

**ABSTRAK**  
**UJI KEMAMPUAN BAKTERI *Bacillus megaterium* dan  
*Bacillus subtilis* UNTUK MEREMOVAL LOGAM BERAT  
KROMIUM (III)**

Nama Mahasiswa : Jayanti Rusyda  
NRP : 3310100024  
Jurusan : Teknik Lingkungan  
Dosen Pembimbing : Ipung Fitri Purwanti, ST., MT., Ph.D.

Penggunaan bakteri dalam pencemaran logam berat melalui penggunaan mikroorganisme atau bagian-bagiannya sebagai sistem pengolahan yang alami.

Penelitian ini mengupayakan penurunan kandungan kromium dengan menggunakan spesies bakteri yang berbeda, yaitu bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis*. Konsentrasi kromium yang digunakan adalah 50, 75, 100 mg/L dianalisis melalui uji laju pertumbuhan dan uji bioremediasi dengan variasi salinitas pada media *Nutrient Broth*.

Penelitian ini dilaksanakan selama satu bulan dan dilakukan di Laboratorium Teknik Lingkungan, FTSP, ITS, Surabaya. Pengamatan yang dilakukan meliputi kandungan logam berat kromium (Cr), analisa pH dan suhu, OD (*Optical Density*), jumlah koloni bakteri.

Dari hasil penelitian, uji bioremediasi pada bakteri *Bacillus megaterium* dengan konsentrasi 150 mg/L mampu mereduksi 39,73%; konsentrasi 175 mg/L mampu mereduksi 21,22%; konsentrasi 200 mg/L mampu mereduksi 15,60%. Pada bakteri *Bacillus subtilis* dengan konsentrasi 150 mg/L mampu mereduksi sebesar 39,73%; konsentrasi 175 mg/L mampu mereduksi sebesar 22,26%; konsentrasi 200 mg/L mampu mereduksi sebesar 16,11%.

**Kata kunci:** *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, Bioremediasi, Kromium

*Halaman ini sengaja dikosongkan*

**ABSTRACT**  
**ABILITY TEST OF BACTERIA *Bacillus megaterium* and**  
***Bacillus subtilis* FOR REMOVAL OF HEAVY METAL**  
**CHROMIUM (III)**

Name : Jayanti Rusyda  
NRP : 3310100024  
Department : Environmental Engineering  
Supervisor : Ipung Fitri Purwanti, ST., MT., Ph.D.

The use of bacteria in the problem of heavy metal contamination through the use of microorganisms or as the parts of natural treatment systems.

The purpose of this study is to reduce the content of chromium by using various bacterial species, which are *Bacillus megaterium* and *Bacillus subtilis*. Chromium concentration that was being used is 50, 75, and 100 mg/L analyzed by testing the growth rate and the bioremediation test tested with salinity variations in Nutrient Broth media.

This research was implemented within one month and done in the Laboratory of Environmental Engineering, FTSP, ITS, Surabaya. The observations that made include the content of chromium (Cr), analysis of pH and temperature, OD (Optical Density), and the number of bacterial colonies.

The research results shows, bioremediation of the test bacteria *Bacillus megaterium* with a concentration of 150 mg/L can reduce 39,73%; concentration of 175 mg/L can reduce 21,22%; concentration of 200 mg/L could reduce 15,60%. In *Bacillus subtilis* with a concentration of 150 mg/L could reduce by 42,83%; concentration of 175 mg/L could reduce by 22,26%; concentration of 200 mg/L could reduce by 16,11%.

**Keywords:** *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, Bioremediation, Chromium.

*Halaman ini sengaja dikosongkan*

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Bioremediasi**

Bioremediasi merupakan penggunaan mikroorganisme yang telah dipilih untuk ditumbuhkan pada polutan tertentu sebagai upaya untuk menurunkan kadar polutan tersebut. Pada saat proses bioremediasi berlangsung, enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme memodifikasi struktur polutan beracun menjadi tidak kompleks sehingga menjadi metabolit yang tidak beracun dan berbahaya (Priadie, 2012). Pemerintah Indonesia telah mempunyai peraturan hukum yang mengatur standar baku kegiatan bioremediasi dalam mengatasi permasalahan lingkungan akibat kegiatan pertambangan dan perminyakan serta bentuk pencemaran lainnya (logam berat dan pestisida) melalui Kementerian Lingkungan Hidup, Kep Men LH No.128 tahun 2003, tentang tata cara dan persyaratan teknis dan pengelolaan limbah minyak bumi dan tanah terkontaminasi oleh minyak bumi secara biologis (bioremediasi) yang juga mencantumkan bahwa bioremediasi dilakukan dengan menggunakan mikroba lokal. Secara khusus mikroba telah digunakan untuk tujuan lain misalnya sebagai agen pengendali hama dan penyakit, agen bioremediasi dan biodegradasi bahan pencemar, agen penghasil protein dan enzim-enzim penting yang telah dimanfaatkan dunia, agen-agen dalam bioteknologi modern, dan digunakan untuk mengungkap rahasia kehidupan bumi dan jagad raya (Suryanto, 2009)

Pengembangan teknik bioremediasi adalah teknologi alternatif pengolahan limbah minyak nabati yang relatif murah, sederhana dan ramah lingkungan. Hal ini dikarenakan proses bioremediasi dalam mendegradasi limbah memanfaatkan aktifitas mikroorganisme sebagai

pengurai polutan kompleks dirubah menjadi senyawa yang lebih sederhana (Citroreksoko, 1996; Fleury, 2007; Molla *et al.*, 2001). Selain itu teknologi prosesnya cukup sederhana. Pada dasarnya, pengolahan secara biologi dalam pengendalian pencemaran air, termasuk upaya bioremediasi, dengan memanfaatkan bakteri bukan hal baru namun telah memainkan peran sentral dalam pengolahan limbah konvensional sejak tahun 1900-an (Mara *et al.*, 2003).

Saat ini, bioremediasi telah berkembang pada pengolahan air limbah yang mengandung senyawa-senyawa kimia yang sulit untuk didegradasi dan biasanya dihubungkan dengan kegiatan industri, antara lain logam-logam berat, petroleum hidrokarbon, dan senyawa-senyawa organik terhalogenasi seperti pestisida dan herbisida (Tortora, 2010), maupun nutrisi dalam air seperti nitrogen dan fosfat pada perairan tergenang (Great Lakes Bio Systems. Inc. Co Orb-3.com/).

## **2.2 Bakteri *Bacillus***

Bakteri *Bacillus* di alam jumlahnya cukup banyak dan keanekaragamannya cukup tinggi, *Bacillus* dapat diisolasi dari lingkungan perairan tawar, perairan asin, tanah, tanaman, hewan dan udara bahkan di lingkungan ekstrim (Pignatelli, 2009). Menurut Zeroual *et al.* 2001 dalam De Jaysankar (2004) dan Satchanska *et al.* (2005) beberapa jenis bakteri yang dapat dimanfaatkan sebagai agen bioremoval untuk menyerap logam berat, di antaranya dari genus *Pseudomonas*, *Leptotrix*, *Klebsiella*, *Citrobacter* dan *Bacillus*. Jenis dari *Pseudomonas* dan *Bacillus* adalah paling resisten terhadap logam berat di lingkungan (Satchanska *et al.* 2005). Cheung dan Dong-Gu (2005) melaporkan bakteri *Bacillus megaterium* strain TKW3 hasil isolasi dari sedimen air laut yang terkontaminasi logam berat mampu mereduksi logam

berat khrom (Cr) dan resisten terhadap logam Cr, Se dan As secara *in vitro*.

*Bacillus* secara alami terdapat dimana-mana, dan termasuk spesies yang hidup bebas atau bersifat patogen. Beberapa spesies *Bacillus* menghasilkan enzim ekstraseluler seperti protease, lipase, amilase, dan selulase yang bisa membantu pencernaan dalam tubuh hewan (Wongsa dan Werukhamkul, 2007). Jenis *Bacillus* (*B. cereus*, *B. clausii* dan *B. pumilus*) termasuk dalam lima produk probiotik komersil terdiri dari spora bakteri yang telah dikarakterisasi dan berpotensi untuk kolonisasi, immunostimulasi, dan aktivitas antimikrobanya (Duc et al., 2004).

*Bacillus* sp merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang, dapat tumbuh pada kondisi aerob dan anaerob. Sporanya tahan terhadap panas (suhu tinggi), mampu mendegradasi Xylandan karbohidrat (Cowan dan Stell's, 1973). *Bacillus* spp mempunyai sifat:

1. Mampu tumbuh pada suhu lebih dari 50° C dan suhu kurang dari 5° C
2. Mampu bertahan terhadap pasteurisasi
3. Mampu tumbuh pada konsentrasi garam tinggi (>10%)
4. Mampu menghasilkan spora
5. Mempunyai daya proteolitik yang tinggi dibandingkan mikroba lainnya.

*Bacillus* merupakan bakteri yang bersifat aerob obligat atau fakultatif, dan positif terhadap uji enzim katalase. Beberapa penelitian telah berhasil mengisolasi dan memurnikan bakteriosin *Bacillus*. Gram positif diantaranya yaitu subtilin yang dihasilkan oleh *Bacillus subtilis*, megacin yang dihasilkan oleh *B. megaterium*, coaguln dihasilkan oleh *B. coagulans*, cerein dihasilkan

oleh *B. cereus*, dan toshicin yang dihasilkan oleh *B. thuringiensis*.

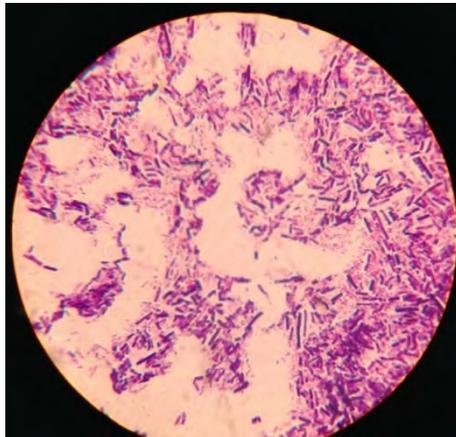
Bakteri gram positif merupakan bakteri yang mempertahankan zat warna metil ungu sewaktu proses pewarnaan gram. Bakteri jenis ini akan berwarna ungu dibawah mikroskop. Bakteri gram positif memiliki selapis dinding sel peptidoglikan yang tebal. Setelah proses pewarnaan kristal violet, pori-pori dinding sel menyempit yang mengakibatkan dekolorisasi oleh alkohol, sehingga dinding tetap menahan warna ungu. Sel bakteri positif memungkinkan akan tampak berwarna merah jika waktu dekolorisasi terlalu lama. Ciri-ciri bakteri gram positif yaitu :

1. Struktur dinding selnya tebal, sekitar 15-80 nm, berlapis tunggal atau monolayer
2. Dinding selnya mengandung lipid yang lebih normal (1-4%), peptidoglikan ada yang sebagai lapisan tunggal. Komponen utama merupakan lebih dari 50% berat ringan. Mengandung asam tekoat.
3. Bersifat lebih rentan terhadap pensilin.
4. Pertumbuhan dihambat secara nyata oleh zat-zat warna seperti ungu kristal.
5. Komposisi nutrisi yang dibutuhkan lebih rumit.
6. Lebih resisten terhadap gangguan fisik.
7. Resistensi terhadap alkali (1% KOH) larut.
8. Tidak peka terhadap streptomisin.
9. Toksin yang dibentuk Ekotoksin Endotoksin.

Bakteri *Bacillus subtilis* dapat dilihat pada Gambar 2.1 dan bakteri *Bacillus megaterium* dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.1 Bakteri *Bacillus subtilis*  
Sumber: Laboratorium Jurusan Teknik Lingkungan,  
FTSP ITS



Gambar 2.2 Bakteri *Bacillus megaterium*  
Sumber: Laboratorium Jurusan Teknik Lingkungan,  
FTSP ITS

Klasifikasi bakteri yang sampai saat ini dipakai adalah Bergeys's Manual of Determinative Bacteriology. Tatanamannya diatur berdasarkan "International Code of Nomenclature of Bacteria dan Viruses", yang ditetapkan tahun 1947 oleh International Commitee on Bacteriological Nomenclature (Hatmanti, 2000). Berdasarkan aturan tersebut maka menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8 th editions dalam Hadioetomo (1985) dalam Hatmanti (2000) klasifikasi *Bacillus sp.* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Procaryotae</i>
Divisi	: <i>Bacteria</i>
Kelas	: <i>Schizomycetes</i>
Bangsa	: <i>Eubacteriales</i>
Suku	: <i>Bacillaceae</i>
Marga	: <i>Bacillus sp.</i>
Jenis	: <i>Bacillus sp.</i>

### **2.3 Logam Berat Kromium (Cr)**

Logam berat adalah unsur logam dengan berat molekul tinggi, berat jenisnya lebih dari  $5 \text{ g/cm}^3$  (Connel dan Miller, 2006). Logam berat dalam kadar rendah umumnya sudah beracun bagi tumbuhan, hewan dan manusia. Bahan pencemar terutama dari logam-logam berat yang banyak sekali mencemari air antara lain merkuri (Hg), timbal (Pb), arsenik (As), kadmium (Cd), nikel (Ni), dan kromium (Cr) (Kristanto, 2002). Diantara logam-logam berat tersebut yang memiliki toksisitas cukup tinggi dan perlu diminimalkan dalam perairan adalah kromium (Nitisapto *et al*, 1993).

Pencemaran logam berat yang tidak terkendali, memberi peluang terakumulasinya logam tersebut dalam lingkungan. Logam berat mempunyai sifat bioakumulasi dan biomagnifikasi terhadap semua makhluk hidup. Bioakumulasi adalah pemupukan pencemar yang secara

terus-menerus dalam organ tubuh, sedangkan biomagnifikasi adalah masuknya zat kimia dari lingkungan karena adanya rantai makanan dan pada akhirnya tingkat konsentrasi zat kimia di dalam organisme sangat tinggi serta lebih tinggi dari bioakumulasi yang sederhana (Savitri, 2010).

Logam berat dapat masuk ke dalam lingkungan hidup karena: (1) longgokan alami di dalam bumi tersingkap, sehingga berada di permukaan bumi; (2) pelapukan batuan yang mengandung logam berat yang melonggokkan logam berat secara residual di dalam saprolit dan selanjutnya berada di dalam air; (3) penggunaan bahan alami untuk pupuk atau pembenah air (*soil conditioner*), dan atau (4) pembuangan sisa dan limbah pabrik serta sampah.

Kandungan logam dalam sungai berasal dari berbagai sumber, seperti batuan dan air; serta dari aktivitas manusia termasuk pembuangan limbah cair baik yang telah diolah maupun belum diolah ke badan air kemudian secara langsung dapat memapari air permukaan (Akoto *et al.*, 2008). Logam berat memasuki air alami dan menjadi bagian dari sistem suspensi air dan sedimen melalui proses absorpsi, presipitasi, dan pertukaran ion (Liu *et al.*, 2006). Logam dalam sistem perairan menjadi bagian dari sistem air-sedimen dan distribusinya dikendalikan oleh kesetimbangan dinamik dan interaksi fisika-kimia, yang umumnya dipengaruhi oleh parameter pH, konsentrasi dan tipe senyawa, kondisi reduksi-oksidasi, dan bilangan oksidasi dari logam tersebut (Singh *et al.*, 2005).

Kromium (Cr) merupakan logam tahan korosi (tahan karat) dan dapat dipoles menjadi mengkilat sehingga kromium banyak digunakan sebagai pelapis elektrolit dan inhibitor korosi dalam campuran baja (*alloy*). Logam kromium murni tidak pernah ditemukan di

alam, umumnya berada dalam bentuk persenyawaan padat atau mineral dengan unsur lain. Senyawa kromium dalam bentuk kromat dan dikromat sangat banyak digunakan oleh industri tekstil, fotografi, pembuatan tinta dan industri zat warna.

Senyawa kromium masing-masing mempunyai peranan yang berbeda di lingkungan dan efek yang berbeda pula terhadap kesehatan manusia sesuai bilangan oksidasinya. Krom (III) merupakan senyawa logam berat yang paling berbahaya, misalnya *Chromium Chloride hexahydrate* ( $\text{CrCl}_3$ ). Logam Berat *Chromium Chloride hexahydrate* ( $\text{CrCl}_3$ ) dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Logam Berat *Chromium Chloride hexahydrate* ( $\text{CrCl}_3$ )

Sumber : [http://www.alibaba.com/product-detail/Chromium-Chloride-hexahydrate\\_113436969/showimage.html](http://www.alibaba.com/product-detail/Chromium-Chloride-hexahydrate_113436969/showimage.html)

Faktor utama terjadinya toksisitas dari krom adalah sifatnya sebagai oksidator kuat dan daya larutnya. Krom (VI) mudah menembus membran sel dan akan terjadi reduksi didalamnya. Organ utama yang terserang krom adalah paru-paru. Organ lain yang bisa terserang adalah ginjal, kulit, dan sistem imunitas. Senyawa ini juga

korosif sehingga dapat mengakibatkan kerusakan mata atau kebutaan yang parah. Krom (III) memiliki sifat racun yang rendah dibandingkan dengan krom (VI) dan dapat bersifat racun apabila konsentrasinya sangat tinggi.

Penelitian dari Nitisapto *et al.* (1993) di Yogyakarta, menunjukkan bahwa kadar kromium pada perairan yang dilewati oleh limbah cair pabrik penyamakan kulit meningkat dari semula 0,96mg/100g air (sebelum dilewati limbah) menjadi 70,65mg/100g air sesudah dilewati limbah pabrik penyamakan kulit. Berdasarkan hal tersebut maka diperlukan monitoring untuk mengetahui adanya kromium dalam air-air yang dilewati oleh limbah. Metode penentuan kandungan kromium yang sudah banyak dilakukan adalah dengan menggunakan spektrofotometer ultra violet visible (UV-Vis) dan dengan metode AAS (*Atomic Absorption Spectroscopy*). Analisis dengan spektrofotometer UV ini relatif selektif dan sensitif akan tetapi memerlukan waktu analisis yang lama dan membutuhkan banyak reagen (Indang *et al.*, 2009), memiliki batas deteksi sekitar 0,01 mg/L. Sedangkan metode AAS yang memiliki batas deteksi 0,05–1 mg/L. Batas deteksi ini cukup besar untuk kromium yang memiliki batas maksimum yang diperbolehkan menurut Kepmen LH No. 51 / 2004 yakni 0,005 ppm selain itu alat yang digunakan tidak portabel. Oleh karena itu digunakan alternatif lain dengan menggunakan metode elektrokimia.

#### **2.4 Pencemaran Logam Berat Pada Air**

Kromium merupakan mikronutrien bagi makhluk hidup, tetapi bersifat toksik dalam dosis tinggi dan merupakan salah satu logam berat berbahaya bagi makhluk hidup. Konsentrasi maksimal kromium yang ditetapkan sebagai standar oleh Departemen Kesehatan R.I. adalah sebesar 0,05 mg/l. Angka ini sesuai dengan

angka standar yang ditetapkan baik oleh *US Public Health Service*, maupun WHO (*World Health Organization*) European dan Internasional (Sutrisno, 2004)

Kandungan logam berat di dalam air yang didapat secara alamiah dapat dilihat pada Tabel 2.1. Pencemaran logam berat kromium di dalam air terjadi akibat dimasukkan atau masuknya kromium dari kegiatan manusia. Pencemaran yang terjadi di air akan berpengaruh terhadap lingkungannya.

