Pengujian kuat tekan beton dilakukan dengan mesin uji tekan (*Compression Testing*) seperti yang ditunjukkan pada Lampiran 5. Kuat tekan yang tinggi merupakan sifat karakteristik yang dimiliki beton, dan dipakai sebagai ukuran kualitas beton. Kuat tekan beton dipengaruhi oleh proporsi campuran, kualitas bahan susun serta kualitas pengerjaannya. Kuat tekan beton dihitung dengan rumus :

$$f_c' = F/A$$

Keterangan :

f_c' = kuat tekan beton (MPa)

F = beban tekan (N)

A = luas penampang beton (mm²) (Suhadirman, 2011).

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian terhadap pertumbuhan dan produksi CaCO_3 bakteri karbonoklastik dilakukan di laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Departemen Biologi, Fakultas Sains ITS. Preparasi beton dan uji kuat tekan beton dilakukan di laboratorium Beton dan Bahan Bangunan, Departemen Teknik Sipil, Fakultas Teknik Sipil, Lingkungan dan Kebumihan, ITS Surabaya pada bulan Januari sampai dengan Maret 2019.

3.2 Metode yang digunakan

3.2.1 Pembuatan Media *Calcium Carbonate Precipitation* (CCP)

Media yang digunakan adalah media *Calcium Carbonate Precipitation* (CCP) dengan komposisi (per liter) 20 g urea; 2,12 g NaHCO_3 ; 10 g NH_4Cl ; 3 g Natrium Broth; 30 mM CaCl_2 ; 20 g agar (Wei *et al.*, 2015).

3.2.2 Subkultur Isolat Bakteri Karbonoklastik

Isolat yang digunakan adalah *Bacillus* JA1, *Lysinibacillus* JB2, *Bacillus* JB3, *Sporosarcina* JA4, *Bacillus* AK4, dan *Bacillus* SU1 yang berasal dari bukit Jaddih Bangkalan, Gua Akbar Tuban, dan pegunungan Suci Gresik (Utomo dan Zulaika, 2018). Masing-masing isolat diambil sebanyak satu ose dan diinokulasikan secara aseptik pada media agar CCP dalam tabung reaksi dengan goresan kontinyu. Selanjutnya kultur diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Keberhasilan subkultur ditandai dengan koloni yang tumbuh di sepanjang goresan jarum ose (Harley and Prescott, 2002).

3.2.3 Optimasi pH Bakteri Karbonoklastik

Optimasi pH dilakukan pada medium cair CCP dengan pH 9, pH 11, dan pH 13. Optimasi pH diamati dengan visualisasi

kurva pertumbuhan isolat dalam medium. Pengaturan pH dilakukan dengan menambahkan 0,5 N NaOH dalam medium, hingga pH menunjukkan nilai pH 9, pH 11, dan pH 13 (Mahesh *et al.*, 2015). Pengukuran pH medium menggunakan indikator kertas pH universal (mColorpHast pH Test Strips).

Kultur dibuat dengan menginokulasi tiga ose isolat secara aseptis ke dalam 20 mL medium CCP yang mempunyai pH 9, pH 11, dan pH 13. Selanjutnya kultur diinkubasi selama 24 jam di atas *rotary shaker* dengan kecepatan 100 rpm pada suhu ruang 30°C. Setelah 24 jam, 20 mL isolat uji dimasukkan ke dalam 180 mL medium cair CCP dan diinkubasi di atas *rotary shaker* dengan kecepatan 100 rpm pada suhu ruang 30°C. Pengukuran *Optical Density* (OD) dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm (Harley and Prescott, 2002).

Pengukuran OD dimulai dari jam ke-0 hingga jam ke-2 dengan interval 30 menit, selanjutnya diukur setiap 2 jam sekali hingga jam ke-24. Data *Optical Density* (OD) yang didapatkan kemudian dibuat kurva pertumbuhan dengan sumbu x sebagai waktu (t) dan sumbu y sebagai hasil *Optical Density* (OD).

3.2.4 Produksi Kristal CaCO₃

Produksi dan penghitungan jumlah CaCO₃ terpresipitasi pada medium cair CCP pH 9, 11, dan 13. Uji dilakukan dengan cara menginokulasikan satu ose isolat bakteri ke dalam medium CCP sebanyak 50 mL kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Bakteri yang tumbuh pada medium cair CCP selanjutnya diambil 6 mL inokulum bakteri dan dimasukkan dalam medium cair CCP sebanyak 50 mL. Campuran inokulum bakteri dengan medium cair CCP kemudian diinkubasi di atas *rotary shaker* kecepatan 130 rpm pada suhu 30°C selama 10 hari (Utomo dan Zulaika, 2018).

Kertas saring (*Whatman filter paper*) dipotong melingkar dengan diameter 5 cm dan ditimbang masing-masing beratnya (*W_f*). Berat CaCO₃ yang terbentuk dapat diketahui dengan cara melewatkan inokulum bakteri pada medium cair CCP pada kertas

saring sehingga kristal CaCO_3 yang terbentuk terpisah dari medium dan bakteri. Kertas saring dan kristal CaCO_3 kemudian dikeringkan pada oven dengan suhu 60°C selama 4 jam, kemudian ditimbang berat CaCO_3 yang terpresipitasi. Perhitungan berat CaCO_3 yang terpresipitasi (W_c) ditentukan dengan rumus berikut :

$$W_c = W_{fc} - W_f$$

Keterangan :

W_c : Berat CaCO_3

W_{fc} : Berat kertas *Whatman* yang mengandung CaCO_3

W_f : Berat kertas *Whatman* kosong

(Hammad *et al.*, 2013).

3.2.5 Penentuan Umur *Starter*

Penentuan umur isolat untuk biobeton dilakukan dengan mengamati pertumbuhan isolat pada medium CCP cair pH 13 selama 24 jam sehingga dapat ditentukan waktu optimum untuk aplikasi. Data kepadatan bakteri (*Optical density* = OD) divisualisasi dengan kurva pertumbuhan. Nilai OD mencapai 0,6-0,8 setara dengan kepadatan $4,8-7,2 \times 10^8$ (Fitria dan Zulaika, 2018). *Starter* yang diinokulasikan pada biobeton harus memiliki kepadatan 10^6 sel/mL (Rukmana dan Zulaika, 2017). Berdasarkan pengamatan tersebut, didapatkan umur perlakuan untuk menentukan kepadatan sel yaitu μ (jam).

Umur perlakuan μ (jam) dihitung dengan rumus :

$$\mu \text{ (jam)} = \frac{\text{FEB} - \text{FEA}}{2}$$

Keterangan :

μ = umur kultur yang akan diberi perlakuan

FEB = fase eksponensial akhir

FEA = fase eksponensial awal

3.2.6 Pembuatan Kultur Starter

Isolat yang akan digunakan untuk preparasi beton adalah isolat yang memiliki produksi CaCO_3 pada pH 13 dengan μ jam yang berasal dari kurva pertumbuhan pada sub bab 3.2.5. Kultur *starter* dibuat dengan menginokulasi tiga ose isolat secara aseptis ke dalam 20 mL medium cair CCP. Selanjutnya kultur diinkubasi selama 24 jam di atas *rotary shaker*. Setelah 24 jam, 20 mL isolat uji dimasukkan ke dalam 180 mL medium cair CCP dan diinkubasi di atas *rotary shaker* dengan kecepatan 100 rpm pada suhu ruang 30°C . Semua *starter* diinkubasi selama μ (jam) (Rukmana dan Zulaika, 2017).

3.2.7 Preparasi Beton

Bahan baku beton terdiri dari campuran pasir alami, agregat kasar, semen, dan air. Modifikasi perhitungan untuk beton 20 MPa dapat dilihat pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Modifikasi Bahan Baku Beton 20 Mpa (Alkhaly, 2016)

	Proporsi Campuran Beton (kg/m^3)			
	Semen	Pasir alami	Agregat kasar	Air
C_0 (kontrol)	322	671,5	1114,3	211
C_{JA1}	322	671,5	1114,3	211
C_{JB2}	322	671,5	1114,3	211
C_{JB3}	322	671,5	1114,3	211
C_{JA4}	322	671,5	1114,3	211
C_{AK4}	322	671,5	1114,3	211
C_{SU1}	322	671,5	1114,3	211

Beton kontrol (C_0) dibuat tanpa penambahan isolat bakteri, sedangkan pada biobeton (C_{JA1} , C_{JB2} , C_{JB3} , C_{JA4} , C_{AK4} , C_{SU1}) dilakukan penambahan isolat bakteri. *Starter* yang digunakan untuk preparasi biobeton yakni berumur μ jam, kepadatan 10^6 sel/mL dengan volume 200 mL (Rukmana dan

Zulaika, 2017). Preparasi beton secara rinci dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Preparasi Beton

Keterangan : (a) Bahan pembuatan beton dicampur dalam bak pengaduk. Beton dicetak dengan cetakan berbentuk silinder berukuran diameter 10 cm dan tinggi 20 cm (Gambar b dan c). Spesimen uji kemudian dipindahkan dari cetakan setelah 24 jam. Selanjutnya perawatan beton (*curing*) dilakukan dengan cara metode *water curing* (perawatan basah) yaitu direndam dalam bak perendaman selama 28 hari (Gambar d). Setelah direndam, beton dikering anginkan dan dilakukan *capping* pada permukaan dan alas beton (Gambar e). Beton yang telah dicapping, kemudian dilakukan uji kuat tekan menggunakan mesin *Compression Testing* (Gambar f). Aplikasi biobeton dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

3.2.8 Uji Kuat Tekan

Uji kuat tekan beton digunakan untuk mengetahui kekuatan beton yang telah ditambah bakteri karbonoklastik yang mampu menghasilkan kristal CaCO_3 pada pH 13. Pengujian kuat tekan dilakukan pada saat beton dalam keadaan lembab setelah dikeluarkan dari kolam perendaman (*water curing*). Uji kuat tekan beton menggunakan mesin *Compression Testing*. Setelah dilakukan pengujian maka didapatkan data kekuatan beton (MPa) dari spesimen beton kontrol (C_0) dan spesimen beton dengan penambahan bakteri kemudian dibandingkan kekuatan betonnya sehingga didapatkan beton yang lebih kuat terhadap tekanan. Nilai kuat tekan beton didapatkan dari persamaan rumus :

Ket. : f_c' = kuat tekan beton (MPa)

F = beban tekan (N)

A = luas penampang (mm^2)

(Suhadirman, 2011)

$$f_c' = F/A$$

3.3 Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Penelitian dilakukan dengan menggunakan analisis deskriptif kuantitatif. Pengaruh penambahan bakteri karbonoklastik terhadap kuat tekan beton dianalisis menggunakan *Analysis of Variance (ANOVA) One Way*.

Hipotesa :

H_0 : Penambahan bakteri karbonoklastik yang mampu menghasilkan kristal CaCO_3 pada pH 13 tidak berpengaruh terhadap peningkatan kekuatan struktur beton.

H_1 : Penambahan bakteri karbonoklastik yang mampu menghasilkan kristal CaCO_3 pada pH 13 berpengaruh terhadap peningkatan kekuatan struktur beton.

Dengan pengambilan keputusan :

a) Jika $P > 0,05$ maka tidak ada pengaruh signifikan, gagal tolak

H_0

b) Jika $P < 0,05$ maka ada pengaruh signifikan, H_0 ditolak.

Jika ada pengaruh perlakuan maka dilakukan uji signifikansi dengan uji Tukey (HSD, Honestly Significant Difference) dengan $p = 0,05$. Alur skema kerja penelitian secara rinci ditunjukkan di Lampiran 1.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

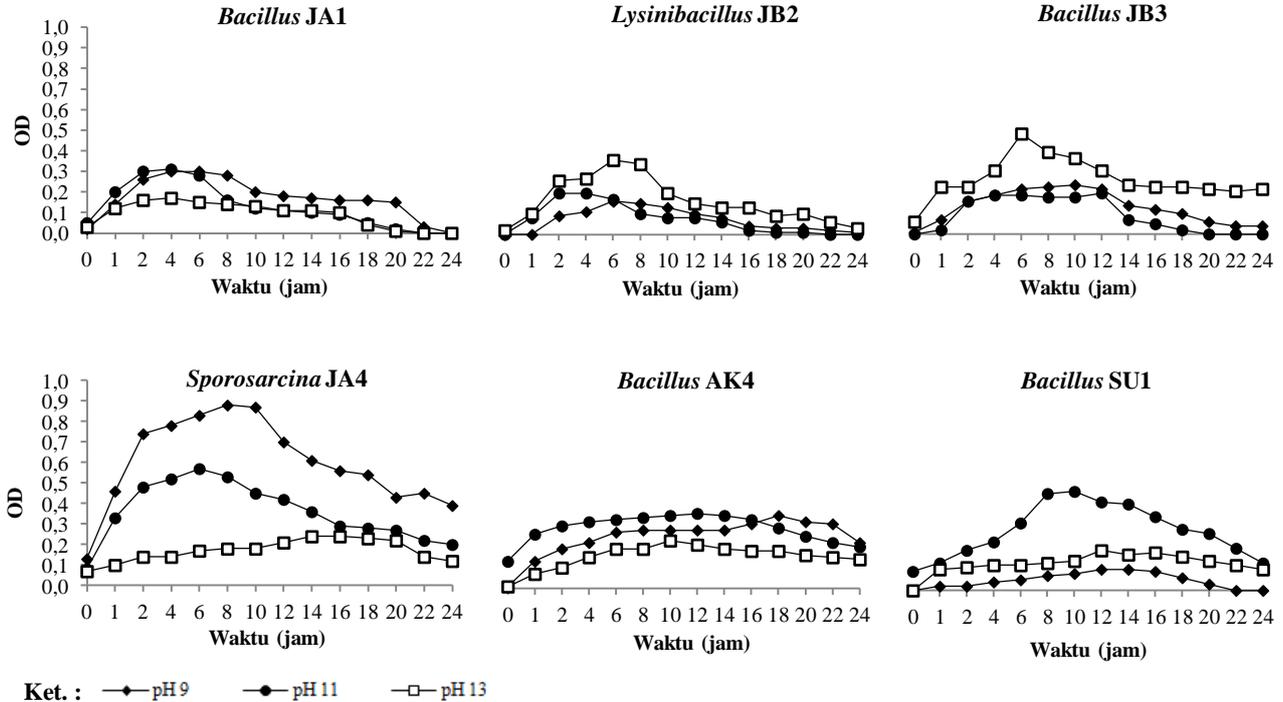
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Optimasi pH untuk Pertumbuhan Bakteri Karbonoklastik

Semua isolat bakteri karbonoklastik dapat tumbuh pada medium selektif CCP cair yang mempunyai pH 9, 11, dan 13. Masing-masing bakteri memiliki pH optimum yang berbeda-beda. *Bacillus* JA1 dan *Sporosarcina* JA4 mampu tumbuh optimum pada pH 9, *Bacillus* AK4 dan *Bacillus* SU1 mampu tumbuh optimum pada pH 11, *Lysinibacillus* JB2 dan *Bacillus* JB3 mampu tumbuh optimum pada pH 13 (Gambar 4.1).