Tabel 2.1 Kandungan Logam Berat dalam Air Secara Alamiah ( $\mu\text{g/g}$ )

Logam	Kandungan (Rata-Rata)	Kisaran non populasi
As	100	5 – 3000
Co	8	1 – 40
Cu	20	2 – 300
Pb	10	2 – 200
Zn	50	10 – 300
Cd	0,06	0,05 – 0,7
Hg	0,03	0,01 – 0,3

Sumber : Peterson (1979) & Darmono (1995) dalam Charlena (2004)

Batas kritis kandungan logam berat di dalam tanah, air dan tumbuhan dapat dilihat pada Tabel 2.2. Logam berat memasuki air menjadi logam berat beracun bagi makhluk hidup (Charlena, 2004). Logam berat masuk ke dalam air melalui penimbunan debu, intrusi air laut, hujan atau pengendapan, pengikisan air, udara dan juga limbah buangan (sampah). Interaksi logam berat dan air dipengaruhi oleh tiga hal, yaitu proses sorpsi atau desorpsi, difusi pencucian dan degradasi.

Tabel 2.2 Batas Kritis Logam Berat Dalam Air, Tanah, dan Tumbuhan

Logam Berat	Tanah (ppm)	Air (ppm)	Tumbuhan (ppm)
Pb	100	0,03	50
Cd	0,5	0,05-0,1	5-30
Co	10	0,4-0,6	15-30
Cr	2,5	0,5-1,0	5-30
Ni	50	0,2-0,5	5-30
Cu	60-125	2-3	20-100
Mn	1500	-	-
Zn	70	5-10	100-400

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

## 2.5 Penelitian Terdahulu

Penelitian Lewaru *et al.* (2012) menunjukkan bahwa bakteri yang mempunyai tingkat resistensi, tingkat reduksi tertinggi ditunjukkan melalui nilai OD (*Optical Density*), yaitu bakteri *Bacillus thuringiensis* yang dapat menurunkan logam berat Cr sebanyak 56,77 %. Menurut Budihartono, (2009) bakteri *Bacillus subtilis* dapat menurunkan logam berat kromium sampai dengan 31,89 ppm pada media *Nutrient Broth* (NB). Badjoeri (2008) mengemukakan bahwa tinggi biosorpsi (> 98%) yang ditunjukkan bakteri *Baccilus megaterium* berpotensi menjadi agen bioremoval. Menurut penelitian Zulaika *et al.* (2012) berbagai spesies *Bacillus* resisten terhadap logam berat pada konsentrasi 25mg/L.

*Halaman ini sengaja dikosongkan*

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

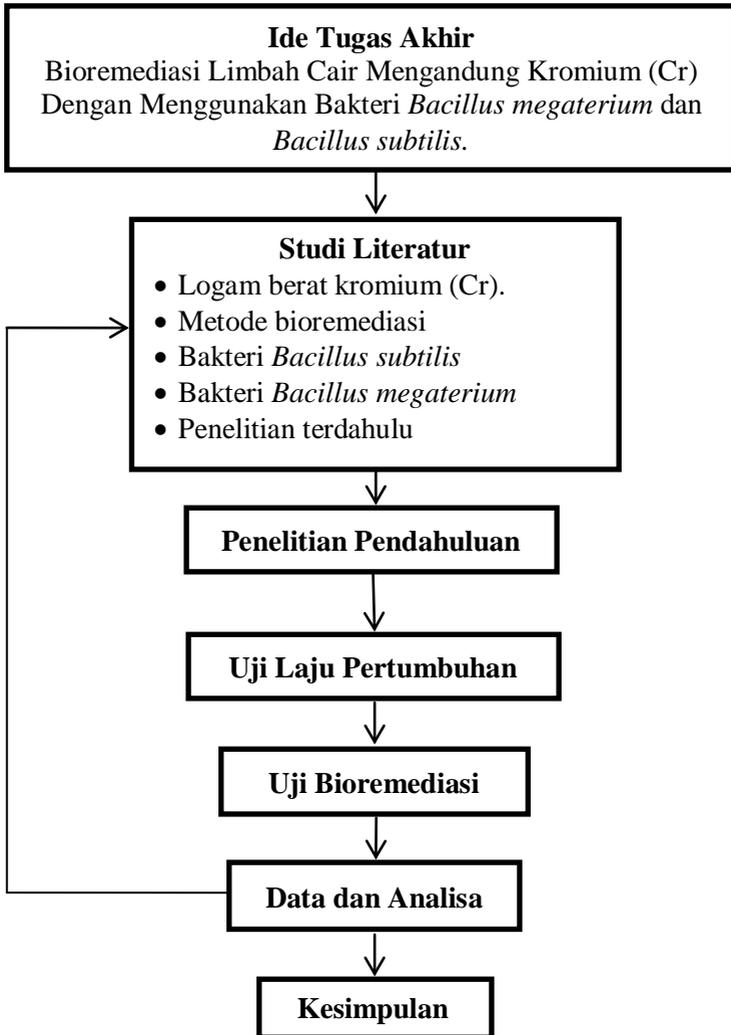
#### **3.1 Kerangka Penelitian**

Metode penelitian ini digunakan sebagai acuan dalam melakukan penelitian. Penelitian ini mengenai kemampuan spesies bakteri *Bacillus* dalam menurunkan kandungan logam berat Cr. Penelitian ini dilakukan dalam skala laboratorium di Laboratorium Teknik Lingkungan – ITS Surabaya. Bakteri yang digunakan adalah bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis*. Parameter utama yang dianalisis yaitu logam berat kromium (Cr), sedangkan parameter tambahan berupa suhu, pH, OD (*Optical Density*) dan jumlah bakteri. Uji konsentrasi kromium dianalisis dengan menggunakan metode AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometry*). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi logam berat kromium (Cr) dengan media *Nutrient Broth* antara penambahan salinitas dan non-salinitas, serta variasi jenis spesies bakteri *Bacillus*.

Metoda penelitian disusun dalam bentuk kerangka penelitian yaitu alur atau prosedur dalam penelitian yang akan dilakukan. Kerangka penelitian ini berfungsi sebagai berikut :

1. Sebagai gambaran awal tahapan penelitian sehingga memudahkan dalam penelitian dan penulisan laporan.
2. Memudahkan pembaca dalam memahami mengenai penelitian yang akan dilakukan.
3. Dapat mengetahui hal-hal yang berkaitan dengan penelitian agar tujuan penelitian tercapai.
4. Sebagai pedoman awal dalam pelaksanaan penelitian, sehingga kesalahan penelitian yang terjadi dapat dihindari.

Berdasarkan ide yang telah didapatkan, kerangka penelitian yang akan dilaksanakan tersusun dalam Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Kerangka Metode Penelitian

## **3.2 Langkah Penelitian**

Langkah penelitian ini menjelaskan mengenai tahapan atau urutan kerja yang akan dilakukan dalam penelitian ini. Dalam langkah penelitian ini juga dijelaskan secara lebih rinci mengenai tahapan yang disusun dalam kerangka penelitian. Tujuan dari pembuatan tahapan penelitian ini adalah untuk memudahkan pemahaman melalui deskripsi tiap tahapan. Berikut merupakan langkah atau tahapan yang dilakukan dalam penelitian yaitu :

### **3.2.1 Ide Penelitian**

Penelitian ini timbul karena banyaknya air limbah yang dapat menyebabkan pencemaran. Salah satunya termasuk logam berat kromium (Cr) yang berpotensi mempengaruhi kondisi perairan. Berdasarkan masalah tersebut, dilakukan penelitian bioremediasi dalam mereduksi logam berat kromium (Cr) yang terkandung pada air limbah untuk mengembalikan kualitas air. Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan mikroorganisme ini mampu mendegradasi kandungan logam berat. Oleh karena itu, dilakukan penelitian ini untuk mengetahui seberapa besar pengaruh yang ditimbulkan pada sistem bioremediasi dalam menurunkan kandungan logam berat kromium (Cr).

### **3.2.2 Studi Literatur**

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

diteliti. Literatur juga harus mendapat *feedback* dari analisa data dan pembahasan untuk menyesuaikan hasil analisa dengan literatur yang ada. Sumber literatur yang digunakan adalah jurnal internasional dan jurnal Indonesia, peraturan, *text book*, makalah seminar serta tugas akhir yang berhubungan dengan penelitian ini.

### 3.2.3 Persiapan Penelitian

Pada tahap penelitian ini bertujuan mengetahui persiapan alat dan bahan sebelum melakukan uji laju pertumbuhan dan uji bioremediasi. Proses ini dilakukan dengan cara sebagai berikut :

- **Sterilisasi Alat dan Bahan**  
Alat yang digunakan seperti erlenmeyer, cawan petri, gelas ukur dan bahan seperti media *Nutrient Agar* (NA) (Merck, Jerman) harus disterilkan dahulu supaya alat dan bahan tersebut terbebas dari kontaminan yang berada di udara bebas, sehingga dalam kondisi aseptik. Alat dan bahan dibungkus dahulu dengan kertas coklat dan ditutup dengan kapas lemak lalu direkatkan dengan karet. Setelah itu alat dan bahan dimasukkan kedalam autoklaf (Hirayama, Jepang) selama  $\pm 60$  menit dengan suhu  $121^{\circ}\text{C}$ .
- **Inokulasi Bakteri**  
Pada proses ini inokulasi dilakukan untuk menumbuhkan atau mengembangbiakan bakteri pada umur 24 jam. Hal yang dilakukan pertama kali adalah membuat larutan media *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 1 L. Bubuk NA diambil sebanyak 20 gr dilarutkan dengan memanaskan menggunakan kompor *plate* (Maspion, Indonesia) selama  $\pm 15$  menit kedalam 1 L aquades. Setelah larut, didinginkan dahulu hingga suhu udara, lalu media dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 5 ml (media agar miring) dan 15 ml untuk cawan petri

untuk setiap bakterinya. Bungkus cawan petri dengan kertas coklat, rekatkan dengan karet . Tutup tabung reaksi dengan kapas lemak dan bungkus dengan kertas coklat, rekatkan dengan karet. Masukkan kedua alat tersebut kedalam autoklaf dengan suhu  $121^{\circ}$  C. Setelah selesai proses pada autoklaf untuk media agar miring ditidurkan dengan sanggahan agar tidak tumpah dan untuk media NA volume 15 ml dimasukkan ke cawan petri, lalu tunggu didinginkan hingga suhu kamar dan media menjadi padat. Bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* siap diinokulasi didalam *incubator* dengan suhu  $37^{\circ}$  C selama 24 jam.

- Media Pertumbuhan *Nutrient Broth* (NB)

Bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* menggunakan media ini untuk proses pertumbuhannya. Hal yang dilakukan pertama kali adalah membuat larutan media *Nutrient Broth* (NB) (Merck, Jerman) sebanyak 1 L. Bubuk NB diambil sebanyak 8 gr dilarutkan dengan memanaskan pada kompor *plate* selama  $\pm$  15 menit dalam 1 L aquades. Larutan NB disesuaikan dengan kebutuhan, tiap Erlenmeyer 250 ml diisi larutan sebanyak 100 ml. Penelitian ini membutuhkan 3 erlenmeyer (uji laju pertumbuhan). Setelah siap, erlenmeyer ditutup dengan kapas lemak dan bungkus dengan kertas coklat, rekatkan dengan karet. Lalu disterilkan kedalam autoklaf dengan suhu  $121^{\circ}$  C selama  $\pm$  60 menit.

- Limbah Cair Buatan Kromium (Cr)

Pada penelitian ini menggunakan limbah buatan dengan bahan *Chromium chloride hexahydrate* ( $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) dengan perbedaan konsentrasi 50 mg/L, 75 mg/L dan 100 mg/L. Bahan kromium

berupa bubuk yang akan dilarutkan dengan 1 L aquades.

- Larutan Salinitas (NaCl)  
Pembuatan salinitas pada penelitian ini menggunakan bubuk NaCl (Merck, Jerman) sebanyak 8,5 gr yang dilarutkan dengan aquades 1 L diaduk hingga larut sepenuhnya. Larutan salin akan dicampur dengan larutan kromium yang digunakan untuk perlakuan pada tahap uji bioremediasi.

### 3.2.4 Uji Laju Pertumbuhan

Pada tahap ini bertujuan mengetahui pertumbuhan bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* (diperoleh dari Lab. Biologi FMIPA Universitas Airlangga). Proses ini berlangsung 24 jam, dianalisis parameter pH, suhu dan OD. Proses ini dilakukan dengan cara sebagai berikut :

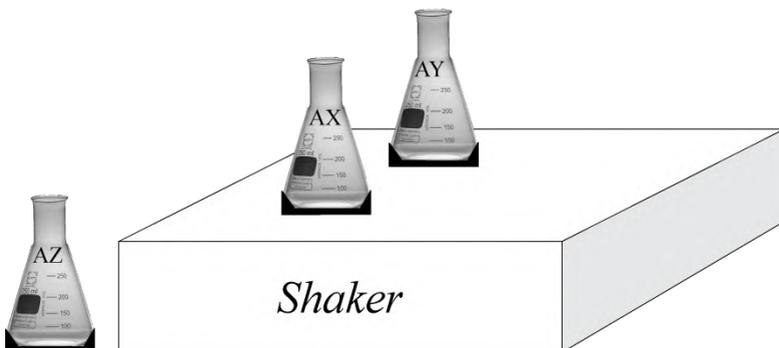
- Pembuatan media pertumbuhan *Nutrient Broth* (NB)  
Membuat media NB sebanyak 1 L, dan dituang ke dalam erlenmyer 250 ml sebanyak 100 ml, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 60 menit.
- Pemiakan bakteri dalam media *Nutrient Broth* (NB)  
Inokulum *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* dimasukkan dalam erlenmeyer berisi media NB kemudian dikocok pada *shaker* 100 rpm pada suhu kamar selama 24 jam.
- Pengamatan pertumbuhan bakteri  
1 jarum ose bakteri dimasukkan dalam 100 ml media *Nutrient Broth*, diinkubasi pada suhu kamar, dikocok pada *shaker* (Innova 2050, New Jersey) 100 rpm. Pengamatan dilakukan terhadap pertumbuhan *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* setiap 2 jam selama 24 jam. Diambil volume 3 ml larutan NB + bakteri untuk diamati *Optical Density* (OD) menggunakan *Spectrophotometer* (Thermo Fisher

Scientific, USA) transmitansinya pada panjang gelombang 600 nm. Kemudian kurva pertumbuhan bakteri dibuat dengan antara mengplotkan absorbansi yang didapat pada sumbu Y dan waktu inkubasi pada sumbu X.

Variabel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini dituliskan pada Tabel 3.1 dan Gambar 3.2 merupakan rancangan penelitian uji laju pertumbuhan.

Tabel 3.1 Variabel Penelitian Uji Laju Pertumbuhan

Jenis Bakteri \ Media NB	Media <i>Nutrient Broth</i> (NB) (A)
<i>Bacillus subtilis</i> (X)	AX
<i>Bacillus megaterium</i> (Y)	AY
Kontrol (Z)	AZ



Gambar 3.2 Rancangan Penelitian Uji Laju Pertumbuhan

Berdasarkan Gambar 3.2 tersebut, dapat ditentukan bahwa jumlah erlenmeyer yang digunakan dalam penelitian ini adalah 3 buah.

### 3.2.5 Uji Bioremediasi

Pada tahap ini pengamatan dilakukan dengan menyesuaikan hasil yang didapatkan pada uji pertumbuhan bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis*. Analisis pH, suhu dan OD dilakukan setiap 3 jam. Proses ini dilakukan dengan cara sebagai berikut:

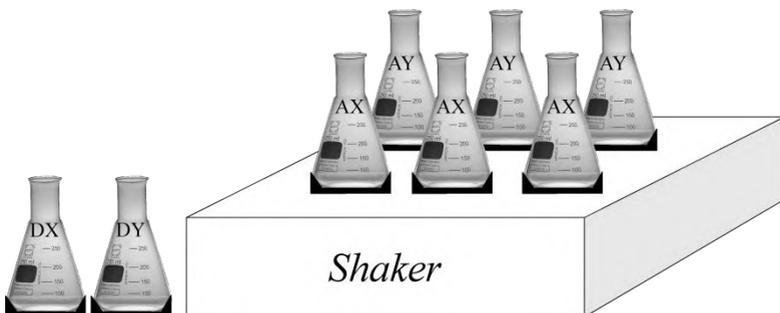
- Pengamatan bakteri dalam mereduksi logam kromium. Dibuat penelitian pendahuluan larutan standar logam Cr dengan konsentrasi 10 mg/L, 50 mg/L 100 mg/L. Sehingga didapatkan larutan Cr uji dengan konsentrasi 50 mg/L, 75 mg/L dan 100 mg/L. Selanjutnya masing-masing larutan Cr uji dimasukkan kedalam erlenmeyer dengan volume total 135 ml.
- Larutan bakteri, kromium dan salin dengan volume total sebanyak 150 ml pada erlenmeyer 250 ml. Rincian larutan adalah 135 ml larutan kromium dan salin, lalu sisanya 10% dari larutan adalah 15 ml bakteri yang sudah diencerkan dengan larutan salin dan disamakan OD sebesar  $\pm 0,5$ .
- Diinkubasikan pada suhu kamar, *shaker* 100 rpm selama 12 jam. Sel dikembangbiakan pada saat pertumbuhan optimal (fase stationer) selama 6 jam.
- Setelah uji bioremediasi, larutan diambil sebanyak 100 ml untuk di *centrifuge*, dengan rincian 50 ml untuk dianalisis AAS dan 50 ml berat kering. Disaring dengan *vacuum pump* dengan kertas saring *Cellulose* yang telah diketahui beratnya. Sel dan kertas saring kemudian dikeringkan pada suhu 60–70° C hingga diperoleh berat kering. Larutan sisa sebanyak 50 ml untuk analisis pH, suhu, OD dan jumlah koloni bakteri.

- Analisis jumlah koloni bakteri dilakukan pengenceran sebesar  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  dan  $10^{-9}$  menggunakan larutan salin. Setelah itu diambil sekitar 3 tetes yang ditetaskan pada cawan petri berisikan media NA sebanyak 15ml.
- Diamati serapannya dengan metode AAS dengan panjang gelombang 324,7 nm (Badjoeri, 2008) dan dihitung persamaan garis regresinya.

Variabel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini dituliskan pada Tabel 3.2 dan Gambar 3.3 merupakan rancangan penelitian uji bioremediasi.

Tabel 3.2 Variabel Penelitian Uji Bioremediasi

Perbandingan Konsentrasi Kromium Jenis Bakteri	Perbandingan			
	50 mg/L (A)	75 mg/L (B)	100 mg/L (C)	Kontrol (D)
<i>Bacillus subtilis</i> (X)	AX	BX	CX	DX
<i>Bacillus megaterium</i> (Y)	AY	BY	CY	DY



Gambar 3.3 Rancangan Penelitian Uji Bioremediasi

Berdasarkan Tabel 3.1 tersebut, dapat ditentukan bahwa jumlah erlenmeyer adalah 8 buah. Pada pengamatan ini dilakukan penambahan penggunaan salinitas dan non-salinitas pada media.