Menurut Tagavifar *et al.* (2018), tanah kapur mempunyai pH 7,6-8,6. Bakteri karbonoklastik uji merupakan bakteri yang diisolasi dari tanah kapur, sehingga mampu tumbuh di pH alkali. Selain itu, medium CCP mengandung pepton, ekstrak daging, dan ekstrak khamir yang berfungsi sebagai sumber karbon organik untuk pendukung pertumbuhan (Overmann, 2013). Menurut Madigan *et al.* (2015), bakteri mampu tumbuh pada pH ekstrem yakni pH 13 karena mampu membentuk endospora sebagai struktur pertahanan pada kondisi yang tidak menguntungkan seperti pH ekstrem, suhu tinggi, radiasi, bahan kimia, dan kekeringan (Madigan *et al.*, 2015).

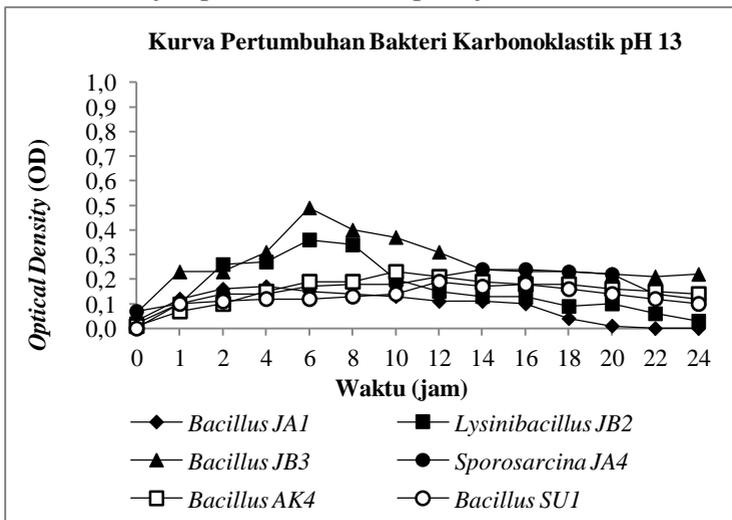
Menurut Ray (2004), mekanisme terjadinya proses sporulasi dimulai dengan tahap penghentian replikasi DNA, diikuti dengan penjarangan kromosom di dalam filamen aksial dan pembentukan mesosom. Invaginasi membran sel dan pembentukan septum. Pembentukan prespora atau paraspora, kemudian pembentukan dinding sel germinal dan korteks, akumulasi ion Ca^{2+} dan sintesis DPN. Deposisi mantel spora, pematangan spora, dehidrasi protoplas, dan resistensi. Tahap akhir terjadi lisis enzimatik pada dinding sel dan pembebasan spora.



Gambar 4.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri Karbonoklastik

Bakteri karbonoklastik uji yang bersifat alkalifil dioptimalkan pertumbuhannya pada pH 13 yang disesuaikan dengan pH semen. Hasil optimasi tersebut menunjukkan bahwa semua isolat mampu tumbuh pada pH ekstrem 13 (Gambar 4.2). Enam bakteri karbonoklastik mampu tumbuh dengan baik pada pH 13. Pola pertumbuhan pada ke-enam bakteri karbonoklastik tidak ditemukan adanya fase adaptasi karena medium yang digunakan merupakan medium yang sama dengan kultur bakteri sebelumnya. Setelah 1 jam inkubasi, semua isolat mulai meningkat pertumbuhannya hingga fase eksponensial. Pertumbuhan yang paling baik pada pH 13 adalah *Bacillus* JB3 dan *Lysinibacillus* JB2. *Bacillus* JB3 mencapai nilai OD maksimal sebesar 0,5, sedangkan *Lysinibacillus* JB2 mencapai nilai OD sebesar 0,4.

Setelah mencapai OD maksimal, pada jam ke-10 inkubasi semua isolat bakteri memasuki fase stasioner. Fase stasioner terjadi karena jumlah nutrisi pada medium mulai habis (Willey *et al.*, 2015). Semua isolat bakteri karbonoklastik kecuali *Bacillus* JA1, belum dijumpai fase kematian pada jam ke-24.



Gambar 4.2 Kurva Pertumbuhan Bakteri Karbonoklastik pH 13.

4.2 Produksi Kristal CaCO₃

Kultur isolat bakteri karbonoklastik pada medium CCP *broth* menghasilkan endapan serbuk berwarna putih kekuningan kristal CaCO₃ didasar medium (Tabel 4.1).

Tabel 4.1 Hasil Produksi Kristal CaCO₃

Isolat	Berat Kristal CaCO ₃ (mg/mL)		
	pH 9	pH 11	pH 13
<i>Bacillus</i> JA1	15,31±0,62	11,88±0,42	12,31±1,58
<i>Lysinibacillus</i> JB2	16,01±0,45	13,15±0,14	12,98±1,63
<i>Bacillus</i> JB3	14,68±0,60	11,10±0,43	6,95±0,39
<i>Sporosarcina</i> JA4	15,17±0,30	11,82±0,24	8,56±0,83
<i>Bacillus</i> AK4	14,01±0,10	8,21±0,67	6,62±0,37
<i>Bacillus</i> SU1	14,20±0,14	9,20±0,58	7,76±0,74

Medium CCP merupakan medium untuk mendeteksi presipitasi CaCO₃. Medium dalam CCP terdapat urea sebagai prekursor untuk pembentukan ion karbonat dan CaCl₂ sebagai sumber ion kalsium, sehingga terbentuk endapan CaCO₃. Produksi kristal CaCO₃ oleh isolat bakteri karbonoklastik pada setiap pengulangan dapat dilihat pada Lampiran 2. Produksi CaCO₃ pada pH 9, 11, dan 13 paling tinggi dihasilkan oleh *Lysinibacillus* JB2 sebanyak 16,01 mg/mL, 13,15 mg/mL, dan 12,98 mg/mL. Visualisasi serbuk kristal CaCO₃ dapat dilihat pada Lampiran 3.

Lysinibacillus JB2 mampu menghasilkan CaCO₃ dengan jumlah yang relatif konstan pada pH 9, 11, dan 13. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Rukmana dan Zulaika (2017), bahwa *Lysinibacillus* JB2 mampu menghasilkan kristal CaCO₃ sebanyak 3,82 mg/mL dan relatif lebih tinggi dibandingkan dengan isolat lain. Berdasarkan penelitian Utomo dan Zulaika (2018), hasil produksi kristal CaCO₃ pada pH 9 oleh *Bacillus* JA1 7,51 mg/mL,

Lysinibacillus JB2 7,42 mg/mL, *Bacillus* JB3 5,56 mg/mL, *Sporosarcina* JA4 6,94 mg/mL, *Bacillus* AK4 7,52 mg/mL, dan *Bacillus* SU1 6,54 mg/mL.

Semua isolat bakteri karbonoklastik pada pH 9 menghasilkan jumlah kristal CaCO_3 yang relatif tinggi, pada pH 8-9 aktivitas urease lebih tinggi dan mempunyai afinitas yang lebih kuat terhadap urea pada pH basa, sehingga pada pH tersebut dihasilkan presipitat CaCO_3 yang lebih banyak. Isolat diisolasi dari daerah berkapur yang mempunyai pH alkali sehingga mempunyai aktivitas urease yang tinggi. Urea dihidrolisis bakteri untuk menghasilkan energi dan sebagai sumber nitrogen. ATP yang dihasilkan berhubungan dengan produksi ammonium dari hidrolisis urea (Al- Thawadi, 2011).

Berdasarkan penelitian Novanti dan Zulaika (2018), aktivitas urease pada pH 9 oleh isolat *Bacillus* JA1 (73,9 U/mL), isolat *Lysinibacillus* JB2 (110,2 U/mL), isolat *Bacillus* JB3 (65,5 U/mL), isolat *Sporosarcina* JA4 (102,5 U/mL), isolat *Bacillus* AK4 (77,3 U/mL), dan isolat *Bacillus* SU1 (91,4 U/mL). Jumlah sel bakteri yang lebih tinggi akan memproduksi urease untuk menghidrolisis urea lebih banyak per unit volume, sehingga jumlah presipitat CaCO_3 juga semakin meningkat (Wei *et al.*, 2015).

Menurut Al Thawadi (2011), presipitasi CaCO_3 oleh bakteri menggunakan urea sebagai sumber energi dan menghasilkan amonium yang meningkatkan nilai pH lingkungan serta membentuk karbonat hingga terjadi presipitasi CaCO_3 . Kondisi pH basa merupakan faktor utama dalam proses presipitasi dimana proses tersebut melibatkan hidrolisis urea, peningkatan alkalinitas lingkungan, dan permukaan untuk adsorpsi ion Ca^{2+} . Pada umumnya, pembentukan karbonat oleh bakteri terjadi dalam dua jalur metabolisme yaitu secara autotrof dan heterotrof. Secara autotrof, CO_2 digunakan sebagai sumber karbon sehingga jumlahnya menurun di lingkungan sekitar bakteri. Dengan adanya ion Ca^{2+} penurunan jumlah ini kemudian meningkatkan produksi CaCO_3 . Sedangkan secara heterotrof,

presipitasi dapat terjadi secara aktif dan pasif. Presipitasi secara aktif melibatkan pertukaran ion melalui membran sel oleh adanya pompa ion. Sedangkan degradasi urea, dimana produk metabolik berupa amonia mampu meningkatkan nilai pH untuk memicu terjadinya presipitasi. Selain itu, proses pembentukan presipitat CaCO_3 biasanya dipengaruhi oleh empat faktor utama yakni konsentrasi kalsium, konsentrasi karbon anorganik terlarut, pH, dan ketersediaan titik nukleasi (Wei *et al.*, 2015).

4.3 Penentuan Umur *Starter*

Penentuan umur *starter* digunakan untuk pengaplikasian pada biobeton. Penentuan umur isolat untuk biobeton dilakukan dengan mengamati pertumbuhan isolat pada medium CCP cair selama 24 jam sehingga dapat ditentukan waktu optimum untuk aplikasi beton. Data kepadatan bakteri (*Optical density* = OD) divisualisasi dengan kurva pertumbuhan (Gambar 4.3). Nilai OD mencapai 0,6-0,8 setara dengan kepadatan $4,8-7,2 \times 10^8$ (Fitria dan Zulaika, 2018). *Starter* yang diinokulasikan pada biobeton harus memiliki kepadatan 10^6 sel/mL (Rukmana dan Zulaika, 2017). Berdasarkan hasil OD, maka kultur *starter* yang digunakan untuk aplikasi biobeton yakni pada umur jam ke-10 fase eksponensial akhir karena metabolisme menumpuk pada saat menuju fase stationer.

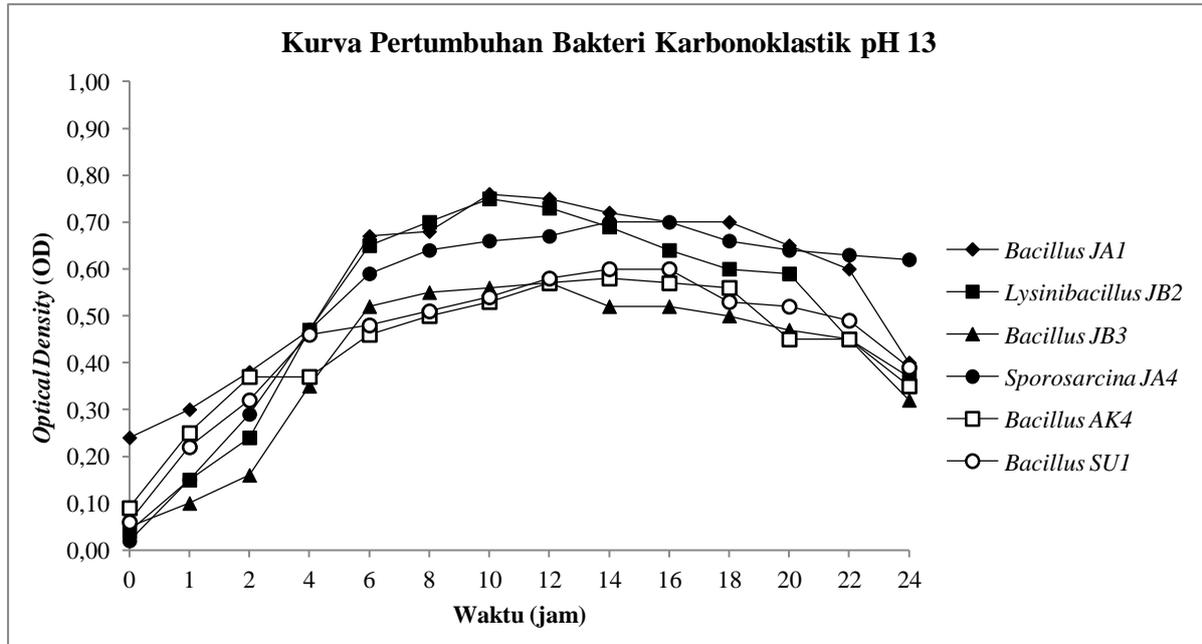
Enam isolat karbonoklastik mampu tumbuh dengan baik pada medium CCP pH 13. Kondisi pH medium yang sesuai dengan pH tanah kapur yang memiliki pH alkali, sehingga isolat mampu bertahan hidup pada pH tersebut. Pola pertumbuhan mikroorganisme terdiri dari 4 fase yaitu fase adaptasi, fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian (Madigan *et al.*, 2015). Pertumbuhan ke-enam isolat memiliki pola yang hampir sama karena termasuk dalam genus *Bacillus*, kecuali *Sporosarcina* JA4 memiliki pola yang berbeda dengan isolat lain.

Pada pola pertumbuhan semua isolat bakteri karbonoklastik tidak dijumpai adanya fase adaptasi karena medium yang digunakan sama seperti kultur bakteri sebelumnya yakni medium

CCP. Semua isolat menunjukkan fase eksponensial, isolat JA1 dan JB2 mencapai nilai OD maksimal sebesar 0,7. Isolat JA1, JB2, dan JB3 mengalami fase stasioner pada jam ke-10 hingga jam 12. Fase stasioner isolat JA4, AK4 dan SU1 dimulai pada jam ke-12 hingga jam 14. Selama masa inkubasi 24 jam, semua isolat belum menunjukkan fase kematian.