### 3.2.6 Data dan Analisa

Data dan analisa ini menggunakan sampel yang diambil kemudian dianalisa dengan beberapa parameter. Dalam metode analisis ini dilakukan analisis sebagai berikut :

- Analisis konsentrasi logam berat  
Analisis ini untuk mengetahui konsentrasi kromium (Cr) di dalam air dan dengan menggunakan metode AAS karena mampu secara spesifik menganalisis logam analit baik tunggal maupun dalam campuran, selektif dan sensitif untuk kadar logam renik, serta relatif murah. Dilakukan di Laboratorium Teknik Lingkungan-ITS Surabaya dan Laboratorium Pusat Studi Pemukiman, Prasarana, dan Lingkungan Hidup LMG/L-ITS Surabaya.
- Analisis bakteri  
Analisis ini untuk mengetahui jumlah sel bakteri yang ada pada media dengan metode TPC (*Total Plate Count*) menggunakan alat bakteri *Colony Counter*, lalu disimpan dalam inkubator. Pengamatan dilakukan terhadap pertumbuhan bakteri selama 24 jam.
- Analisis pH  
Analisis ini untuk mengetahui pH dalam air dengan menggunakan pH meter, dengan cara menancapkan ujung pH meter ke dalam air, kemudian menekan tombol indikator sampai ditemukan nomor digital dan stabil sehingga didapatkan nilai pH.
- Analisis suhu  
Analisis ini untuk mengetahui suhu dengan menggunakan termometer dengan cara menancapkan termometer dalam media.

- Analisis OD (*Optical Density*)  
Analisis ini untuk mengetahui nilai kerapatan *optic* sel-selnya dengan panjang gelombang ( $\lambda$ ) 600 nm menggunakan spektrofometer. Menurut APHA (1998) dalam Setya dan Putra (2011), pada dasarnya 600 nm digunakan karena sel-sel menyerap pada gelombang ini.
- Parameter Penelitian  
Biroremediasi ini memerlukan beberapa parameter-parameter yang dianalisa pada media, antara lain seperti total logam berat kromium (Cr) di awal, tengah dan akhir penelitian; suhu, pH, OD (*Optical Density*) dianalisis 3 jam; jumlah koloni bakteri dan berat kering bakteri di awal dan akhir penelitian. Pengukuran parameter didapat dalam alat dan bahan serta menggunakan alat-alat yang tersedia.

### 3.2.7 Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan disusun berdasarkan hasil analisis data penelitian serta pembahasan. Kesimpulan, merupakan bagian yang menjawab rumusan masalah dan sebanding dengan tujuan penelitian. Kesimpulan merupakan point-point yang dapat dibuat secara simpel dan ringkas dari pembahasan yang telah dibuat.

Saran juga diperlukan untuk menyempurnakan penelitian yang dilakukan saat ini. Penelitian dilakukan dengan membuat rekomendasi apabila dilakukan penelitian yang sejenis dengan penelitian saat ini. Pada umumnya, kesimpulan yang dibuat bersifat sementara.

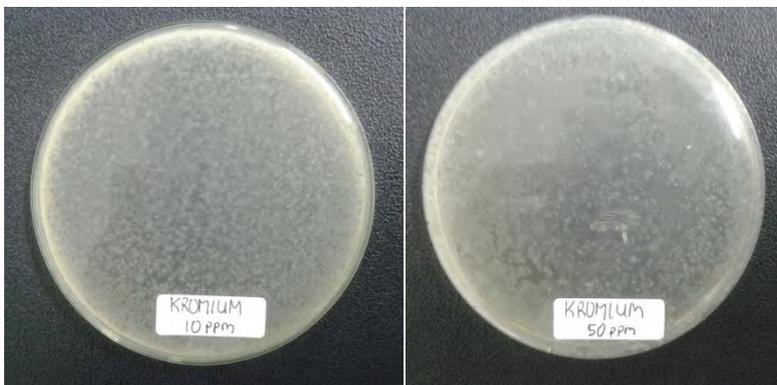
*Halaman ini sengaja dikosongkan*

## BAB 4 ANALISIS DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Penelitian Pendahuluan

Tahap ini bertujuan mengetahui konsentrasi variasi larutan kromium dan larutan salin yang akan digunakan pada tahap uji bioremediasi. Larutan kromium untuk penelitian dahulu adalah menggunakan *range* variasi konsentrasi 10, 50 dan 100 mg/L. Penelitian ini dilakukan dengan cara membuat larutan kromium dengan masing-masing konsentrasi sebanyak 100 mL di Erlenmeyer 250 mL, diambil 1 oose bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* dimasukkan ke Erlenmeyer yang berisi larutan kromium. *Dishaker* selama 15 menit agar homogen, diambil dan diratakan dengan *glass rodd* sebanyak 0,1 mL larutan untuk dibiakan pada media *Nutrient Agar* (NA) di cawan petri selama 24 jam didalam inkubator. Gambar 4.1 dan 4.2 menunjukkan hasil dari penelitian pendahuluan pada larutan kromium terhadap pertumbuhan bakteri.

Menurut hasil foto pada Gambar 4.1 menunjukkan hasil dari penelitian pendahuluan pada larutan kromium terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus megaterium* dengan konsentrasi 10, 50, 100 mg/L dapat terlihat ditumbuh bakteri pada media NA.



(1)

(2)



(3)

Gambar 4.1 Pertumbuhan Bakteri *Bacillus megaterium* Larutan Kromium (1) 10 mg/L, (2) 50 mg/L, dan (3) 100 mg/L

Menurut hasil foto pada Gambar 4.2 menunjukkan hasil dari penelitian pendahuluan pada larutan kromium terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dengan konsentrasi 10, 50, 100 mg/L terlihat dapat ditumbuh bakteri pada media NA.



(1)

(2)

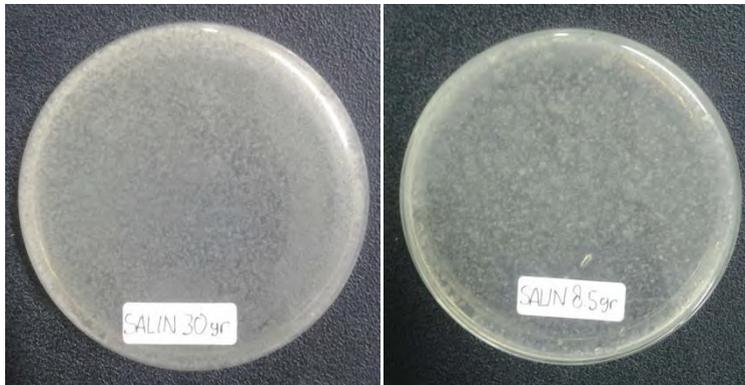


(3)

Gambar 4.2 Pertumbuhan Bakteri *Bacillus subtilis* Larutan Kromium (1) 10 mg/L, (2) 50 mg/L, dan (3) 100 mg/L

Sehingga didapatkan untuk larutan kromium (Cr) uji pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* menggunakan dengan variasi konsentrasi 50 mg/L, 75 mg/L dan 100 mg/L untuk proses uji bioremediasi.

Penelitian pendahuluan untuk larutan salin dilakukan dengan cara membuat larutan salin dengan variasi konsentrasi 30 g/L dan 8,5 g/L yang dilarutkan dengan aquades. Masing-masing konsentrasi diambil sebanyak 100 mL di Erlenmeyer 250 mL. Lalu diambil 1 ose bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* dimasukkan ke Erlenmeyer yang berisi larutan salin. Dishaker selama 15 menit agar homogen, diambil dan diratakan dengan *glass rodd* sebanyak 0,1 mL larutan untuk dibiakan pada media *Nutrient Agar* (NA) di cawan petri selama 24 jam didalam inkubator. Berikut hasil dari penelitian pendahuluan pada larutan salin 30 g/L dan 8,5 g/L bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* dapat dilihat pada Gambar 4.3 dan Gambar 4.4.



(1)

(2)

Gambar 4.3 Pertumbuhan Bakteri *Bacillus megaterium* Larutan Salin (1) 30 g/L dan (2) 8,5 g/L



(1)

(2)

Gambar 4.4 Pertumbuhan Bakteri *Bacillus subtilis* Larutan Salin (1) 30 g/L dan (2) 8,5 g/L

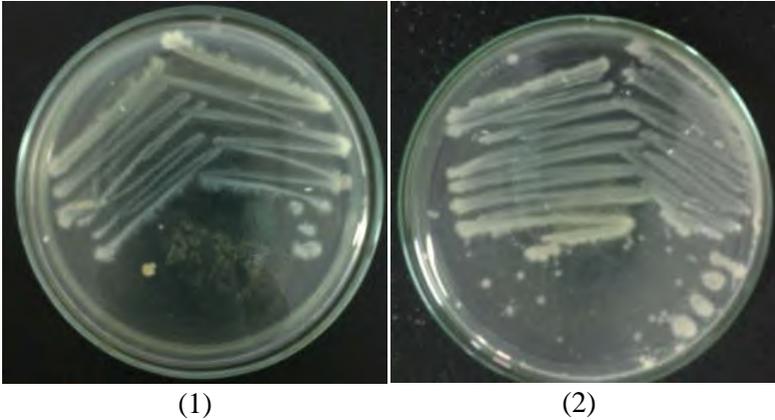
Sehingga didapatkan untuk larutan salin terlihat pada media NA tumbuh pada konsentrasi 30 g/L dan 8,5 g/L, namun untuk penelitian tahap uji bioremediasi menggunakan konsentrasi yang paling tinggi yaitu 8,5 g/L.

## 4.2 Inokulasi Bakteri

Pada proses ini inokulasi dilakukan untuk menumbuhkan atau mengembangbiakan bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada umur 24 jam dengan media *Nutrient Agar* (NA) yang nantinya disimpan didalam *incubator* dengan suhu 37° C. Inokulasi bakteri menggunakan agar miring dan pada cawan petri yang digunakan untuk uji bioremediasi. Bakteri pada media agar miring dapat digunakan selama sekitar 168 jam, namun pada media cawan petri hanya bias digunakan selama 24 jam. Gambar 4.5 menunjukkan hasil inokulasi bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada tabung reaksi dan Gambar 4.6 inokulasi bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada cawan petri.



Gambar 4.5 Inokulasi Bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* Pada Tabung Reaksi



Gambar 4.6 Inokulasi Bakteri (1) *Bacillus megaterium* dan (2) *Bacillus subtilis* Pada Cawan Petri

### 4.3 Uji Laju Pertumbuhan

Pada tahap penelitian ini dilakukan uji laju pertumbuhan untuk mengetahui pertumbuhan pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* dengan menggunakan media *Nutrient Broth* (NB) dengan volume 100 mL didalam erlenmeyer 250 mL. Pertumbuhan koloni bakteri dibandingkan dengan kontrol (media NB). Analisis dilakukan setiap 2 jam selama 24 jam dan diamati pH, suhu dan OD (*Optical Density*). Pertumbuhan bakteri dapat diketahui dari pengukuran turbiditas populasi bakteri pada kultur cair menggunakan spektrofometer UV pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 600 nm (Harley dan Prescott, 2002) dengan mengambil larutan NB+bakteri sebanyak 3 mL. Hasil pengamatan *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada tahap penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 4.1 dan Tabel 4.2.

Tabel 4.1 Hasil Pengamatan Bakteri *Bacillus megaterium*

Jam Ke-	OD (A)	pH	Suhu (°)
(0) 10.00	0,003	6,90	30,5
(2) 12.00	0,021	6,99	31,6
(4) 14.00	0,319	6,72	31,1

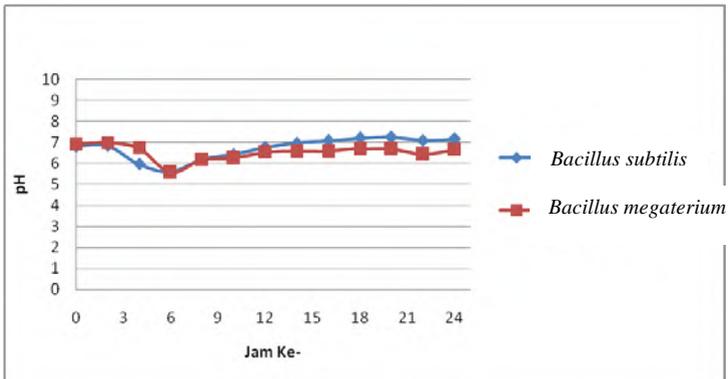
<b>Jam Ke-</b>	<b>OD (A)</b>	<b>pH</b>	<b>Suhu (°)</b>
(6) 16.00	0,721	5,58	30,9
(8) 18.00	0,985	6,18	30,2
(10) 20.00	1,158	6,26	30,4
(12) 22.00	1,270	6,53	30,9
(14) 24.00	1,247	6,58	30,2
(16) 02.00	1,158	6,58	30,0
(18) 04.00	1,033	6,70	29,9
(20) 06.00	0,930	6,69	29,8
(22) 08.00	0,821	6,45	29,0
(24) 10.00	0,910	6,65	30,0

Tabel 4.2 Hasil Pengamatan Bakteri *Bacillus subtilis*

<b>Jam Ke-</b>	<b>OD (A)</b>	<b>pH</b>	<b>Suhu (°)</b>
(0) 10.00	0,011	6,82	30,5
(2) 12.00	0,056	6,85	31,5
(4) 14.00	0,754	5,96	31,2
(6) 16.00	0,898	5,60	30,8
(8) 18.00	1,040	6,20	30,2
(10) 20.00	1,252	6,42	30,3
(12) 22.00	1,397	6,76	30,7
(14) 24.00	1,369	6,99	30,2
(16) 02.00	1,277	7,08	30,0
(18) 04.00	1,143	7,20	29,9
(20) 06.00	1,033	7,25	29,8
(22) 08.00	0,894	7,11	29,0
(24) 10.00	0,920	7,17	30,0

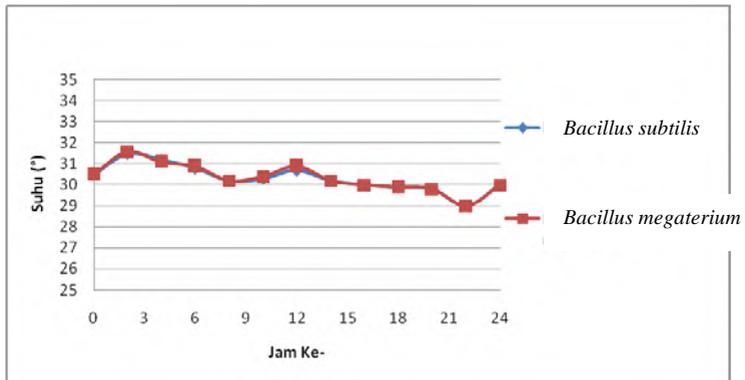
Berdasarkan data pada Tabel 4.1 dan Tabel 4.2 diatas, dapat diketahui laju pertumbuhan bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis*. Analisa nilai pH bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* yang terukur pada media NB yang memiliki kisaran nilai pH antara 6-7 pada jam ke 0-2 dan

jam ke 8 sampai jam ke-24, namun untuk jam ke-4 dan ke-6 mengalami penurunan pH pada kedua bakteri, hal ini disebabkan karena bakteri mengalami masuk kedalam fase eksponensial pada pertumbuhan bakteri tersebut. Akan tetapi hal ini tidak mempengaruhi yang signifikan untuk pertumbuhan bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis*. Terlihat pada pH tersebut kedua bakteri dapat bertumbuh dalam keadaan normal. Hasil grafik analisa pH bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* dapat dilihat grafik pada gambar 4.7.



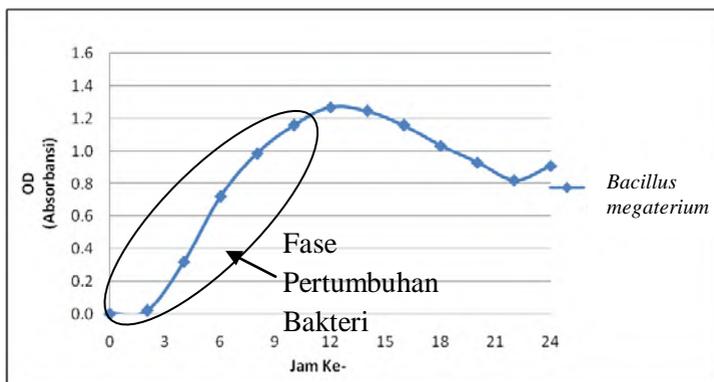
Gambar 4.7 Analisa pH Bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis*

Analisa suhu bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* yang terukur pada media *Nutrient Broth* (NB) berkisaran antara  $29^{\circ}\text{C}$  -  $31,6^{\circ}\text{C}$ . Suhu yang terukur masih dalam kondisi optimum untuk bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis*, sehingga pertumbuhan pada kedua bakteri dapat berlangsung secara optimal. Hasil grafik analisa suhu bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* dapat dilihat grafik pada Gambar 4.8.

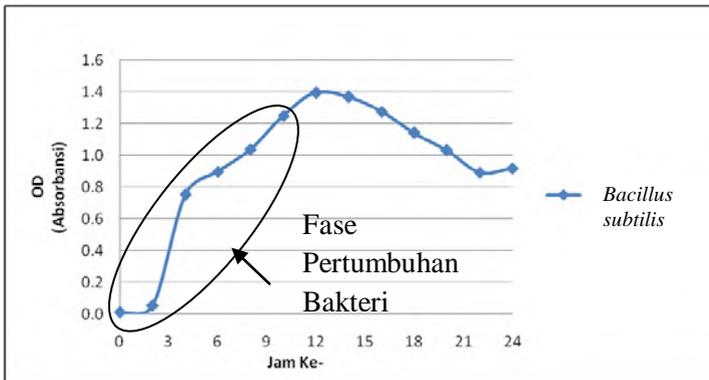


Gambar 4.8 Analisa Suhu Bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis*

Pada penelitian ini selain menganalisis pH dan suhu, didapatkan pula hasil analisis OD (*optical Density*) pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis*. Grafik untuk uji pertumbuhan bakteri *Bacillus megaterium* dapat dilihat pada grafik Gambar 4.9 dan bakteri *Bacillus subtilis* Gambar 4.10 berikut ini.



Gambar 4.9 Uji Pertumbuhan Bakteri *Bacillus megaterium*



Gambar 4.10 Uji Pertumbuhan Bakteri *Bacillus subtilis*

Melalui grafik Gambar 4.9 dan Gambar 4.10 dapat dilihat pertumbuhan pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* menunjukkan beberapa fase. Fase pertama adalah fase lag pada jam ke-0 hingga jam ke-2. Fase kedua adalah fase eksponensial pada jam ke-4 hingga jam ke-12. Fase ketiga adalah fase stasioner pada jam ke-12 hingga jam ke-14. Fase yang terakhir adalah fase kematian pada jam ke-14 hingga jam ke-24. Menurut grafik yang sudah didapat bahwa laju pertumbuhan pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* adalah selama 12 jam, maka dapat disimpulkan untuk penelitian uji bioremediasi menggunakan sampai jam ke-6 sampai jam ke-12 untuk dianalisis.