Menurut Madigan *et al.*, (2015) fase eksponensial dari kurva pertumbuhan bakteri diketahui dari nilai OD maksimal. Isolat JA1 dan JB2 memiliki kepadatan sel yang paling tinggi dengan nilai OD 0,7. Fase eksponensial merupakan fase pembelahan sel yang berlangsung secara cepat karena adanya peningkatan aktivitas metabolisme, sehingga pada fase ini sel berkembang secara optimum. Setelah mencapai OD maksimal isolat bakteri memasuki fase stasioner dimana jumlah sel yang mati sama dengan sel yang hidup. Fase stasioner terjadi karena jumlah nutrisi pada medium mulai habis (Willey *et al.*, 2015). Kebutuhan nitrogen dan energi bakteri karbonoklastik untuk pertumbuhan tercukupi melalui hidrolisis urea (Dhami *et al.*, 2017). Urease digunakan bakteri untuk menghidrolisis urea menjadi ammonia dan karbonat. Urea menyediakan energi dan sumber nitrogen untuk bakteri. Urea juga berperan sebagai sumber ion karbonat (CO_3^{2-}) dalam presipitasi kalsium karbonat CaCO_3 (Krishnapriya *et al.*, 2015).

Pada kurva pertumbuhan belum dijumpai fase kematian pada jam ke-24. Hasil tersebut didukung oleh penelitian Dhami *et al.*, (2017) yang menunjukkan pada medium yang mengandung urea, bakteri pemecah urea tetap berada pada fase stasioner hingga hari ke-10 pasca inokulasi. Hal tersebut disebabkan kebutuhan nitrogen bakteri untuk pertumbuhan dapat tercukupi melalui mekanisme pemecahan urea.



Gambar 4.3 Kurva Pertumbuhan Bakteri Karbonoklastik untuk *Starter*.

4.4 Hasil Biobeton

Beton yang dihasilkan berbentuk silindris dengan ukuran diameter 10 cm dan tinggi 20 cm. Menurut Talinusa (2014), beton silinder 10 x 20 cm lebih sering digunakan karena benda uji tersebut membutuhkan sedikit bahan untuk membuat sampel beton dan lebih ringan. Perawatan (*curing*) dilakukan setelah beton dicetak. Beton setelah *curing* dapat dilihat pada Gambar 4.4.



(a)

(b)

Gambar 4.4 Morfologi Luar Beton (a) Beton kontrol (b) Beton dengan isolat bakteri karbonoklastik. Secara visual tidak ada perbedaan antara beton kontrol dan beton dengan penambahan bakteri karbonoklastik.

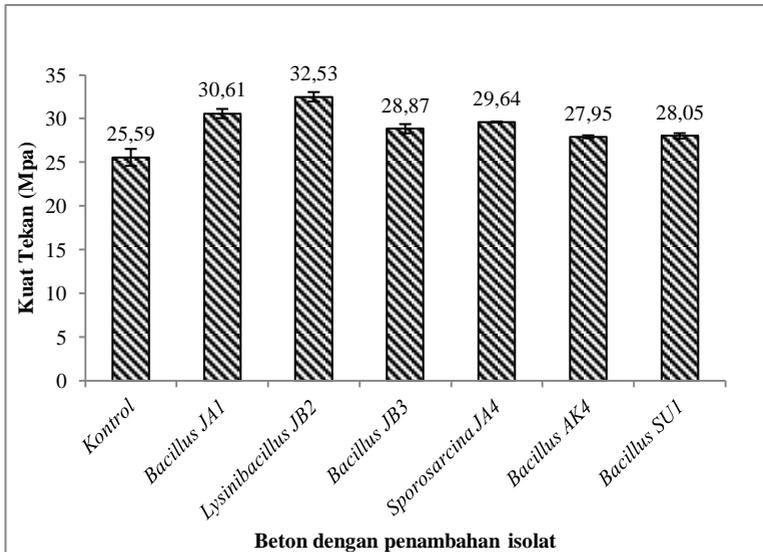
Fungsi *curing* untuk perawatan beton yang memberikan kelembapan pada beton supaya proses hidrasi semen dapat terjadi

dan kekuatannya benar-benar maksimal (Mooy dkk., 2017). Beton harus berada dalam keadaan lembab minimal sampai berumur 7 hari dan sebaiknya dilakukan sampai beton berumur 28 hari. Pada penelitian ini dilakukan perawatan beton dengan cara metode *water curing* (perawatan basah) yaitu direndam dalam bak perendaman. Berdasarkan Gambar 4.4, morfologi beton kontrol dan biobeton relatif sama, sehingga bakteri karbonoklastik yang ditambah tidak mempengaruhi morfologi luar beton. Hasil biobeton dapat dilihat pada Lampiran 4.

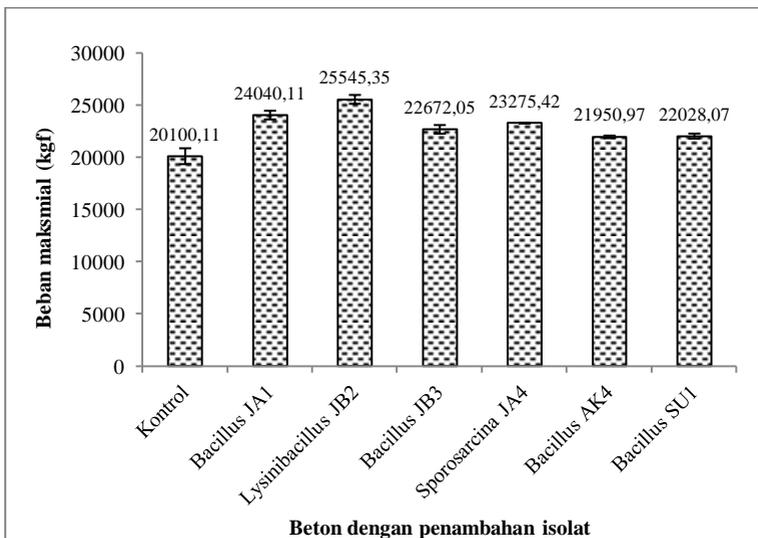
4.5 Uji Kuat Tekan Beton

Beton dengan penambahan bakteri karbonoklastik memiliki kuat tekan yang berbeda-beda. Semua biobeton memiliki kuat tekan dan beban maksimal yang lebih tinggi daripada beton kontrol (Gambar 4.5 dan 4.6). Kuat tekan beton kontrol sebesar 25,59 MPa dan relatif rendah dibandingkan dengan kuat tekan biobeton. Kuat tekan biobeton yang paling tinggi pada biobeton dengan penambahan *Lysinibacillus* JB2 sebesar 32,53 MPa, sedangkan biobeton yang lain mempunyai kuat tekan lebih rendah (Gambar 4.5). Beton kontrol memiliki beban maksimal sebesar 20100,11 kgf, sedangkan biobeton dengan beban maksimal paling tinggi yakni biobeton dengan penambahan *Lysinibacillus* JB2 sebesar 25545,35 kgf (Gambar 4.6).

Hasil analisis ANOVA *One-Way* menunjukkan perbedaan secara nyata antara beton kontrol dengan biobeton. Hal tersebut menunjukkan bahwa penambahan isolat bakteri karbonoklastik yang mampu menghasilkan CaCO_3 dan berpengaruh terhadap peningkatan kekuatan beton. Berdasarkan Gambar 4.5 dan 4.6, hasil kuat tekan beton berkorelasi dengan produksi kristal CaCO_3 (Tabel 4.1). Hal tersebut menunjukkan bahwa produksi kristal CaCO_3 yang dihasilkan (mg/mL) semakin banyak, maka kuat tekan beton akan semakin tinggi dan saat digunakan sebagai zat aditif beton memiliki kuat tekan yang lebih besar.



Gambar 4.5 Kuat Tekan Beton (MPa)



Gambar 4.6 Beban Maksimal Beton (kgf).

Beton normal merupakan jenis bahan konstruksi yang paling banyak digunakan, baik pada bangunan pemerintah maupun bangunan masyarakat. Beton ini ditetapkan sebagai beton yang mempunyai kekuatan tekan antara 17 Mpa sampai 40 Mpa dan mempunyai beban 2200 kg/m^3 sampai dengan 2500 kg/m^3 (Alkhaly, 2016). Berdasarkan uji kuat tekan biobeton dengan penambahan isolat, diperoleh hasil kuat tekan beton lebih tinggi dari 17 MPa dan memenuhi syarat untuk dijadikan material struktur bangunan.

Peningkatan kekuatan beton terutama disebabkan kristal CaCO_3 yang dapat mengisi pori-pori mikro dalam beton sehingga ukuran pori-pori akan mengecil dan memaksimalkan kuat tekan beton (Siddique *et al.*, 2016). Pori-pori beton yang terisi CaCO_3 menyebabkan aliran nutrisi dan oksigen menuju sel bakteri menjadi terhambat, sehingga sel-sel mati atau membentuk endospora. Endospora dapat bergerminasi secara vegetatif dalam beton dan mulai mempercepat produksi kristal CaCO_3 untuk memperbaiki retak mikro dalam beton (Nain *et al.*, 2019).

Menurut Krishnapriya *et al.*, (2015), kristal CaCO_3 berasal dari bakteri urease positif yang telah ditemukan dan berperan dalam pembentukan endapan CaCO_3 oleh produksi enzim urease. Enzim ini mengkatalisis hidrolisis urea menjadi ammonia dan karbonat, ammonia bertindak untuk menaikkan pH medium yang merupakan kondisi menguntungkan untuk pengendapan CaCO_3 . Karbonat mengikat ion kalsium dan menghasilkan pembentukan kristal CaCO_3 yang diendapkan lingkungan (Wei *et al.*, 2015).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

1. *Bacillus* JA1, *Lysinibacillus* JB2, *Bacillus* JB3, *Sporosarcina* JA4, *Bacillus* AK4, dan *Bacillus* SU1 mampu tumbuh dan menghasilkan CaCO_3 pada pH 13.
2. Kuat tekan beton maksimal pada pH 13 yakni beton dengan penambahan *Lysinibacillus* JB2 32,53 MPa dengan beban maksimal 25545,35 kgf.

5.2 Saran

Dalam skala laboratorium, ke-enam isolat bakteri karbonoklastik dapat memperkuat struktur beton, sehingga diperlukan penelitian lanjutan untuk aplikasi berbagai bentuk beton dalam skala kecil untuk kepentingan industri.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

Alkhaly, Y.R.2016. Perbandingan Rancangan Campuran Beton Berdasarkan SNI 03-2834-2000 dan SNI 7656:2012 pada Mutu Beton 20 Mpa. **Teras Jurnal**. Vol 6 (1): 11-18.

Al-Thawadi, S.M. 2011. Ureolytic Bacteria and Calcium Carbonate Formation as a Mechanism of Strength Enhancement of Sand. **Journal of Advanced Science and Engineering Research**. Vol 1: 98-114.

Anbu, P., Kang, C., Shin, Y., & So, J.2016. Formation of Calcium Carbonate Minerals by Bacteria and Its Multiple Applications. **Springerplus**. Vol 2 (5): 250- 276.

Balsala, S.O.2018.Pengujian Tekan dan Tarik Belah Beton dengan Agregat dari Kepulauan Aru. **Jurnal Sipil Statik**. Vol 6 (9):715-722.

Cappucino, J.G., & Sherman, N.2014.**Microbiology A Laboratory Manual**.Tenth Edition.United States of America : Pearson Education, Inc.

Dhami, K.N., Alsubhi, W.R., Watkin, E., & Mukherjee, A. 2017. Bacterial Community Dynamics and Biocement Formation during Stimulation and Augmentation: Implications for Soil Consolidation. **Front. Microbiol**. Vol.8 (1267): 1-17.

Fitria, A.N & Zulaika, E. 2018. Bioakumulasi Logam Emas oleh *Bacillus cereus* S1. **Skripsi**. Surabaya: Departemen Biologi, Fakultas Sains, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Hammad, L.A., Talkhan, F.N., & Zoheir, A.E. 2013. Urease Activity and Induction of Calcium Carbonate Precipitation by

Sporosarcina pasteurii NCIMBB 8841. **Journal of Applied Sciences Research**. Vol. 9 (3): 1525-1533.

Harley, and Prescott.2002.**Laboratory Exercise In Microbiology, Fifth Edition**. The Mcgraw-Hill Companies.

Heisig, A., Urbonas, L., Beddoe, R.E., & Heinz, D.2016. Ingress of NaCl in Concrete with Alkali Reactive Aggregate: Effect on Silicon Solubility. **Materials and Structure**. Vol 49 : 4291-4303.

Kim, H.J., Eom, H.J., Park,C., Jung,J., Shin,B., Kim,W., Chung, N., Choi,I., & Park, W. 2016. Calcium Carbonate Precipitation by Bacillus and Sporosarcina Strains Isolated from Concrete and Analysis of the Bacterial Community of Concrete. **J. Microbiol. Biotechnol**. Vol 26 (3): 540–548.

Kischuk, B.E.2000. **Calcareous Soils, Their Propertieess and Potential Limitations to Conifer Growth in Southeastern Columbia and Western Alberta: A Literature Review**. Alberta (CAN) : Canadian Forest Service And Northern Forestry Center. p: 21.

Krishnapriya, S., Babu, D.L.V., & Arulraj, G.P. 2015. Isolation and Identification of Bacteria to Improve the Strength of Concrete. **Journal Microbiological Research**. Vol 174: 48-55.

Madigan, M.T., Martinko, J.M., Stahl, D.A., Bender, K.S., & Buckley, D.H. 2015. **Biology of Microorganism. 14th ed**. USA: Pearson education.

Mahesh, M.T., Martinko, J.M., Stahl, D.A., and Clark, D.P.2012. **Biology of Microorganism. 13 th Ed**. San Fransisco: Pearson. 140-141.

Mooy, M., Simatupang, P.H., & Frans, J.H. 2017. Pengaruh Suhu *Curing* Beton Terhadap Kuat Tekan Beton. **Jurnal Teknik Sipil**. Vol 6 (1): 47-60.

Nain, N., Surabhi, R., Yathish, N.V., Krishnamurthy, V., Deepa, T., & Tharannum, S. 2019. Enhancement in Strength Parameters of Concrete By Application of *Bacillus* Bacteria. **Construction and Building Materials**. Vol 202: 904-908.

Novanti, R. & Zulaika, E. 2018. Aktivitas Urease Bakteri Ureolitik yang diisolasi dari Daerah Berkapur. **Skripsi**. Surabaya: Departemen Biologi, Fakultas Sains, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Nugraha, P. 2007. **Teknologi Beton dari Material, Pembuatan, ke Beton Kinerja Tinggi**. Yogyakarta : Andi Publisher.

Overman, J. 2013. Principle of Enrichment, Isolation, Cultivation, and Preservation of Prokaryotes, **In the Prokaryotes: Prokaryotic Biology and Symbiotic Association** Eds., Rosenberg, G., DeLong, E.F., Lory, S., Stackebrandt, E., & Thompson, F., Springer, Heidelberg: Germany. Hal. 149-207.