Pengamatan analisis pada tahap uji laju pertumbuhan ini dapat berkorelasi antara analisis pH, suhu dan OD untuk bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis*. Berdasarkan hasil pengamatan dapat dilihat data dari analisis pH masih tergolong pada ukuran normal (pH 7), analisis suhu masih dalam keadaan suhu ruangan (30° C), dan nilai OD yang menandakan bahwa bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* tumbuh dalam keadaan yang normal. Berdasarkan data yang sudah didapat, maka dapat digunakan untuk penelitian tahap selanjutnya yaitu uji bioremediasi.

#### 4.4 Uji Bioremediasi

Pada tahap penelitian ini dilakukan uji bioremediasi untuk mengetahui kemampuan pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* dalam mereduksi limbah cair yang mengandung kromium (Cr) dengan variasi konsentrasi yang berbeda yaitu 50, 75, 100 mg/L. Penelitian ini menggunakan campuran kromium + bakteri dengan perlakuan salinitas non-salinitas dengan volume total 150 mL didalam erlenmeyer 250 mL. Analisis dilakukan selama 12 jam, setiap 2 jam pada jam ke-0 sampai ke-6 dianalisis pH, suhu dan OD (*Optical Density*). Setelah itu analisis dilakukan setiap 3 jam (awal, tengah, akhir) pada jam ke-6, jam ke-9 dan jam ke-12.

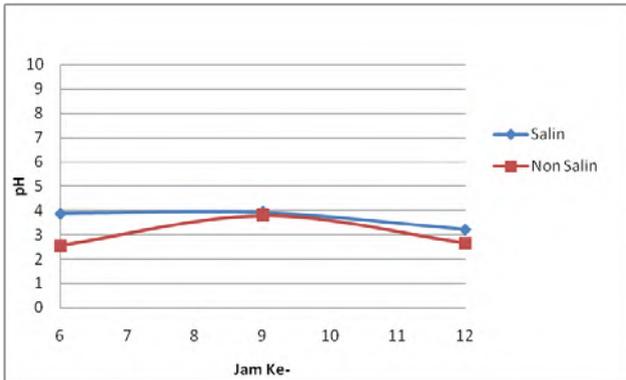
Pengamatan uji bioremediasi dilakukan dengan pengambilan sampel sebanyak volume 50 mL untuk dianalisis kandungan logam berat kromium (Cr) dan 100 mL untuk dianalisis pH, suhu dan OD, jumlah koloni dan berat kering bakteri. Data lengkap untuk uji bioremediasi ini dapat dilihat pada Lampiran B.

##### 4.4.1 Analisa pH

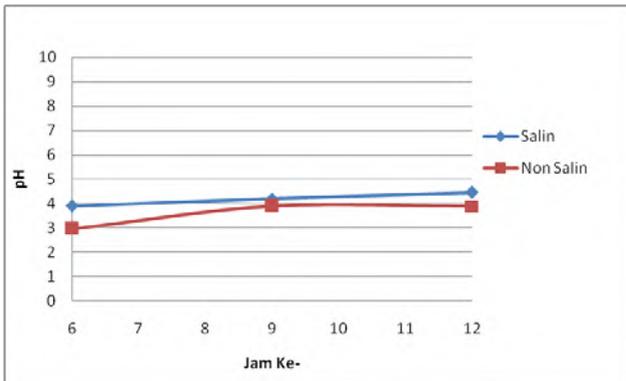
Menurut hasil analisa pH pada Gambar 4.11 dengan konsentrasi 50 mg/L, Gambar 4.12 dengan konsentrasi 75 mg/L, dan Gambar 4.13 dengan konsentrasi 100 mg/L pada jam ke-0 hingga ke-6 bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* terlihat pH tersebut normal. Namun pada jam ke-6 hingga ke-12 setelah diberi campuran larutan kromium dan larutan salin/non-salin terlihat pH menunjukkan bahwa larutan menjadi asam. Hal ini disebabkan bahan yang digunakan  $\text{CrCl}_3$  yang mempunyai tingkat oksidasi lebih tinggi bersifat asam.

Hal ini akan tetapi tidak mempengaruhi bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* untuk pertumbuhan bakteri. Terlihat pada pH tersebut kedua bakteri dapat bertumbuh dengan normal dengan perlakuan menggunakan larutan salin maupun menggunakan non-salin. Namun pengamatan untuk jam ke-0 hingga jam ke-6 pada pertumbuhan bakteri *Bacillus megaterium*

dan *Bacillus subtilis* sebelum pengamatan uji bioremediasi terukur pH masih dalam keadaan normal (6-7). Data lengkap untuk analisa pH ini dapat dilihat pada Lampiran B.



(1)

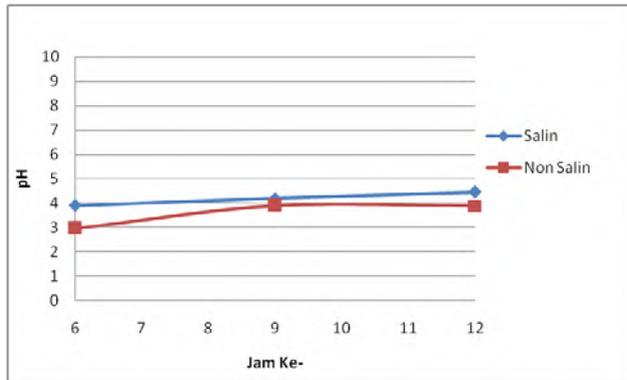


(2)

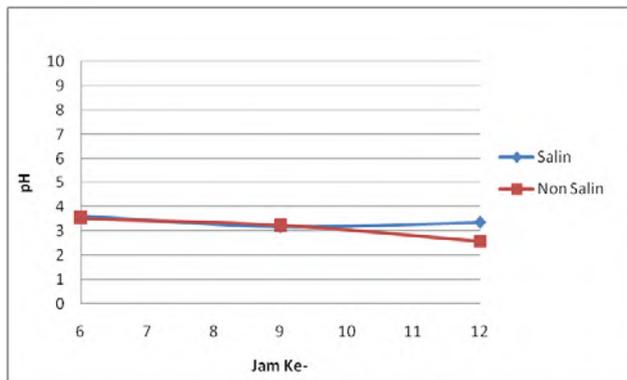
Gambar 4.11 Analisa pH Bakteri (1) *Bacillus megaterium* dan (2) *Bacillus subtilis* Konsentrasi 50 mg/L

Menurut grafik hasil analisa pH pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* perlakuan salin dan non-salin

pada Gambar 4.11 dengan konsentrasi 50 mg/L menunjukkan antara 2,5 hingga 4,5.



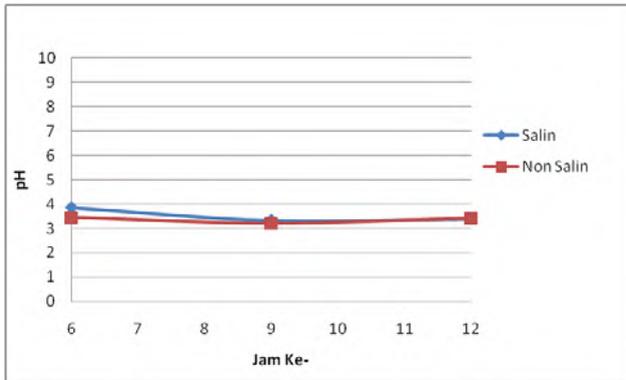
(1)



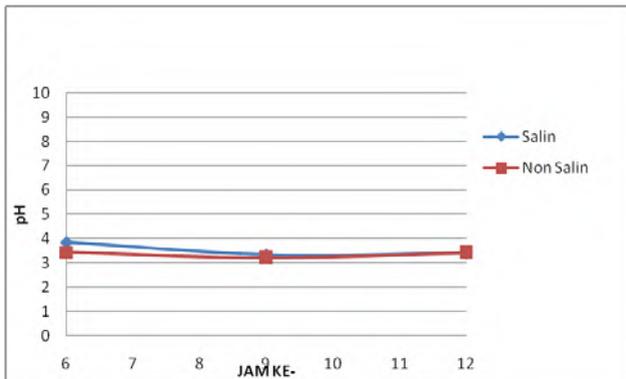
(2)

Gambar 4.12 Analisa pH Bakteri (1) *Bacillus megaterium* dan (2) *Bacillus subtilis* Konsentrasi 75 mg/L

Menurut grafik hasil analisa pH pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* perlakuan salin dan non-salin pada Gambar 4.12 dengan konsentrasi 75 mg/L menunjukkan antara 2,5 hingga 3,8.



(1)



(2)

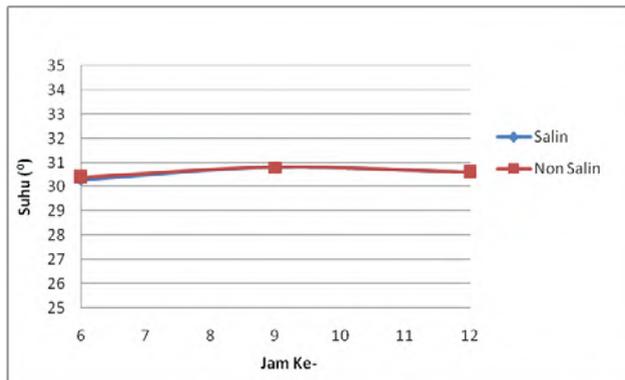
Gambar 4.13 Analisa pH Bakteri (1) *Bacillus megaterium* dan (2) *Bacillus subtilis* Konsentrasi 100 mg/L

Menurut grafik hasil analisa pH pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* perlakuan salin dan non-salin pada Gambar 4.13 dengan konsentrasi 100 mg/L menunjukkan antara 2,75 hingga 3,85.

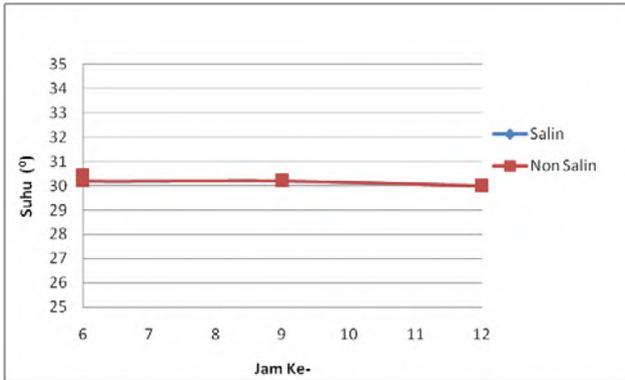
#### 4.4.2 Analisa Suhu

Pada hasil grafik analisa suhu bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada Gambar 4.14 dengan konsentrasi 50 mg/L, Gambar 4.15 dengan konsentrasi 75 mg/L, dan Gambar 4.16 dengan konsentrasi 100 mg/L dengan perlakuan salin dan non-salin pada penelitian ini, suhu yang terukur masih dalam kondisi optimum pada larutan uji berkisaran antara 30,0° C-30,9° C. Sehingga proses bioremediasi pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* dapat berlangsung secara optimal dan tidak mempengaruhi jalannya kinerja bakteri.

Pada pengamatan suhu diamati jam ke-6 sampai jam ke-12. Namun pengamatan suhu untuk jam ke-0 hingga jam ke-6 pada pertumbuhan bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* sebelum pengamatan uji bioremediasi terukur normal bersuhu kamar (30,0° C). Data lengkap untuk analisa suhu ini dapat dilihat pada Lampiran B.



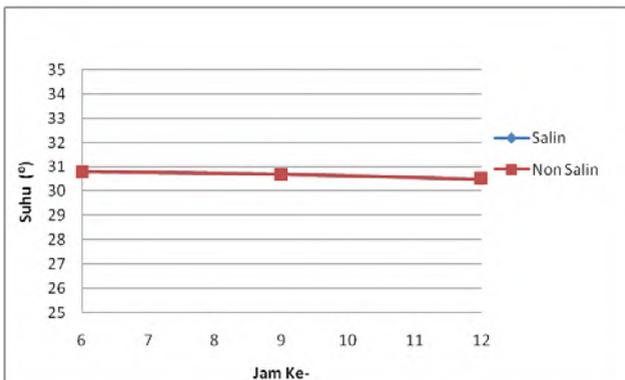
(1)



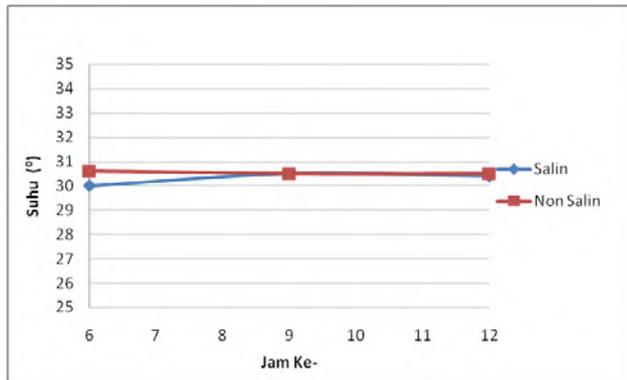
(2)

Gambar 4.14 Analisa Suhu Bakteri (1) *Bacillus megaterium* dan (2) *Bacillus subtilis* Konsentrasi 50 mg/L

Menurut grafik hasil analisa suhu pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada perlakuan salin dan non-salin Gambar 4.14 dengan konsentrasi 50 mg/L menunjukkan suhu normal yaitu 30° C. Sehingga proses bioremedasi pada kedua bakteri dapat berlangsung secara optimal.



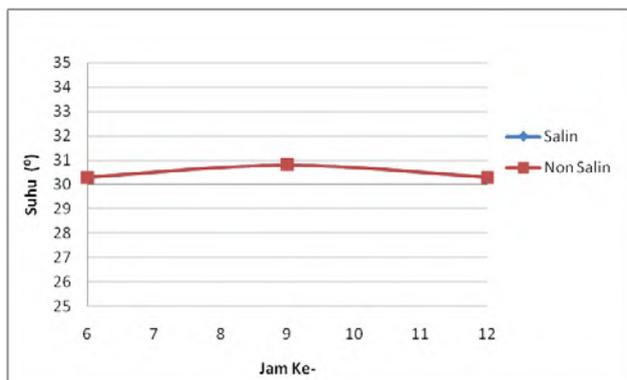
(1)



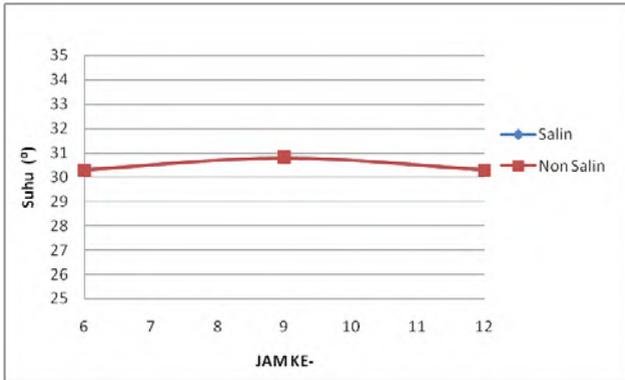
(2)

Gambar 4.15 Analisa Suhu Bakteri (1) *Bacillus megaterium* dan (2) *Bacillus subtilis* Konsentrasi 75 mg/L

Menurut grafik hasil analisa suhu pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada perlakuan salin dan non-salin Gambar 4.15 dengan konsentrasi 75 mg/L menunjukkan suhu normal yaitu 30° C. Sehingga proses bioremediasi pada kedua bakteri dapat berlangsung secara optimal.



(1)



(2)

Gambar 4.16 Analisa Suhu Bakteri (1) *Bacillus megaterium* dan (2) *Bacillus subtilis* Konsentrasi 100 mg/L

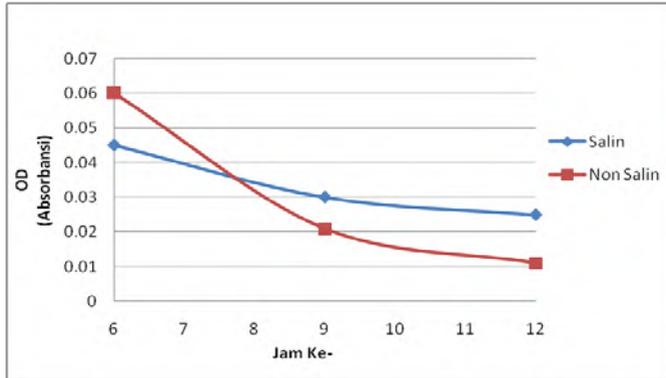
Menurut grafik hasil analisa suhu pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada perlakuan salin dan non-salin Gambar 4.16 dengan konsentrasi 100 mg/L menunjukkan suhu normal yaitu 30° C. Sehingga proses bioremediasi pada kedua bakteri dapat berlangsung secara optimal.

#### 4.4.3 Analisa OD (*Optical Density*)

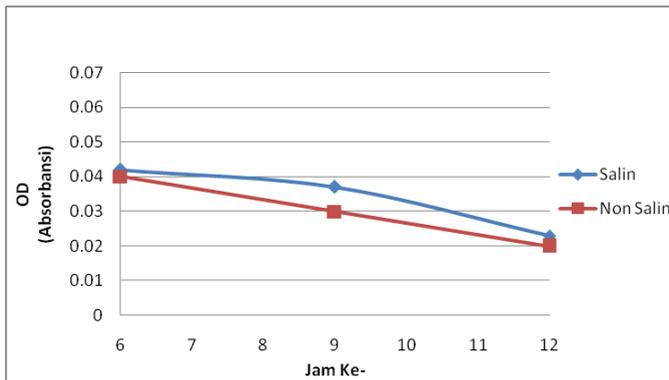
Pengamatan analisa OD (*Optical Density*) pada proses uji bioremediasi ini dilakukan dengan pengambilan sampel disetiap perlakuan, tujuannya untuk mengetahui efisiensi penurunan kadar OD oleh bakteri. Penurunan kadar OD ini disebabkan karena kadar kromium semakin turun dan mikroorganisme tidak mempunyai nutrisi untuk bertahan hidup.

Menurut grafik hasil analisa OD pada Gambar 4.17 dengan konsentrasi 50 mg/L, Gambar 4.18 dengan konsentrasi 75 mg/L, dan Gambar 4.19 dengan konsentrasi 100 mg/L pada jam ke-0 hingga ke-6 bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* masih mengalami pertumbuhan terlihat dari nilai absorbansi semakin naik. Namun pada jam ke-6 hingga ke-12 setelah diberi campuran larutan kromium dan larutan salin/non-salin terlihat

nilai absorban tersebut semakin menurun. Data lengkap untuk analisa OD ini dapat dilihat pada Lampiran B.



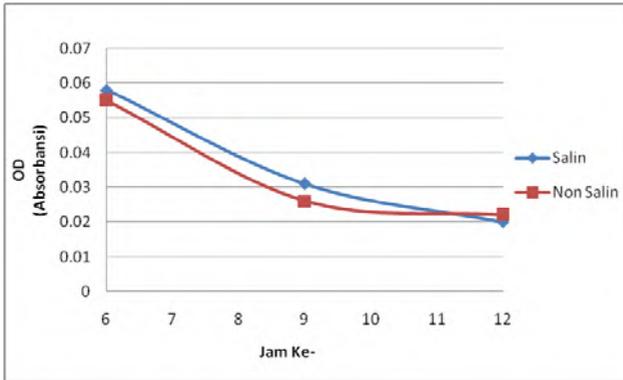
(1)



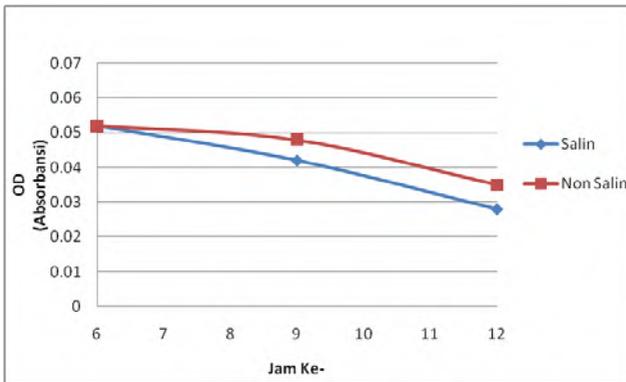
(2)

Gambar 4.17 Analisa OD (*Optical Density*) Bakteri (1) *Bacillus megaterium* dan (2) *Bacillus subtilis* Konsentrasi 50 mg/L

Menurut grafik hasil analisa OD pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada perlakuan salin dan non-salin Gambar 4.17 dengan konsentrasi 50 mg/L menunjukkan nilai absorban tersebut semakin menurun.



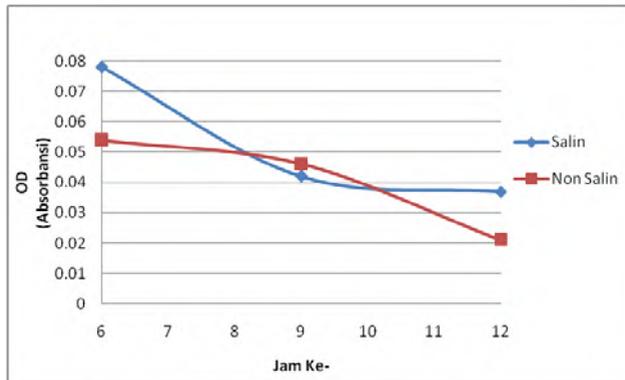
(1)



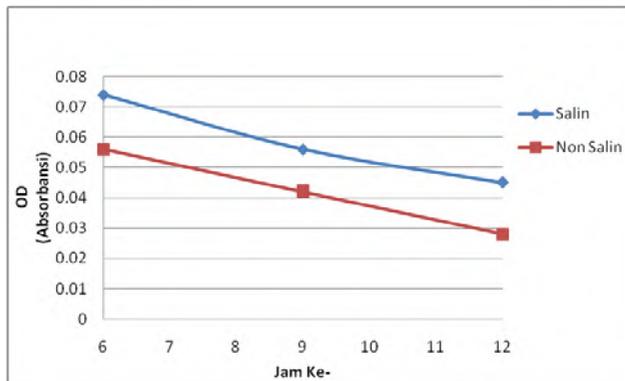
(2)

Gambar 4.18 Analisa OD (*Optical Density*) Bakteri (1) *Bacillus megaterium* dan (2) *Bacillus subtilis* Konsentrasi 75 mg/L

Menurut grafik hasil analisa OD pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada perlakuan salin dan non-salin Gambar 4.18 dengan konsentrasi 75 mg/L menunjukkan nilai absorban tersebut semakin menurun.



(1)



(2)

Gambar 4.19 Analisa OD (*Optical Density*) Bakteri (1) *Bacillus megaterium* dan (2) *Bacillus subtilis* Konsentrasi 100 mg/L

Menurut grafik hasil analisa OD pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada perlakuan salin dan non-salin Gambar 4.19 dengan konsentrasi 100 mg/L menunjukkan nilai absorban tersebut semakin menurun.

#### 4.4.4 Analisa Kandungan Logam Berat Kromium (Cr)

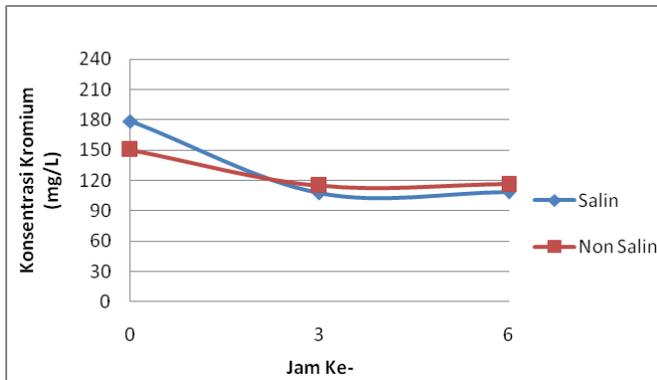
Pengamatan analisa kandungan logam berat kromium (Cr) ini menggunakan metode AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometry*). Analisa dilakukan pada jam ke-0 (awal), jam ke-3 (tengah) dan jam ke-6 (akhir). Hasil nilai analisa AAS bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* dengan perlakuan salin dan non-salin pada logam berat kromium dengan konsentrasi 50, 75, 100 mg/L dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Konsentrasi Kromium Bakteri *Bacillus megaterium* dan Bakteri *Bacillus subtilis*

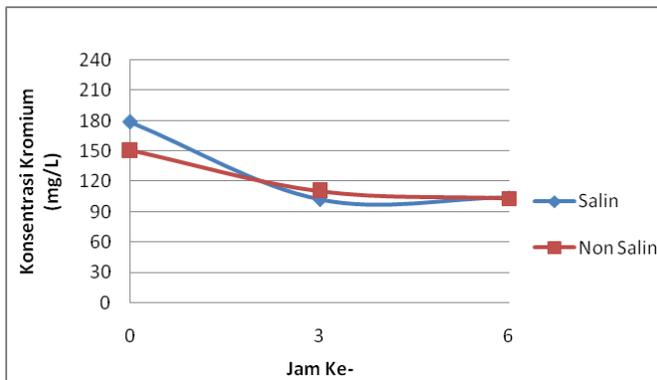
Bakteri	Perlakuan	Konsentrasi Kromium (Cr) (mg/L)		
		50	75	100
<i>Bacillus megaterium</i> dan <i>Bacillus subtilis</i>	Salin	178,71	213,76	254,15
	Non Salin	150,50	192,18	247,32

Menurut hasil analisa AAS untuk konsentrasi kromium bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada Tabel 4.3 menunjukkan bahwa untuk konsentrasi 50 mg/L mempunyai hasil konsentrasi kromium 150 mg/L, konsentrasi 75 mg/L mempunyai hasil konsentrasi kromium 175 mg/L dan konsentrasi 100 mg/L mempunyai hasil konsentrasi kromium 200 mg/L.

Kemudian dari Tabel 4.3 tersebut dapat dibuat grafik analisa AAS konsentrasi kromium 150 mg/L (Gambar 4.20), 175 mg/L (Gambar 4.21) dan 200 mg/L (Gambar 4.22) pada bakteri *Bacillus megaterium* dan Bakteri *Bacillus subtilis* dengan perlakuan salin dan non-salin. Menurut hasil grafik nilai AAS konsentrasi pada kromium turun pada jam ke-0 hingga jam ke-3, namun konsentrasi tersebut naik pada jam ke-3 hingga jam ke-6. Hal ini dikarenakan karena bakteri tersebut sudah mati dan tercampur dengan media. Data lengkap untuk analisa kandungan logam berat kromium (Cr) ini dapat dilihat pada Lampiran B.



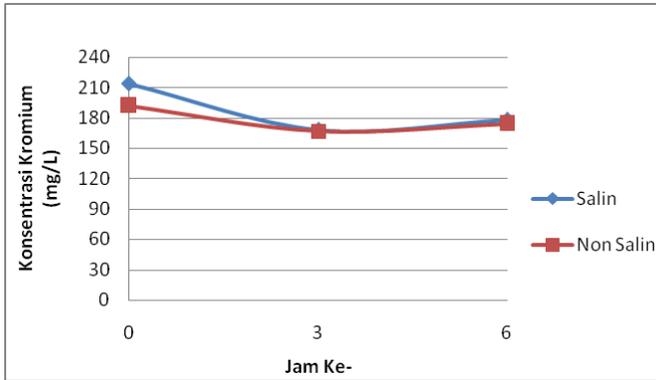
(1)



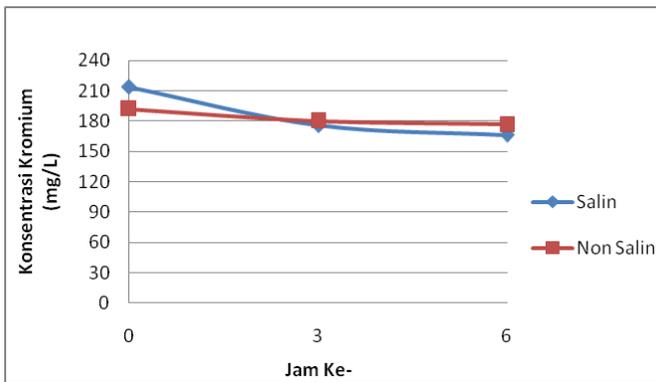
(2)

Gambar 4.20 Konsentrasi Kromium Bakteri (1) *Bacillus megaterium* dan (2) *Bacillus subtilis* Konsentrasi 150 mg/L

Menurut grafik hasil dari analisa AAS pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada perlakuan salin dan non-salin Gambar 4.20 dengan konsentrasi 150 mg/L menunjukkan nilai AAS pada konsentrasi kromium turun pada jam ke-0 hingga jam ke-3, namun konsentrasi tersebut naik pada jam ke-3 hingga jam ke-6.



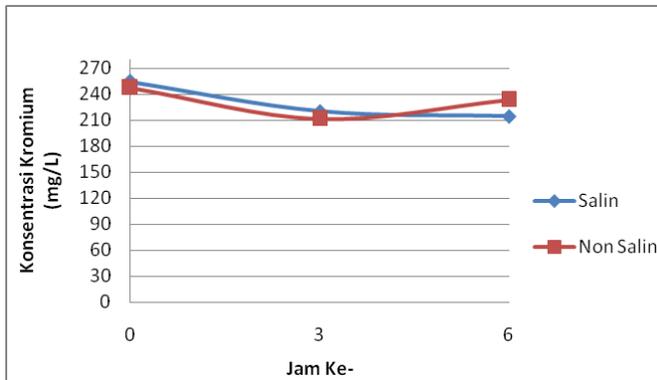
(1)



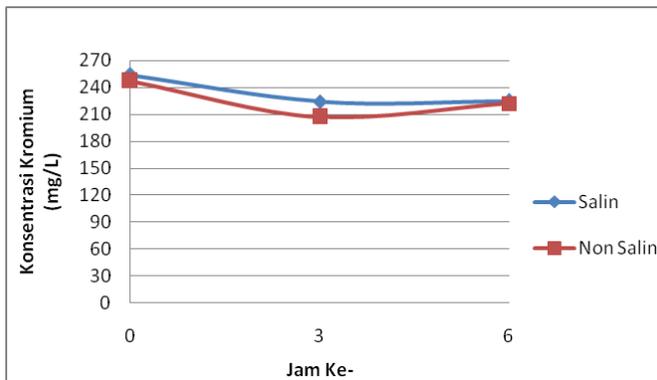
(2)

Gambar 4.21 Konsentrasi Kromium Bakteri (1) *Bacillus megaterium* dan (2) *Bacillus subtilis* Konsentrasi 175 mg/L

Menurut grafik hasil dari analisa AAS pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada perlakuan salin dan non-salin Gambar 4.21 dengan konsentrasi 175 mg/L menunjukkan nilai AAS pada konsentrasi kromium turun pada jam ke-0 hingga jam ke-3, namun konsentrasi tersebut naik pada jam ke-3 hingga jam ke-6.



(1)



(2)

Gambar 4.22 Konsentrasi Kromium Bakteri (1) *Bacillus megaterium* dan (2) *Bacillus subtilis* Konsentrasi 200 mg/L

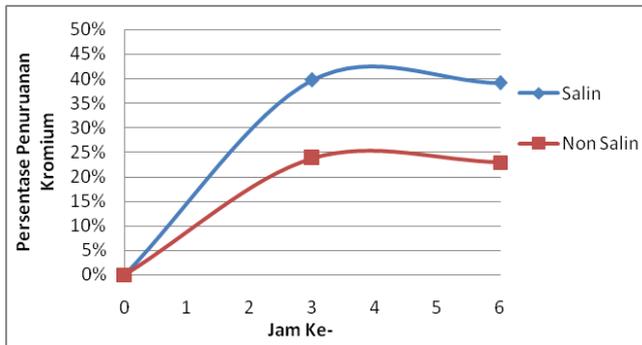
Menurut grafik hasil dari analisa AAS pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada perlakuan salin dan non-salin Gambar 4.22 dengan konsentrasi 200 mg/L menunjukkan nilai AAS pada konsentrasi kromium mengalami penurunan pada jam ke-0 hingga jam ke-3, namun konsentrasi tersebut naik pada jam ke-3 hingga jam ke-6.

Persentase penurunan kromium dari hasil analisa AAS pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* dapat dilihat pada tabel 4.4. Hasil pengamatan analisa AAS dari Tabel 4.4 bahwa bakteri *Bacillus subtilis* lebih besar menyerap logam berat kromium (Cr) pada konsentrasi 150 mg/L dengan persentase sebesar 42,83% pada jam ke-3 (tengah). Sedangkan bakteri *Bacillus megaterium* hanya menyerap sebesar 39,73% pada jam ke-3 (tengah). Hasil perbandingan perlakuan salin dan non-salin lebih efektif menggunakan dengan larutan salin daripada dengan perlakuan non-salin. Hal ini membuktikan bahwa bakteri lebih kompatibel terhadap perlakuan larutan salin. Perhitungan dilakukan dengan cara hasil kromium setiap konsentrasi dikurangi oleh oleh control disetiap konsentrasi. Data lengkap untuk persentase penurunan kromium ini dapat dilihat pada Lampiran B.

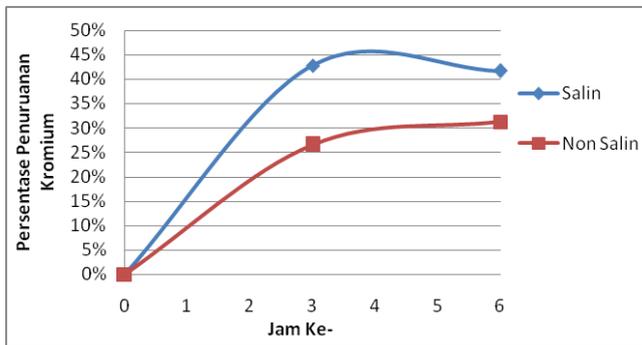
Tabel 4.4 Persentase Penurunan Kromium Bakteri *Bacillus megaterium* dan Bakteri *Bacillus subtilis*

Bakteri	Salin	Konsentrasi Kromium (Cr) (mg/L)		
		150	175	200
<i>Bacillus megaterium</i>	Salin	39,73%	21,22%	15,60%
	Non Salin	23,77%	13,15%	14,54%
<i>Bacillus subtilis</i>	Salin	42,83%	22,26%	16,11%
	Non Salin	31,25%	8,16%	11,69%

Kemudian dari Tabel 4.3 tersebut dapat dibuat grafik persentase penurunan kromium dengan konsentrasi 150 mg/L (Gambar 4.23), 175 mg/L (Gambar 4.24) dan 200 mg/L (Gambar 4.25) pada bakteri *Bacillus megaterium* dan Bakteri *Bacillus subtilis* dengan perlakuan salin dan non-salin.



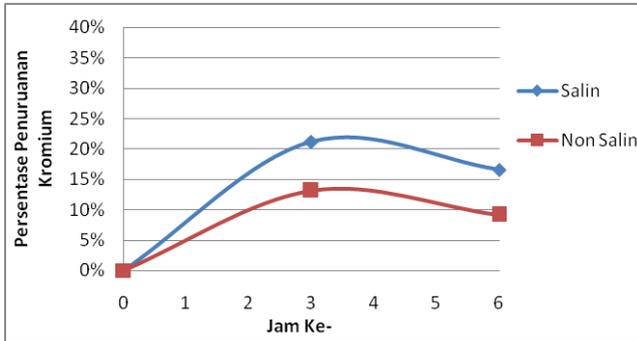
(1)



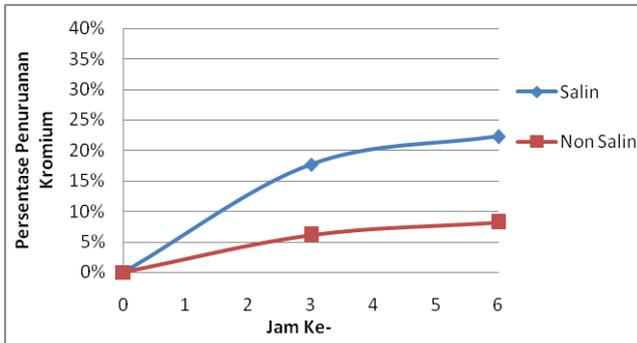
(2)

Gambar 4.23 Persentase Penurunan Kromium Bakteri (1) *Bacillus megaterium* dan (2) *Bacillus subtilis* Konsentrasi 150 mg/L

Menurut grafik hasil dari persentase penurunan kromium pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada perlakuan salin dan non-salin Gambar 4.23 dengan konsentrasi 150 mg/L menunjukkan persentase penurunan kromium dengan lebih spesifik waktu dari jam ke-0 sampai jam ke-6. Grafik tersebut dapat digunakan, apabila dengan perlakuan yang sama seperti bakteri, konsentrasi kromium, pH dan suhu.



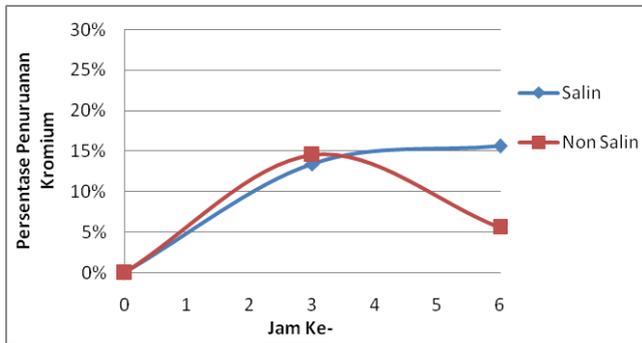
(1)



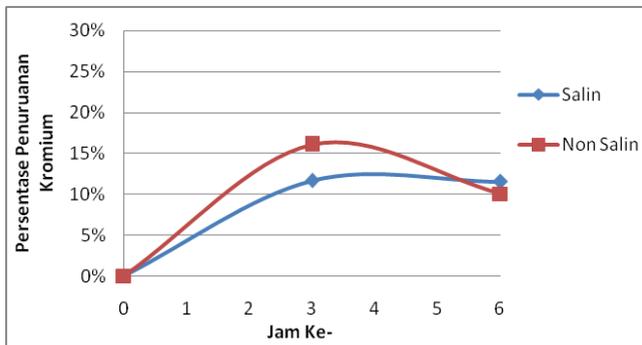
(2)

Gambar 4.24 Persentase Penurunan Kromium Bakteri (1) *Bacillus megaterium* dan (2) *Bacillus subtilis* Konsentrasi 175 mg/L

Menurut grafik hasil dari persentase penurunan kromium pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada perlakuan salin dan non-salin Gambar 4.24 dengan konsentrasi 175 mg/L menunjukkan persentase penurunan kromium dengan lebih spesifik waktu dari jam ke-0 sampai jam ke-6. Grafik tersebut dapat digunakan, apabila dengan perlakuan yang sama seperti bakteri, konsentrasi kromium, pH dan suhu.