Prescott, L.M., Harley, J.P., & Klein, D.A. 2008. **Microbiology, Seventh Edition**. New York: McGraw-Hill.

Rasko, D.A., Ravel, J., Andreas, O., Helgason, E., Cer, R.Z., Jiang, L., Shores, K.A., Fouts, D.E., Tourassel, N.J., Angiuoli, S.V., Kolonay, J., Nelson, W.C., Kolstù, A.B., Fraser, C.M., & Read, T.D. 2004. The Genome Sequence of *Bacillus Cereus* ATCC 10987 Reveals Metabolic Adaptations and A Large Plasmid Related to *Bacillus Anthracis* pxo1. **Nucleic Acid Research**. Vol 32 (3): 977-988.

Ravindranatha., Kannan, N., & M.L Likhit. 2014. Self Healing Material Bacterial Concrete. **International Journal of Research in Engineering and Technology**. Vol 3 Issue: 03.656-659.

Ray, B.2004. **Fundamental Food Microbiology**. Third Edition. New York: CRC Press.

Rukmana, G., & Zulaika, E. 2017. Bakteri Karbonoklastik dari Pegunungan Kapur yang Berpotensi untuk Memperkuat Struktur Beton. **Skripsi**. Surabaya : Departemen Biologi, Fakultas Sains, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Siddique, R., Nanda, V., Kunal., Kadri, E., Khan, M.I., Singh, M., & Rajor, A. 2016. Influence of Bacteria on Compressive Strength and Permeation Properties of Concrete Made with Cement Baghouse Filter Dust. **Constructions and Building Material**. Vol 106 : 461-469.

Suhadirman, M.2011. Kajian Pengaruh Penambahan Serat Bambu Ori terhadap Kuat Tekan dan Kuat Tarik Beton. **Jurnal Teknik**. Vol 1(2): 88-95.

Sutrisno, A., & Widodo, S.2013. Analisis Variasi Kandungan Semen terhadap Kuat Tekan Beton Ringan Struktural Agregat *Pumice*. **Jurnal Teknik**. Vol 2: 45-55.

Tagavifar, M., Jang, S.H., Sharma, H., Wang, D., Chang, L.Y., Mohanty, K., Pope, G.A. 2018. Effect of pH on Adsorption of Anionic Surfactants on Limestone: Experimental Study and Surface Complexation Modeling. **Colloids and Surfaces A**. Vol 538: 549-558.

Talinusa, O.G., Tenda, R., & Tamboto, W.J.2014. Pengaruh Dimensi Benda Uji Terhadap Kuat Tekan Beton. **Jurnal Sipil Statik**. Vol.2 (7): 344-351.

Tjokrodimuljo, K. 2007. **Teknologi Beton**. Yogyakarta: Biro Penerbit Teknik Sipil Keluarga Mahasiswa Teknik Sipil dan Lingkungan, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Utomo, M.A.P., & Zulaika, E. 2018. Bakteri Karbonatogenik sebagai Agen Biosemen untuk Alternatif Memperbaiki Retakan Beton. **Tesis**. Surabaya: Departemen Biologi, Fakultas Sains, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.

Wang, J., Ersan, Y.C., Boon, N., & Belie, N.D. 2016. Application of Microorganisms in Concrete: A Promising Sustainable Strategy to Improve Concrete Durability. **Appl Microbiol Biotechnol**. Vol 100(7): 2993-3007.

Wang, B., Pan, Z., Du, Z., Cheng, H., & Cheng, F. 2019. Effect of Impure Components in Flue Gas Desulfurization (FGD) Gypsum on the Generation of Polymorph CaCO_3 During Carbonation Reaction. **Journal of Hazardous Materials**. Vol 369: 236-243.

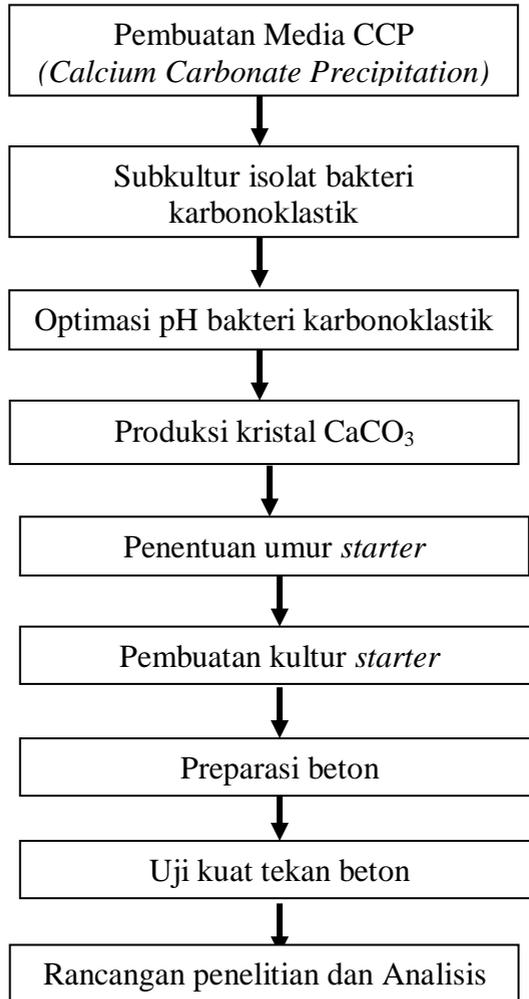
Wei, S., Cui, H., Jiang, Z., Liu, H., He, H., & Fang, N. 2015. biomineralization processes of calcite induced by bacteria isolated from marine sediments. **Brazilian journal of Microbiology**. Vol 46(2): 455-464.

Willey, J.M., Sherwood, L.M., & Woolverton, C.J. 2016. **Prescott's Microbiology 10th Edition**. New York: Mc. Graw Hill Education.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian



Lampiran 2. Hasil Uji Produksi Kristal CaCO₃

Isolat	Berat Kristal CaCO ₃ (mg/mL)			
	pH	Pengulangan		
		1	2	3
<i>Bacillus</i> JA1	9	15,81	15,00	14,59
	11	12,01	11,42	12,23
	13	12,91	13,50	12,31
<i>Lysinibacillus</i> JB2	9	16,36	15,51	16,81
	11	13,05	13,11	13,31
	13	14,84	11,81	12,30
<i>Bacillus</i> JB3	9	14,85	15,18	14,01
	11	10,94	10,77	11,59
	13	7,11	6,51	7,25
<i>Sporosarcina</i> JA4	9	14,91	15,11	15,50
	11	11,56	12,03	11,88
	13	8,06	9,53	8,11
<i>Bacillus</i> AK4	9	14,12	14,00	13,92
	11	7,45	8,70	8,49
	13	6,32	6,51	7,04
<i>Bacillus</i> SU1	9	14,30	14,27	14,04
	11	9,78	9,19	8,63
	13	8,27	8,10	6,91