(1)

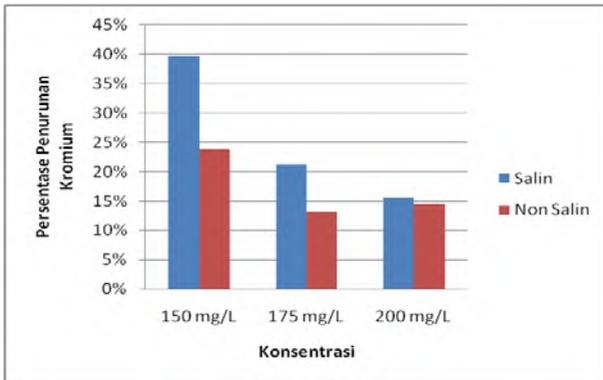


(2)

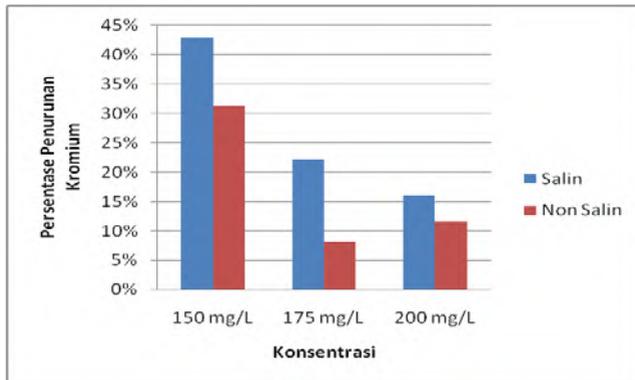
Gambar 4.25 Persentase Penurunan Kromium Bakteri (1) *Bacillus megaterium* dan (2) *Bacillus subtilis* Konsentrasi 200 mg/L

Menurut grafik hasil dari persentase penurunan kromium pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada perlakuan salin dan non-salin Gambar 4.25 dengan konsentrasi 200 mg/L menunjukkan persentase penurunan kromium dengan lebih spesifik waktu dari jam ke-0 sampai jam ke-6. Grafik tersebut dapat digunakan, apabila dengan perlakuan yang sama seperti bakteri, konsentrasi kromium, pH dan suhu.

Berikut Gambar 4.26 dan Gambar 4.27 merupakan perbandingan untuk penurunan kromium pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* konsentrasi 150, 175 dan 200 mg/L dengan perlakuan menggunakan larutan salin dan non-salin. Berdasarkan Gambar 4.26 dapat diketahui bahwa pada bakteri *Bacillus megaterium* dengan konsentrasi 150 mg/L mereduksi 39,73% pada jam ke-3 (tengah); konsentrasi 175 mg/L mereduksi 21,22% pada jam ke-3 (tengah) dan konsentrasi 200 mg/L mereduksi 15,60% pada jam ke-6 (akhir). Gambar 4.27 dapat diketahui bahwa pada bakteri *Bacillus subtilis* dengan konsentrasi 150 mg/L mereduksi sebesar 42,83% pada jam ke-3 (tengah); konsentrasi 175 mg/L mereduksi sebesar 22,26% pada jam ke-6 (akhir) dan konsentrasi 200 mg/L mereduksi sebesar 16,11% pada jam ke-3 (tengah).

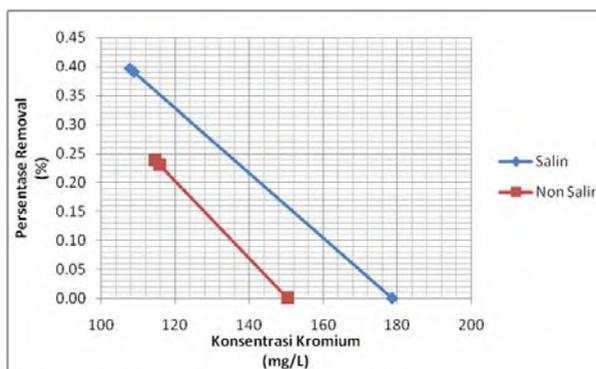


Gambar 4.26 Perbandingan Penurunan Kromium Bakteri *Bacillus megaterium* Konsentrasi 150, 175 dan 200 mg/L Perlakuan Larutan Salin dan Non-Salin

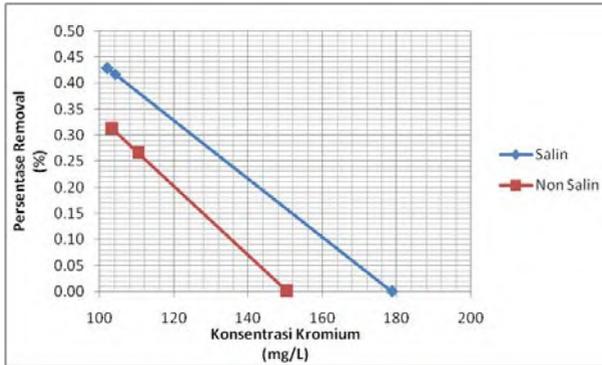


Gambar 4.27 Perbandingan Penurunan Kromium Bakteri *Bacillus subtilis* Konsentrasi 150, 175 dan 200 mg/L Perlakuan Larutan Salin dan Non-Salin

Kemudian dari hasil data pada Tabel 4.3 dan Tabel 4.4 tersebut dapat dibuat grafik yang menghubungkan antara hasil konsentrasi kromium dengan persentase penurunan kromium pada konsentrasi kromium 150 mg/L (Gambar 4.28), 175 mg/L (Gambar 4.29) dan 200 mg/L (Gambar 4.30) pada bakteri *Bacillus megaterium* dan Bakteri *Bacillus subtilis* dengan perlakuan salin dan non-salin.



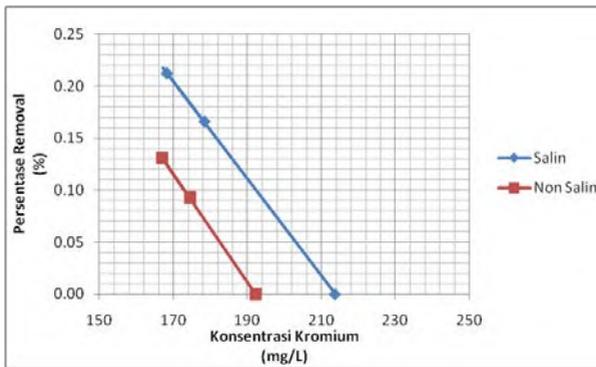
(1)



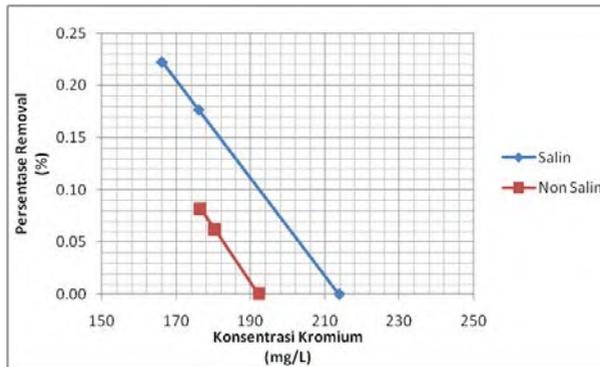
(2)

Gambar 4.28 Hubungan Antara Konsentrasi Dengan Persentase Penurunan Kromium Bakteri (1) *Bacillus megaterium* dan (2) *Bacillus subtilis* Konsentrasi 150 mg/L

Menurut grafik hasil yang menghubungkan antara konsentrasi kromium dengan persentase penurunan kromium pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada perlakuan salin dan non-salin Gambar 4.28 dengan konsentrasi kromium 150 mg/L menunjukkan semakin tinggi hasil konsentrasi kromium maka persentase tersebut menunjukkan semakin rendah.



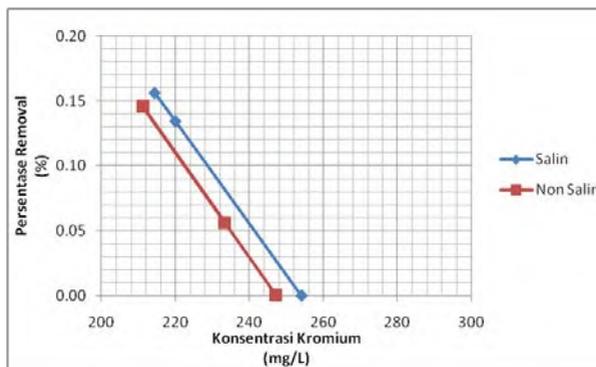
(1)



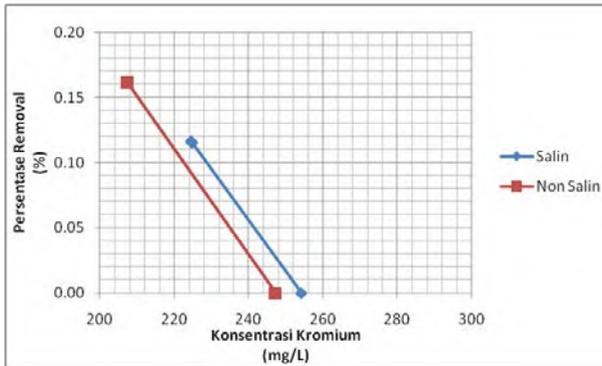
(2)

Gambar 4.29 Hubungan Antara Konsentrasi Dengan Persentase Penurunan Kromium Bakteri (1) *Bacillus megaterium* dan (2) *Bacillus subtilis* Konsentrasi 175 mg/L

Menurut grafik hasil yang menghubungkan antara konsentrasi kromium dengan persentase penurunan kromium pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada perlakuan salin dan non-salin Gambar 4.29 dengan konsentrasi kromium 175 mg/L menunjukkan semakin tinggi hasil konsentrasi kromium maka persentase tersebut menunjukkan semakin rendah.



(1)



(2)

Gambar 4.30 Hubungan Antara Konsentrasi Dengan Persentase Penurunan Kromium Bakteri (1) *Bacillus megaterium* dan (2) *Bacillus subtilis* Konsentrasi 200 mg/L

Menurut grafik hasil yang menghubungkan antara konsentrasi kromium dengan persentase penurunan kromium pada bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada perlakuan salin dan non-salin Gambar 4.30 dengan konsentrasi kromium 200 mg/L menunjukkan semakin tinggi hasil konsentrasi kromium maka persentase tersebut menunjukkan semakin rendah.

#### 4.4.5 Jumlah Koloni Bakteri

Pada pengamatan jumlah koloni bakteri ditujukan untuk mengetahui banyaknya koloni bakteri yang dapat tumbuh pada media agar. Pengamatan menggunakan dengan cara penghitungan pada media agar yang berisi pembiakan 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 untuk dihitung harus memiliki 30-300 koloni. Oleh karena itu, dilakukan dengan pengenceran. Jumlah mikroba dalam sampel ditentukan dengan mengalikan jumlah koloni dengan faktor pengenceran pada cawan media agar. Satuan yang digunakan untuk menyatakan jumlah koloni bakteri adalah CFU/mL (CFU = *Colony Forming Units*) (Waluyo 2008).

Bakteri diambil sebanyak 1 mL untuk dimasukkan kedalam tabung reaksi pengencer pertama ( $10^{-1}$ ) yang berisi 9 mL larutan salin. Lalu diambil 1 mL dari  $10^{-1}$  kedalam pengencer  $10^{-2}$  dan tabung dikocok hingga homogen. Percobaan diulangi sampai seterusnya hingga pengenceran ke  $10^{-9}$ . Pengamatan mengambil pengenceran  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ . Larutan diambil dengan pipet tetes dan diratakan dengan *glass rodd* sebanyak 0,1 mL larutan untuk dibiakan pada media *Nutrient Agar* (NA). *Glass rodd* yang digunakan harus dalam keadaan sudah steril, yaitu dengan cara direndam dalam alkohol dan dipanaskan dengan api. Semua cawan petri diinkubasi selama 24 jam didalam inkubator. Berikut Tabel 4.5 data untuk hasil pengamatan jumlah koloni bakteri pada cawan petri setelah diinkubasi 24 jam.

Tabel 4.5 Hasil Pengamatan Koloni Bakteri Pada Cawan Konsentrasi 150 mg/L

Bakteri	Pengenceran	Awal		Akhir	
		Salin	Non-Salin	Salin	Non-Salin
<i>Bacillus megaterium</i>	$10^{-7}$	TBUD	156	169	145
	$10^{-8}$	235	136	83	42
	$10^{-9}$	101	73	50	40
<i>Bacillus subtilis</i>	$10^{-7}$	257	166	171	288
	$10^{-8}$	162	145	80	251
	$10^{-9}$	114	109	TSUD	176

Keterangan : TBUD : terlalu banyak untuk dihitung  
 TSUD : terlalu sedikit untuk dihitung

## Konsentrasi 175 mg/L

Bakteri	Pengenceran	Awal		Akhir	
		Salin	Non-Salin	Salin	Non-Salin
<i>Bacillus megaterium</i>	$10^{-7}$	60	45	141	150
	$10^{-8}$	46	26	91	76
	$10^{-9}$	TSUD	TSUD	77	46
<i>Bacillus subtilis</i>	$10^{-7}$	190	165	250	277
	$10^{-8}$	120	75	141	133
	$10^{-9}$	TSUD	52	98	71

Keterangan: TBUD : terlalu banyak untuk dihitung  
 TSUD : terlalu sedikit untuk dihitung

## Konsentrasi 200 mg/L

Bakteri	Pengenceran	Awal		Akhir	
		Salin	Non-Salin	Salin	Non-Salin
<i>Bacillus megaterium</i>	$10^{-7}$	61	48	118	167
	$10^{-8}$	40	28	97	60
	$10^{-9}$	21	12	55	45
<i>Bacillus subtilis</i>	$10^{-7}$	138	96	71	55
	$10^{-8}$	83	62	60	47
	$10^{-9}$	70	56	47	42

Pada percobaan yang diperoleh, jumlah koloni bakteri *Bacillus megaterium* dengan konsentrasi 50 mg/L yang terbentuk pada cawan pada pengenceran  $10^{-7}$  analisis awal (jam ke-0) dengan perlakuan larutan salin terlalu banyak untuk dihitung (TBUD). Sedangkan pada jumlah koloni bakteri *Bacillus subtilis* dengan konsentrasi 75 mg/L yang terbentuk pada cawan pada pengenceran  $10^{-9}$  analisis awal (jam ke-0) dengan perlakuan

larutan salin dan pada jumlah koloni bakteri *Bacillus megaterium* dengan konsentrasi 75 mg/L yang terbentuk pada cawan pada pengenceran  $10^{-9}$  analisis awal (jam ke-0) dengan perlakuan larutan salin dan non-salin koloni bakteri yang terbentuk menumpuk dan bergelombol sehingga sulit untuk dihitung terlalu sedikit untuk dihitung (TSUD).

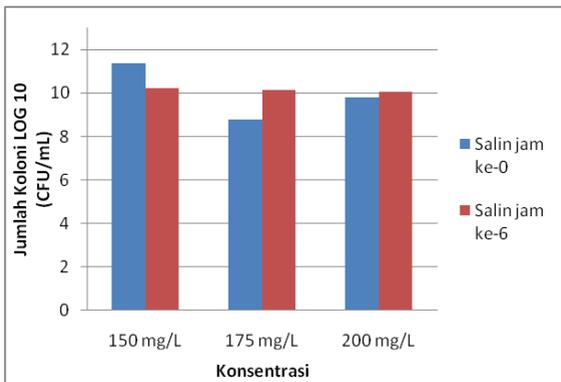
Hal ini karena cawan yang dipilih untuk penghitungan koloni adalah yang mengandung antara 30-300 koloni bakteri. Bila perhitungan  $<30$  maka diambil jumlah koloni dengan pengenceran terendah. Bila perhitungan  $>300$  dari semua pengenceran, maka jumlah koloni diambil dari pengenceran tertinggi. Bila ada 2 cawan dengan pengenceran rendah dan tinggi yang berurutan dan mempunyai jumlah koloni 30-300 dan hasil bagi jumlah koloni pengenceran tertinggi dan terendah  $\leq 2$  maka jumlah yang dicantumkan adalah nilai rata-rata. Jika hasil bagi pengenceran tertinggi dan terendah  $>2$  maka jumlah yang dilaporkan adalah dari cawan dengan pengenceran terendah. Tidak terbentuknya koloni atau sedikitnya koloni bakteri yang terbentuk dapat disebabkan oleh beberapa hal di antaranya cawan yang berisi bakteri tersebut terlalu dekat dengan api sehingga bakteri tersebut menjadi mati atau hanya sedikit saja yang hidup. Selain itu dapat pula dikarenakan *glass rodd* yang digunakan untuk meratakan larutan pengencer bakteri masih panas sehingga bakteri tersebut mati semua atau sebagian.

Semakin tinggi tingkat pengenceran yang dilakukan maka jumlah koloni bakteri semakin sedikit yang akan terbentuk. Hal ini dapat dilihat pada pengenceran  $10^{-7}$  yang memiliki jumlah koloni yang terlalu banyak dan pada pengenceran  $10^{-9}$  memiliki jumlah koloni paling sedikit pada cawan. Jumlah koloni yang berkurang seiring dengan peningkatan pengenceran disebabkan karena jumlah bakteri yang terkandung dalam tiap volume inokulan yang dipindahkan semakin berkurang akibat pengenceran yang dilakukan.

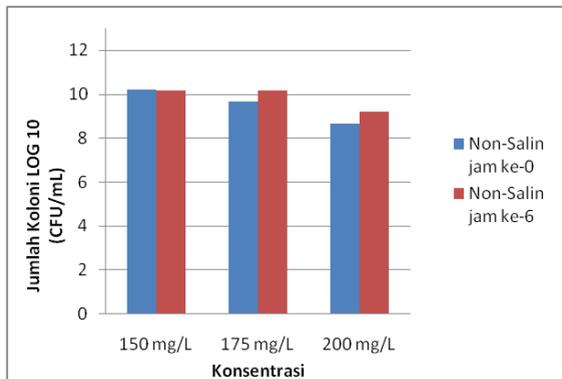
Jumlah sel bakteri yang terdapat dalam sampel dapat ditentukan dengan rumus sebagai berikut.

$$\sum \text{ sel } = \sum \text{ koloni } \times \frac{1}{f_p} \times \frac{1}{\sum \text{ inokulan}} \quad (\text{Waluyo, 2008})$$

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.  $f_p$  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 megaterium* konsentrasi 150, 175 dan 200 mg/L perlakuan larutan salin dan non-salin dapat dilihat pada Gambar 4.31. Sedangkan grafik jumlah koloni bakteri *Bacillus subtilis* konsentrasi 150, 175 dan 200 mg/L perlakuan larutan salin dan non-salin dapat dilihat pada Gambar 4.32 berikut.



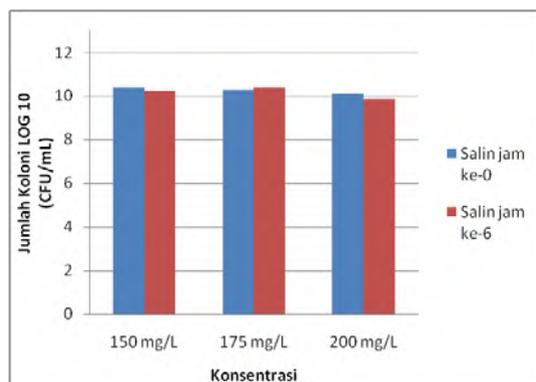
(1)



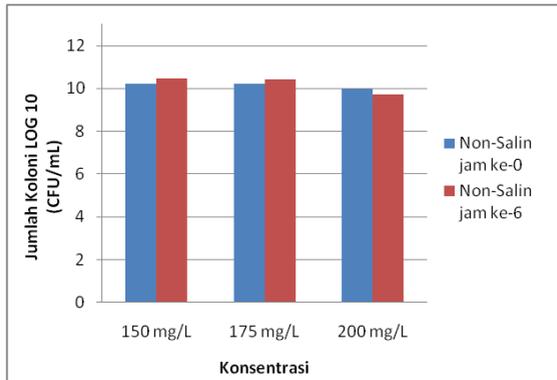
(2)

Gambar 4.31 Jumlah Koloni Bakteri *Bacillus megaterium* Konsentrasi 150, 175 dan 200 mg/L Perlakuan Larutan (1) Salin dan (2) Non-Salin

Menurut grafik hasil dari jumlah koloni bakteri *Bacillus megaterium* konsentrasi 150, 175 dan 200 mg/L perlakuan larutan salin dan non-salin Gambar 4.31 menunjukkan konsentrasi 150 mg/L jam ke-0 (awal) dominan lebih banyak daripada jam ke-6 (akhir), sedangkan konsentrasi 175 mg/L dan 200 mg/L jam ke-6 (akhir) dominan lebih banyak daripada jam ke-0 (awal).



(1)



(2)

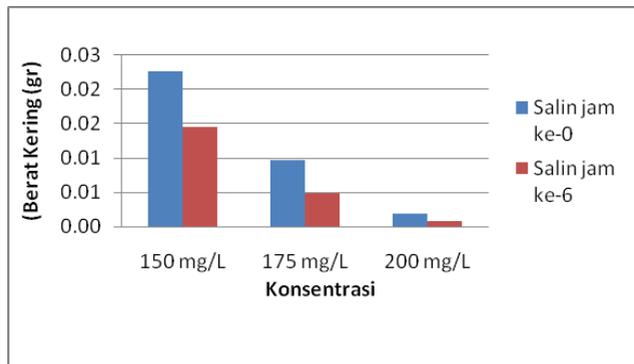
Gambar 4.32 Jumlah Koloni Bakteri *Bacillus subtilis* Konsentrasi 150, 175 dan 200 mg/L Perlakuan Larutan (1) Salin dan (2) Non-Salin

Menurut grafik hasil dari jumlah koloni bakteri *Bacillus megaterium* konsentrasi 150, 175 dan 200 mg/L perlakuan larutan salin dan non-salin Gambar 4.32 menunjukkan konsentrasi 150 dan 175 mg/L jam ke-0 (awal) dominan lebih banyak daripada jam ke-6 (akhir), sedangkan konsentrasi 200 mg/L jam ke-6 (akhir) dominan lebih banyak daripada jam ke-0 (awal).

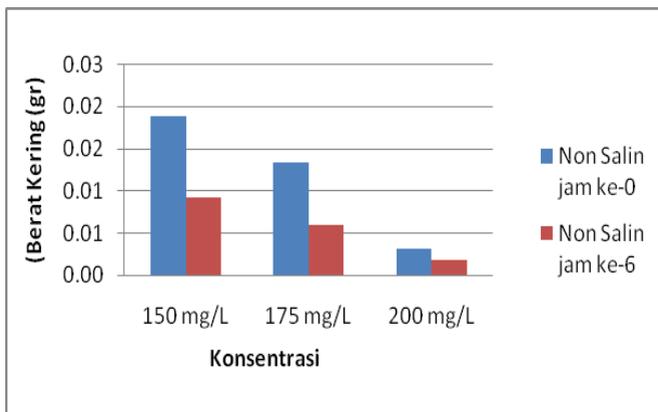
#### 4.4.6 Berat Kering Bakteri

Pada pengamatan berat kering bakteri ditujukan untuk mengetahui jumlah berat bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* dengan menimbang massa bakteri pada kertas saring. Hal ini dilakukan dengan cara menyaring larutan sebanyak 50 mL dengan menggunakan *vacuum pump*. Setelah di saring, kertas saring di oven bersuhu 105°C selama 1 jam untuk menghilangkan berat basah pada kertas saring. Lalu didesikator selama 10 menit. Perhitungan dengan menimbang kertas saring awal dikurangi kertas saring setelah dioven, didapatkan berat massa bakteri. Hasil grafik berat kering bakteri *Bacillus*

*megaterium* konsentrasi 150, 175 dan 200 mg/L perlakuan larutan salin dan non-salin dapat dilihat pada Gambar 4.27 dan grafik berat kering bakteri *Bacillus subtilis* konsentrasi 50, 75 dan 100 mg/L perlakuan larutan salin dan non-salin dapat dilihat pada Gambar 4.33 berikut.

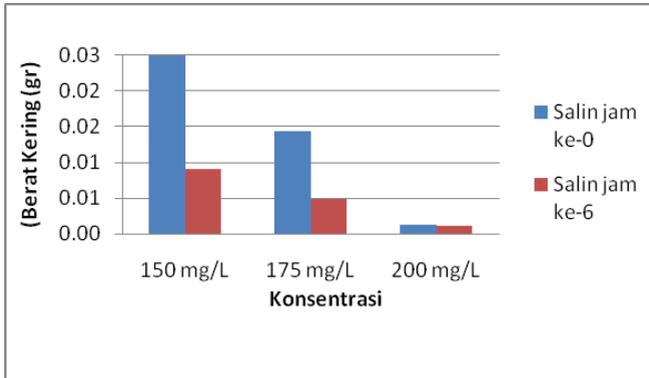


(1)

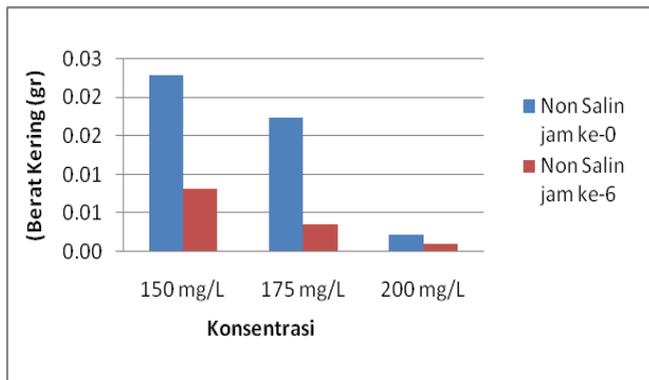


(2)

Gambar 4.33 Berat Kering Bakteri *Bacillus megaterium* Konsentrasi 150, 175 dan 200 mg/L Perlakuan Larutan (1) Salin dan (2) Non-Salin



(1)



(2)

Gambar 4.34 Berat Kering Bakteri *Bacillus subtilis* Konsentrasi 150, 175 dan 200 mg/L Perlakuan Larutan (1) Salin dan (2) Non-Salin

Terlihat pada grafik Gambar 4.33 dan Gambar 4.34 bahwa bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* pada konsentrasi 150 mg/L lebih berat massanya dari pada dengan konsentrasi 175 mg/L. Begitu juga dengan konsentrasi 175 mg/L lebih berat massanya dari pada dengan konsentrasi 200 mg/L. Hal ini menandakan bahwa bakteri tersebut mati sehingga berat massa

bakteri yang menyerap pada kromium disetiap konsentrasi 150, 175 dan 200 mg/L akan menurun.

#### **4.4.7 Korelasi Kromium (Cr), Jumlah Koloni Bakteri dan Berat Kering Bakteri**

Pengamatan analisis pada tahap uji bioremediasi ini dapat berkorelasi antara kromium (Cr), jumlah koloni bakteri dan berat kering bakteri untuk bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis*. Berdasarkan hasil pengamatan dapat dilihat dari persentase penurunan kromium dari hasil analisa AAS menunjukkan data bakteri *Bacillus megaterium* dapat menurunkan konsentrasi 150 mg/L dalam perlakuan menggunakan larutan salin sebanyak 39,73 %, lalu didapatkan data hasil pengamatan jumlah koloni bakteri terdapat  $235 \times 10^8$  CFU/mL dengan berat kering bakteri tersebut dengan berat 0,023 g. Hal ini menunjukkan bahwa perununan sebanyak 39,73 % dilakukan oleh bakteri sejumlah  $235 \times 10^8$  CFU/mL dengan massa 0,023 g. Korelasi tersebut berlaku untuk bakteri *Bacillus subtilis* dengan pengamatan analisis persentase kromium (Cr), jumlah koloni bakteri dan berat kering bakteri.

*Halaman ini sengaja dikosongkan*

## **BAB 5**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Dari penelitian yang sudah dilakukan maka dapat ditarik kesimpulan bahwa :

1. Kemampuan bakteri *Bacillus subtilis* lebih besar mereduksi limbah cair yang mengandung logam berat kromium (Cr) pada konsentrasi 150 mg/L dengan presentase sebesar 42,8% pada jam ke-3, sedangkan bakteri *Bacillus megaterium* hanya menyerap sebesar 39,73% pada jam ke-3 dengan perlakuan menggunakan larutan salin.
2. Kondisi campuran pada kromium+bakteri dengan perlakuan salinitas lebih efektif dengan hasil presentase lebih besar daripada yang menggunakan perlakuan non-salinitas dan memberikan reduksi pada konsentrasi rendah dalam uji bioremediasi. Pada bakteri *Bacillus megaterium* dengan konsentrasi 150 mg/L mampu mereduksi 39,73% pada jam ke-3; konsentrasi 175 mg/L mampu mereduksi 21,22% pada jam ke-3; konsentrasi 200 mg/L mampu mereduksi 15,60% pada jam ke-6. Pada bakteri *Bacillus subtilis* dengan konsentrasi 50 mg/L mampu mereduksi sebesar 42,83% pada jam ke-3; konsentrasi 75 mg/L mampu mereduksi sebesar 22,26% pada jam ke-6; konsentrasi 100 mg/L mampu mereduksi sebesar 16,11% pada jam ke-3.

#### **5.2 Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian dengan lebih banyak variasi konsentrasi logam berat kromium (Cr).
2. Dilakukan penelitian dengan memperpendek pada jam sampling.

3. Dilakukan penelitian dengan membuat larutan *stock* pada setiap jam sampling dikarenakan hasil analisa AAS terpaut jauh dengan konsentrasi awal.
4. Dilakukan penelitian lebih lanjut dalam mereduksi logam berat dengan spesies bakteri yang berbeda.

## LAMPIRAN A

### A. Perhitungan Kromium (Cr)

Berikut ini perhitungan larutan tiap konsentrasi :

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

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

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

- Penelitian Pendahuluan

1. Konsentrasi 10 mg/L

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

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

$$\text{CrCl}_3 = 0,05124831698 \text{ g/L}$$

2. Konsentrasi 50 mg/L

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

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

$$\text{CrCl}_3 = 0,2562115 \text{ g/L}$$

3. Konsentrasi 100 mg/L

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

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

$$\text{CrCl}_3 = 0,512423 \text{ g/L}$$

- Uji Bioremediasi

1. Konsentrasi 50 mg/L

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

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

$$\text{CrCl}_3 = 0,2562115 \text{ g/L}$$

2. Konsentrasi 75 mg/L

$$\text{CrCl}_3 = 5,124230471 \times 75 \text{ mg/L}$$

$$\text{CrCl}_3 = 384,31729 \text{ mg/L}$$

$$\text{CrCl}_3 = 0,38431729 \text{ g/L}$$

3. Konsentrasi 100 mg/L  
 $\text{CrCl}_3 = 5,124230471 \times 100 \text{ mg/L}$   
 $\text{CrCl}_3 = 512,423 \text{ mg/L}$   
 $\text{CrCl}_3 = 0,512423 \text{ g/L}$

### B. Perhitungan Larutan Salin

1. Konsentrasi 8,5 gr  
 $8,5 \text{ gr} = \left(\frac{100}{1000}\right) \times 8,5 \text{ gr}$   
 $= 0,85 \text{ g/ml}$
2. Konsentrasi 3 gr  
 $3 \text{ gr} = \left(\frac{100}{1000}\right) \times 3 \text{ gr}$   
 $= 3 \text{ g/ml}$

### C. Hasil Pengamatan pH, Suhu, OD, Kromium, dan Berat Kering

1. Analisa pH bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* konsentrasi 50 mg/L

Jam ke 0-6

Jam Ke-		pH
Bakteri		
(0) 10.00	<i>B. subtilis</i>	6,10
	<i>B. megaterium</i>	6,07
(2) 12.00	<i>B. subtilis</i>	6,13
	<i>B. megaterium</i>	6,19
(4) 14.00	<i>B. subtilis</i>	6,25
	<i>B. megaterium</i>	6,59
(6) 16.00	<i>B. subtilis</i>	6,27
	<i>B. megaterium</i>	7,02

Jam ke 6-12

Jam Ke- Bakteri		Salin	Non-Salin
(6) 16.00	<i>B. subtilis</i>	3,89	2,97
AWAL	<i>B. megaterium</i>	3,87	2,56
(8) 19.00	<i>B. subtilis</i>	4,20	3,89
TENGAH	<i>B. megaterium</i>	3,92	3,78
(12) 22.00	<i>B. subtilis</i>	4,45	3,88
AKHIR	<i>B. megaterium</i>	3,21	2,67

2. Analisa pH bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* konsentrasi 75 mg/L

Jam ke 0-6

Jam Ke- Bakteri		pH
(0) 10.00	<i>B. subtilis</i>	7,18
	<i>B. megaterium</i>	7,15
(2) 12.00	<i>B. subtilis</i>	7,05
	<i>B. megaterium</i>	7,03
(4) 14.00	<i>B. subtilis</i>	8,08
	<i>B. megaterium</i>	8,07
(6) 16.00	<i>B. subtilis</i>	7,50
	<i>B. megaterium</i>	7,10

Jam ke 6-12

Jam Ke- Bakteri		Salin	Non-Salin
(6) 16.00	<i>B. subtilis</i>	3,62	3,54
AWAL	<i>B. megaterium</i>	3,81	3,67
(8) 19.00	<i>B. subtilis</i>	3,17	3,23

Jam Ke-		Bakteri	Salin	Non-Salin
TENGAH		<i>B. megaterium</i>	3,88	3,76
(12) 22.00		<i>B. subtilis</i>	3,36	2,58
AKHIR		<i>B. megaterium</i>	3,45	3,55

3. Analisa pH bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* konsentrasi 100 mg/L

Jam ke 0-6

Jam Ke-		Bakteri	pH
(0) 10.00		<i>B. subtilis</i>	7,10
		<i>B. megaterium</i>	7,13
(2) 12.00		<i>B. subtilis</i>	7,07
		<i>B. megaterium</i>	7,08
(4) 14.00		<i>B. subtilis</i>	8,02
		<i>B. megaterium</i>	8,05
(6) 16.00		<i>B. subtilis</i>	7,45
		<i>B. megaterium</i>	7,05

Jam ke 6-12

Jam Ke-		Bakteri	Salin	Non-Salin
(6) 16.00		<i>B. subtilis</i>	3,83	3,37
AWAL		<i>B. megaterium</i>	3,85	3,45
(8) 19.00		<i>B. subtilis</i>	3,27	2,75
TENGAH		<i>B. megaterium</i>	3,33	3,21
(12) 22.00		<i>B. subtilis</i>	3,52	3,20
AKHIR		<i>B. megaterium</i>	3,40	3,42

4. Analisa suhu bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* konsentrasi 50 mg/L

Jam ke 0-6

Jam Ke- Bakteri		Suhu (°)
(0) 10.00	<i>B. subtilis</i>	29,4
	<i>B. megaterium</i>	30,4
(2) 12.00	<i>B. subtilis</i>	30,5
	<i>B. megaterium</i>	30,5
(4) 14.00	<i>B. subtilis</i>	30,8
	<i>B. megaterium</i>	30,9
(6) 16.00	<i>B. subtilis</i>	30,4
	<i>B. megaterium</i>	30,4

Jam ke 6-12

Jam Ke- Bakteri		Salin	Non-Salin
(6) 16.00	<i>B. subtilis</i>	30,2	30,2
AWAL	<i>B. megaterium</i>	30,3	30,4
(8) 19.00	<i>B. subtilis</i>	30,2	30,2
TENGAH	<i>B. megaterium</i>	30,8	30,8
(12) 22.00	<i>B. subtilis</i>	30,0	30,0
AKHIR	<i>B. megaterium</i>	30,6	30,6

5. Analisa suhu bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* konsentrasi 75 mg/L

Jam ke 0-6

Jam Ke- Bakteri		Suhu (°)
(0) 10.00	<i>B. subtilis</i>	30,2
	<i>B. megaterium</i>	30,5

Jam Ke-		Bakteri	Suhu (°)
(2) 12.00		<i>B. subtilis</i>	30,6
		<i>B. megaterium</i>	30,8
(4) 14.00		<i>B. subtilis</i>	30,8
		<i>B. megaterium</i>	30,8
(6) 16.00		<i>B. subtilis</i>	30,5
		<i>B. megaterium</i>	30,6

Jam ke 6-12

Jam Ke-		Bakteri	Salin	Non-Salin
(6) 16.00		<i>B. subtilis</i>	30,0	30,6
AWAL		<i>B. megaterium</i>	30,8	30,8
(8) 19.00		<i>B. subtilis</i>	30,5	30,5
TENGAH		<i>B. megaterium</i>	30,7	30,7
(12) 22.00		<i>B. subtilis</i>	30,4	30,5
AKHIR		<i>B. megaterium</i>	30,5	30,5

6. Analisa suhu bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* konsentrasi 100 mg/L

Jam ke 0-6

Jam Ke-		Bakteri	Suhu (°)
(0) 10.00		<i>B. subtilis</i>	30,3
		<i>B. megaterium</i>	30,3
(2) 12.00		<i>B. subtilis</i>	30,7
		<i>B. megaterium</i>	30,7
(4) 14.00		<i>B. subtilis</i>	30,8
		<i>B. megaterium</i>	30,9

Jam Ke- Bakteri		Suhu (°)
(6) 16.00	<i>B. subtilis</i>	30,3
	<i>B. megaterium</i>	30,3