Lampiran 3. Hasil Kristal CaCO_3

- Isolat *Bacillus* JA1
pH 9



pH 11



pH 13



- Isolat *Lysinibacillus* JB2
pH 9



pH 11

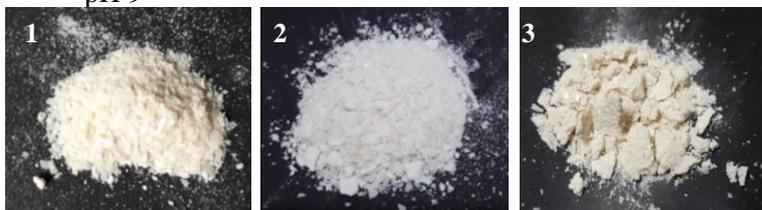


pH 13



- Isolat *Bacillus* JB3

pH 9



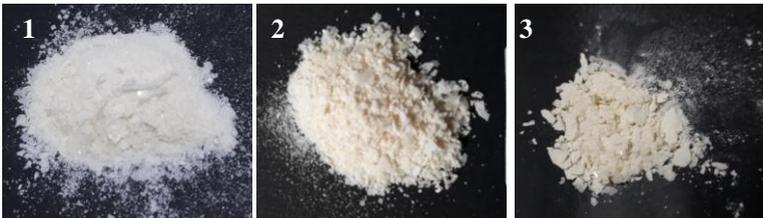
pH 11



pH 13



- Isolat *Sporosarcina* JA4
pH 9



pH 11



pH 13



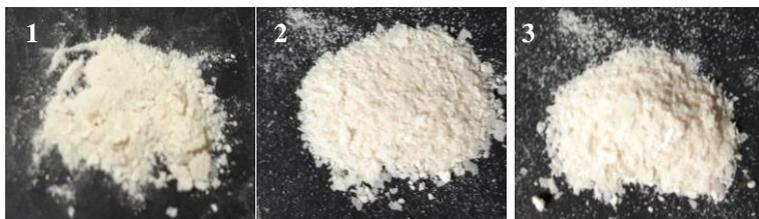
- Isolat *Bacillus* AK4
pH 9



pH 11



pH 13



- Isolat *Bacillus* SU1
pH 9





pH 13



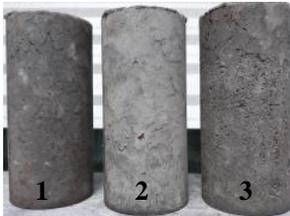
Lampiran 4. Hasil Biobeton



Kontrol



Bacillus JA1



Lysinibacillus JB2



Bacillus JB3



Sporosarcina JA4



Bacillus AK4



Bacillus SU1

**Lampiran 5. Alat untuk Menguji Kekuatan Beton
(Compression Testing Machine)**



Lampiran 6. Hasil Uji Kuat Tekan Beton

Perlakuan	Pengulangan	Maksimal Beban (kgf)	Kuat Tekan (MPa)
Kontrol	1	20060,27	25,54
	2	19360,07	24,65
	3	20879,98	26,59
<i>Bacillus</i> JA1	1	24355,21	31,01
	2	24197,42	30,81
	3	23567,69	30,01
<i>Lysinibacillus</i> JB2	1	25054,21	31,90
	2	25785,34	32,83
	3	25796,49	32,85
<i>Bacillus</i> JB3	1	22418,10	28,54
	2	23150,56	29,48
	3	22447,48	28,58
<i>Sporosarcina</i> JA4	1	23311,18	29,68
	2	23267,90	29,63
	3	23247,17	29,60
<i>Bacillus</i> AK4	1	21821,91	27,78
	2	21954,56	27,95
	3	22076,45	28,11
<i>Bacillus</i> SU1	1	22221,44	28,29
	2	22109,20	28,15
	3	21753,58	27,70

Tabel Hasil Rata-rata Kuat Tekan Beton

Perlakuan	Maksimal Beban (kgf)	Kuat Tekan (MPa)
Kontrol	20100,11±760,74	25,59 ^E ±0,97
<i>Bacillus</i> JA1	24040,11±416,66	30,61 ^B ±0,53
<i>Lysinibacillus</i> JB2	25545,35±425,37	32,53 ^A ±0,54
<i>Bacillus</i> JB3	22672,05±414,66	28,87 ^{CD} ±0,53
<i>Sporosarcina</i> JA4	23275,42±32,66	29,64 ^{BC} ±0,04
<i>Bacillus</i> AK4	21950,97±127,31	27,95 ^D ±0,17
<i>Bacillus</i> SU1	22028,07±244,25	28,05 ^D ±0,31

Lampiran 7. Uji Statistik ANOVA *One-Way*
One-way ANOVA: kontrol; *Bacillus* JA1; *Lysinibacillus* JB2; *Bacillus* JB3; *Sporosarcina*; ...

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0,05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values

Factor 7 kontrol; *Bacillus* JA1; *Lysinibacillus* JB2; *Bacillus* JB3; *Sporosarcina* JA4; *Bacillus* AK4; *Bacillus* SU1

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	6	87,207	14,5345	52,88	0,000
Error	14	3,848	0,2749		
Total	20	91,055			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,524282	95,77%	93,96%	90,49%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
Kontrol	3	25,593	0,971	(24,944; 26,243)
<i>Bacillus</i> JA1	3	30,610	0,529	(29,961; 31,259)
<i>Lysinibacillus</i> JB2	3	32,527	0,543	(31,877; 33,176)
<i>Bacillus</i> JB3	3	28,867	0,532	(28,217; 29,516)
<i>Sporosarcina</i> JA4	3	29,6367	0,0404	(28,9875; 30,2859)
<i>Bacillus</i> AK4	3	27,9467	0,1650	(27,2975; 28,5959)

Bacillus SU1 3 28,047 0,308 (27,397; 28,696)

Pooled StDev = 0,524282

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
<i>Lysinibacillus</i> JB2	3	32,527	A
<i>Bacillus</i> JA1	3	30,610	B
<i>Sporosarcina</i> JA4	3	29,6367	B C
<i>Bacillus</i> JB3	3	28,867	C D
<i>Bacillus</i> SU1	3	28,047	D
<i>Bacillus</i> AK4	3	27,9467	D
Kontrol	3	25,593	E

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs

Individual confidence level = 99,58%

Lampiran 8: Biodata Penulis



Ajeng Selvyana Pangestu atau yang biasa dipanggil Ajeng lahir di Magetan, 2 Februari 1997. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara dari pasangan Suwito dan Sukarti. Penulis memulai pendidikan di SDN II Durenan, Sidorejo, Magetan. Kemudian tahun 2009 melanjutkan ke SMPN I Magetan, tahun 2012 bersekolah di SMAN I Magetan. Setelah lulus pendidikan SMA tahun 2015, penulis melanjutkan pendidikan S1 Biologi

Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama di bangku perkuliahan, pada tahun 2015 penulis mengikuti UKM KOPMA ITS dan mengikuti kegiatan Forum Mahasiswa Daerah yang dikenal dengan IMMS (Ikatan Mahasiswa Magetan Surabaya). Tahun pertama kuliah penulis juga sering mengikuti berbagai pelatihan seperti LKMM-PraTD, LKMM-TD HIMABITS, LKMW, LKPKTI. Tahun kedua, penulis mengikuti kegiatan organisasi mahasiswa yakni Badan Eksekutif Mahasiswa FIA ITS sebagai Staff Sosial Masyarakat (Sosmas) periode 2016/2017. Tahun ketiga, penulis tetap melanjutkan organisasi mahasiswa sebagai Staff Ahli Departemen Sosial Masyarakat di BEM FS ITS periode 2017/2018 dan mengikuti Himpunan Mahasiswa Biologi ITS sebagai Bendahara Departemen Entrepreneur periode 2017/2018. Ketertarikan penulis pada bidang Mikrobiologi mendorong penulis untuk melaksanakan penelitian Tugas Akhir yang berjudul “Pengaruh pH Alkali terhadap Produksi CaCO_3 pada Bakteri Karbonoklastik dan Potensinya untuk Memperkuat Struktur Beton”.