Jam ke 6-12

Jam Ke- Bakteri		Salin	Non-Salin
(6) 16.00	<i>B. subtilis</i>	30,5	30,5
AWAL	<i>B. megaterium</i>	30,3	30,3
(8) 19.00	<i>B. subtilis</i>	30,6	30,6
TENGAH	<i>B. megaterium</i>	30,8	30,8
(12) 22.00	<i>B. subtilis</i>	30,7	30,7
AKHIR	<i>B. megaterium</i>	30,3	30,3

7. OD (*Optical Density*) bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* konsentrasi 50 ppm

Jam ke 0-6

Jam Ke- Bakteri		OD (A)	Kontrol (A)
(0) 10.00	<i>B. subtilis</i>	0,026	0,002
	<i>B. megaterium</i>	0,018	0,002
(2) 12.00	<i>B. subtilis</i>	0,071	0,003
	<i>B. megaterium</i>	0,066	0,003
(4) 14.00	<i>B. subtilis</i>	0,440	0,002
	<i>B. megaterium</i>	0,313	0,002
(6) 16.00	<i>B. subtilis</i>	0,652	0,003
	<i>B. megaterium</i>	0,645	0,003

Jam ke 6-12

Jam Ke- Bakteri		Salin	Non-Salin	Kontrol (A)
(6) 16.00	<i>B. subtilis</i>	0,042	0,040	0,002
AWAL	<i>B. megaterium</i>	0,045	0,060	0,002
(8) 19.00	<i>B. subtilis</i>	0,037	0,030	0,001
TENGAH	<i>B. megaterium</i>	0,040	0,021	0,001
(12) 22.00	<i>B. subtilis</i>	0,023	0,030	0,002
AKHIR	<i>B. megaterium</i>	0,025	0,011	0,001

8. Analisa OD (*Optical Density*) bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* konsentrasi 75 ppm

Jam ke 0-6

Jam Ke- Bakteri		OD (A)	Kontrol (A)
(0) 10.00	<i>B. subtilis</i>	0,138	0,001
	<i>B. megaterium</i>	0,107	0,001
(2) 12.00	<i>B. subtilis</i>	0,245	0,001
	<i>B. megaterium</i>	0,142	0,001
(4) 14.00	<i>B. subtilis</i>	0,280	0,001
	<i>B. megaterium</i>	0,498	0,001
(6) 16.00	<i>B. subtilis</i>	0,645	0,002
	<i>B. megaterium</i>	0,767	0,001

Jam ke 6-12

Jam Ke- Bakteri		Salin	Non-Salin	Kontrol (A)
(6) 16.00	<i>B. subtilis</i>	0,052	0,052	0,000
AWAL	<i>B. megaterium</i>	0,058	0,055	0,001
(8) 19.00	<i>B. subtilis</i>	0,042	0,048	0,001

Jam Ke- Bakteri		Salin	Non-Salin	Kontrol (A)
TENGAH	<i>B. megaterium</i>	0,031	0,026	0,000
(12) 22.00	<i>B. subtilis</i>	0,028	0,035	0,002
AKHIR	<i>B. megaterium</i>	0,020	0,022	0,000

9. Analisa OD (*Optical Density*) bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* konsentrasi 100 ppm  
Jam ke 0-6

Jam Ke- Bakteri		OD (A)	Kontrol (A)
(0) 10.00	<i>B. subtilis</i>	0,043	0,001
	<i>B. megaterium</i>	0,028	0,001
(2) 12.00	<i>B. subtilis</i>	0,085	0,001
	<i>B. megaterium</i>	0,061	0,001
(4) 14.00	<i>B. subtilis</i>	0,395	0,002
	<i>B. megaterium</i>	0,302	0,002
(6) 16.00	<i>B. subtilis</i>	0,833	0,002
	<i>B. megaterium</i>	0,607	0,002

Jam ke 6-12

Jam Ke- Bakteri		Salin	Non-Salin	Kontrol (A)
(6) 16.00	<i>B. subtilis</i>	0,074	0,056	0,001
AWAL	<i>B. megaterium</i>	0,078	0,054	0,001
(8) 19.00	<i>B. subtilis</i>	0,056	0,042	0,001
TENGAH	<i>B. megaterium</i>	0,042	0,046	0,001
(12) 22.00	<i>B. subtilis</i>	0,045	0,028	0,001
AKHIR	<i>B. megaterium</i>	0,037	0,021	0,001

10. Analisa Kromium bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* konsentrasi 150 mg/L

Perlakuan	Kontrol	<i>Bacillus megaterium</i>		
		0	3	6
Salin	178,71	178,71	107,71	108,81
Non Salin	150,50	150,50	114,72	116,01
Hasil	Salin	0,00%	39,73%	39,11%
	Non Salin	0,00%	23,77%	22,92%
Perlakuan	Kontrol	<i>Bacillus subtilis</i>		
		0	3	6
Salin	178,71	178,71	102,17	104,20
Non Salin	150,50	150,50	110,47	103,47
Hasil	Salin	0,00%	42,83%	41,69%
	Non Salin	0,00%	26,60%	31,25%

11. Analisa Kromium bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* konsentrasi 175 mg/L

Perlakuan	Kontrol	<i>Bacillus megaterium</i>		
		0	3	6
Salin	213,76	213,76	168,39	178,34
Non Salin	192,18	192,18	166,91	174,47
Hasil	Salin	0,00%	21,22%	16,57%
	Non Salin	0,00%	13,15%	9,22%
Perlakuan	Kontrol	<i>Bacillus subtilis</i>		
		0	3	6
Salin	213,76	213,76	175,95	166,17
Non Salin	192,18	192,18	180,37	176,50
Hasil	Salin	0,00%	17,69%	22,26%
	Non Salin	0,00%	6,15%	8,16%

12. Analisa Kromium bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* konsentrasi 200 mg/L

Perlakuan	Kontrol	<i>Bacillus megaterium</i>		
		0	3	6
Salin	254,15	254,15	220,03	214,49
Non Salin	247,32	247,32	211,36	233,49
Hasil	Salin	0,00%	13,43%	15,60%
	Non Salin	0,00%	14,54%	5,59%
Perlakuan	Kontrol	<i>Bacillus subtilis</i>		
		0	3	6
Salin	254,15	254,15	224,45	224,82
Non Salin	247,32	247,32	207,48	222,42
Hasil	Salin	0,00%	11,69%	11,54%
	Non Salin	0,00%	16,11%	10,07%

13. Jumlah Koloni Bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* Konsentrasi 150 mg/L

<b>Bakteri</b>		<b>Awal</b>	
		<b>Salin (CFU/ml)</b>	<b>Non Salin (CFU/ml)</b>
<b>Pengenceran</b>			
<i>B. subtilis</i>	10 <sup>-7</sup>	2.570.000.000	1.660.000.000
	10 <sup>-8</sup>	16.200.000.000	14.500.000.000
	10 <sup>-9</sup>	114.000.000.000	109.000.000.000
		<b>Akhir</b>	
		<b>Salin</b>	<b>Non Salin</b>
	10 <sup>-7</sup>	1.710.000.000	2.880.000.000
	10 <sup>-8</sup>	8.000.000.000	25.100.000.000
10 <sup>-9</sup>	TSUD	176.000.000.000	
<b>Bakteri</b>		<b>Awal</b>	
<b>Pengenceran</b>		<b>Salin</b>	<b>Non Salin</b>
<i>B. megaterium</i>	10 <sup>-7</sup>	TBUD	1.560.000.000
	10 <sup>-8</sup>	23.500.000.000	13.600.000.000
	10 <sup>-9</sup>	101.000.000.000	73.000.000.000
		<b>Akhir</b>	
		<b>Salin</b>	<b>Non Salin</b>
	10 <sup>-7</sup>	1.690.000.000	1.450.000.000
	10 <sup>-8</sup>	8.300.000.000	4.200.000.000
10 <sup>-9</sup>	50.000.000.000	40.000.000.000	

Keterangan: TBUD: terlalu banyak untuk dihitung

TSUD: terlalu sedikit untuk dihitung

14. Jumlah Koloni Bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* Konsentrasi 75 mg/L

Bakteri		Awal	
		Salin (CFU/ml)	Non Salin (CFU/ml)
Pengenceran		Salin (CFU/ml)	Non Salin (CFU/ml)
<i>B. subtilis</i>	10 <sup>-7</sup>	1.900.000.000	1.650.000.000
	10 <sup>-8</sup>	12.000.000.000	7.500.000.000
	10 <sup>-9</sup>	TSUD	52.000.000.000
		Akhir	
		Salin	Non Salin
	10 <sup>-7</sup>	2.500.000.000	2.770.000.000
	10 <sup>-8</sup>	14.100.000.000	13.300.000.000
	10 <sup>-9</sup>	98.000.000.000	71.000.000.000
Bakteri		Awal	
Pengenceran		Salin	Non Salin
<i>B. megaterium</i>	10 <sup>-7</sup>	600.000.000	150.000.000
	10 <sup>-8</sup>	4.600.000.000	2.600.000.000
	10 <sup>-9</sup>	TSUD	TSUD
		Akhir	
		Salin	Non Salin
	10 <sup>-7</sup>	1.410.000.000	1.500.000.000
	10 <sup>-8</sup>	9.100.000.000	7.600.000.000
	10 <sup>-9</sup>	77.000.000.000	46.000.000.000

Keterangan: TSUD: terlalu sedikit untuk dihitung

15. Jumlah Koloni Bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* Konsentrasi 100 mg/L

Bakteri		Awal	
		Salin (CFU/ml)	Non Salin (CFU/ml)
Pengenceran		Salin	Non Salin
<i>B. subtilis</i>	$10^{-7}$	1.380.000.000	960.000.000
	$10^{-8}$	8.300.000.000	6.200.000.000
	$10^{-9}$	70.000.000.000	56.000.000.000
		Akhir	
		Salin	Non Salin
	$10^{-7}$	710.000.000	550.000.000
	$10^{-8}$	6.000.000.000	4.700.000.000
	$10^{-9}$	47.000.000.000	42.000.000.000
Bakteri		Awal	
Pengenceran		Salin	Non Salin
<i>B. megaterium</i>	$10^{-7}$	61.000.0000	480.000.000
	$10^{-8}$	4.000.000.000	2.800.000.000
	$10^{-9}$	21.000.000.000	12.000.000.000
		Akhir	
		Salin	Non Salin
	$10^{-7}$	1.180.000.000	1.670.000.000
	$10^{-8}$	9.700.000.000	6.000.000.000
	$10^{-9}$	55.000.000.000	45.000.000.000

16. Berat kering bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* konsentrasi 50 mg/L

<b>Berat Kering Bakteri (gr)</b>				
<b>Bakteri</b>	<b>Awal</b>		<b>Akhir</b>	
	<b>Salin</b>	<b>Non-Salin</b>	<b>Salin</b>	<b>Non-Salin</b>
<i>B. subtilis</i>	0,038	0,023	0,009	0,004
<i>B. megaterium</i>	0,023	0,009	0,015	0,009

17. Berat kering bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* Konsentrasi 75 mg/L

<b>Berat Kering Bakteri (gr)</b>				
<b>Bakteri</b>	<b>Awal</b>		<b>Akhir</b>	
	<b>Salin</b>	<b>Non-Salin</b>	<b>Salin</b>	<b>Non-Salin</b>
<i>B. subtilis</i>	0,014	0,006	0,005	0,007
<i>B. megaterium</i>	0,008	0,008	0,015	0,013

18. Berat kering bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* konsentrasi 100 mg/L

<b>Berat Kering Bakteri (gr)</b>				
<b>Bakteri</b>	<b>Awal</b>		<b>Akhir</b>	
	<b>Salin</b>	<b>Non-Salin</b>	<b>Salin</b>	<b>Non-Salin</b>
<i>B. subtilis</i>	0,002	0,002	0,001	0,003
<i>B. megaterium</i>	0,001	0,001	0,001	0,002

*Halaman ini sengaja dikosongkan*

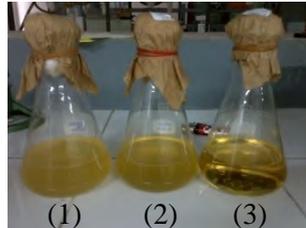
## LAMPIRAN B

### A. Dokumentasi Penelitian



Memasak media

### Uji Laju Pertumbuhan



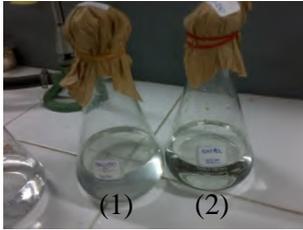
- (1) Bakteri *Bacillus megaterium*
- (2) Bakteri *Bacillus subtilis*
- (3) Kontrol (*Nutrient Broth*)



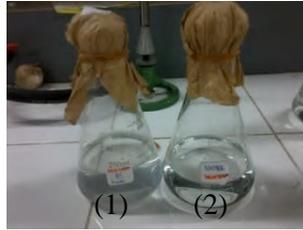
Bakteri *Bacillus subtilis*  
setelah di *centrifuge*



Bakteri *Bacillus megaterium*  
setelah di *centrifuge*



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



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



Bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* setelah pengenceran



Analisa pH dan suhu



Analisa berat kering saat di oven



Reaktor uji saat di *shaker*



Sampel Uji AAS

## B. Dokumentasi Hasil Penelitian

- Koloni bakteri *Bacillus subtilis* konsentrasi 50 mg/L perlakuan menggunakan larutan salin jam ke-6



Pengenceran 10<sup>-7</sup>



Pengenceran 10<sup>-8</sup>



Pengenceran 10<sup>-9</sup>

- Koloni bakteri *Bacillus subtilis* konsentrasi 50 mg/L perlakuan menggunakan larutan salin jam ke-12



Pengenceran 10<sup>-7</sup>



Pengenceran 10<sup>-8</sup>



Pengenceran 10<sup>-9</sup>

## C. Dokumentasi Alat dan Bahan

- **Alat Penelitian**

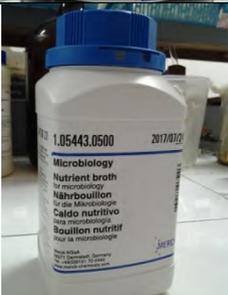
No,	Gambar	Keterangan
1		<p><i>Bacterial Colony</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Merek : Stuart</li> <li>• Asal dari : UK BY BIBBY STIRILIN, STD, STONE, STAFF ORDSHIRE, ST 15 OSA,</li> </ul>

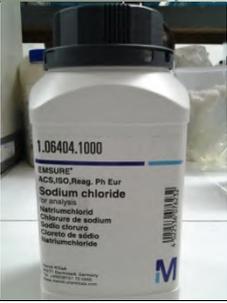
No,	Gambar	Keterangan
		UK <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cat No, : SC 06</li> <li>• Seri : R 000100053</li> <li>• Tegangan : 230 V – 50 Hz</li> <li>• Daya : 70 W</li> <li>• <i>Fuses</i> : F3,15 A</li> </ul>
2		<i>Incubator</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Asal dari : OGAWA SEIKI CO, LTD, Tokyo Central P,O BOX No, 1618 Tokyo Japan,</li> <li>• Tanggal Perolehan : 01-01-1981</li> </ul>
3		<i>Spectrophotometer</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Merek : Thermo Fisher Scientific</li> <li>• Dirakit di : USA, Conforma to Std, UL61010-1, Cert, to CAN/CSA Std, C2,2 No, 61010-1</li> <li>• Model : 4001/4</li> <li>• Cat : 4001-03</li> <li>• S/N : 356R 228003</li> <li>• Tegangan 100-240 V – 50/60 Hz</li> <li>• Amp, :1,0</li> </ul>

No,	Gambar	Keterangan
4		<p><i>Autoclave</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Merek : Hirayama</li> <li>• Tegangan : 50/60 Hz</li> <li>• Waktu : 60/70 menit</li> </ul>
5		<p><i>Centrifuge</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Merek : Jouan 44600 Saint-Nazaire</li> <li>• Asal dari : France par</li> <li>• Type : E-82</li> <li>• Tahun : 1982</li> <li>• V, Max, : 10,000 T/mn</li> <li>• Berat maks, : 4,6 kg</li> <li>• Ø Cuve : 320 mm</li> </ul>
6		<p><i>Digital Platform Shaker</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Asal dari : NEW BRUNSWICK SCIENTIFIC, CO., INC, Edison; New Jersey, USA,</li> <li>• Model : INNOVA 2050</li> <li>• Mfg No, : M1190-0012</li> <li>• No, Seri : 990424577</li> <li>• Tegangan : 230 V – 50/60 Hz</li> <li>• Phase : 1</li> <li>• VA : 35</li> </ul>

No,	Gambar	Keterangan
7		<p>Kompor Listrik</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Merek : Maspion</li> <li>• Asal dari : INDONESIA</li> <li>• Model : S-302</li> <li>• Tegangan : 220 V - 50 Hz</li> <li>• Daya : 600 W</li> <li>• No, : 30200449</li> </ul>
8		<p>pH meter (Alat Ukur <i>Universal</i>)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Merek : Eutech pH 510</li> <li>• Perolehan : 01-01-2003</li> </ul>
9		<p><i>Vacuum Pump</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Merek : Value</li> <li>• Model : VE 115 N</li> <li>• <i>Free Air Displacement</i> : 2,0 CFM</li> <li>• <i>Ultimate Vacuum</i> : 150 micron</li> <li>• Tegangan : 230 V~ - 50/60 Hz</li> <li>• <i>Power</i> : ¼ HP</li> <li>• <i>Oil Capacity</i> : 250 ml</li> </ul>

- **Bahan Penelitian**

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

No,	Gambar	Keterangan
3		<p><i>Nutrient Agar (NA)</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Merek : Merck</li> <li>• Asal dari : DARMSTADT, GERMANY 64271</li> </ul>
4		<p><i>Sodium chloride</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Merek : Merck</li> <li>• Asal dari : DARMSTADT, GERMANY 64271</li> </ul>

## BIODATA PENULIS



Penulis bernama lengkap Jayanti Rusyda lahir di Surabaya pada tanggal 11 Oktober 1991 merupakan anak kedua dari 2 bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan formal, yaitu TK Aisyiyah Bustanul Athfal 39 Surabaya, SD Muhammadiyah 4 Surabaya, SMP Negeri 30 Surabaya dan SMA Negeri 20 Surabaya. Penulis lulus SMA pada tahun 2010, kemudian melanjutkan kuliah di jurusan Teknik Lingkungan FTSP-ITS

Surabaya dan terdaftar dengan NRP. 3310100024. Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Teknik Lingkungan (HMTL) ITS pada periode 2011-2012 sebagai staff Departemen Seni dan Olahraga (SO) dan pada periode 2012-2013 sebagai kepala bidang seni Departemen SO. Penulis juga pernah terlibat dalam beberapa acara besar yang diadakan oleh HMTL, yaitu Lomba Inovasi Teknologi Lingkungan (LITL) pada tahun 2012 dan 2013, *Earth Week* pada tahun 2012 dan 2013, dll. Penulis juga pernah mengikuti kerja praktek di PT. Ecco Tannery Indonesia - Sidoarjo, Jawa Timur pada tahun 2013. Apabila ada kritik dan saran mengenai tentang tugas akhir penulis, dapat langsung mengirimkan email ke [jayanti.rusyda@yahoo.com](mailto:jayanti.rusyda@yahoo.com).

*Halaman ini sengaja dikosongkan*