

berkonsentrasi pada aktivitas metabolisme dengan mengonsumsi nutrisi. Aktivitas metabolisme tersebut berlangsung berdasarkan reaksi glikolisis. Reaksi glikolisis adalah reaksi pemecahan glukosa menjadi beberapa asam organik sebelum dirubah menjadi asam piruvat (Febrian dan Liliandini, 2009). Asam-asam organik inilah yang akan bereaksi dengan logam nikel menghasilkan ion nikel yang larut dalam air. Namun ion nikel tersebut dapat bereaksi lagi dengan asam organik membentuk endapan $\text{NiC}_6\text{H}_6\text{O}$ dan NiC_2O_4

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel tanah tambang dari PT. Weda Bay Nickel di Halmahera, Maluku Utara, isolat bakteri termofil *Bacillus licheniformis* 1A1, *nutrient agar* (Sigma Aldrich), *nutrient broth* (Sigma Aldrich), bakto-pepton, bakto-ekstrak ragi, NaCl, agar, akuades, NiSO₄.6H₂O, K₂HPO₄, KH₂PO₄, H₃BO₃, N₂B₄O₇.10H₂O, HNO₃, *plastic wrap*, *tissue*, kasa, *aluminium foil*, kapas, dan sabun.

3.2 Alat Penelitian

Adapun alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer Serapan Atom (Buck Scientific), spektronik 20 D+ (Thermo Digital), XRF (Thermo Scientific), *shaker incubator*, inkubator (Memmerth 40050-IP 20), *autoclave* (NAPCO 8000 DES), *sentrifuge*, *hotplate* (Maspion), neraca analitik, dan alat gelas yang umum digunakan di laboratorium.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan April hingga Desember 2019 di Laboratorium Kimia Fakultas Teknik Kimia Politeknik Negeri Ujung Pandang Makassar (preparasi sampel), Laboratorium Terpadu *Science Building* Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin (analisis XRF), Laboratorium Biokimia Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin (pembuatan medium dan optimasi pertumbuhan bakteri), Laboratorium Kimia Analitik Fakultas Matematika dan

Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin (pengukuran kadar Fe menggunakan SSA), dan Laboratorium Bioteknologi Pangan Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin (sentrifugasi).

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Preparasi Sampel

Sampel tanah dikeringkan dalam oven pada suhu 50 °C selama 3 hari atau sampai kering, kemudian tanah tersebut dihancurkan atau dihaluskan menggunakan mortar, kemudian diayak dengan menggunakan ayakan berukuran 100 mesh dan hasilnya berupa serbuk tanah yang digunakan untuk menentukan kandungan mineral dengan metode XRF dan sebagai bahan baku sumber logam (nikel) tak terlarut. Skema preparasi sampel dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.4.2 Pembuatan Buffer Fosfat 0,2 M (Sudarmadji, dkk., 1997)

3.4.2.1 Pembuatan Larutan KH_2PO_4 0,2 M

Kalium dihidrogen fosfat ditimbang sebanyak 13,9 g lalu dimasukkan ke dalam gelas kimia 1000 mL. Selanjutnya ditambahkan akuades sebanyak 500 mL. Kemudian dihomogenkan. Larutan yang diperoleh disebut larutan A.

3.4.2.2 Pembuatan Larutan K_2HPO_4 0,2 M

Dikalium hidrogen fosfat ditimbang sebanyak 26,3250 g lalu dimasukkan ke dalam gelas kimia 1000 mL. Selanjutnya ditambahkan akuades sebanyak 500 mL. Kemudian dihomogenkan. Larutan yang diperoleh disebut larutan B.

3.4.2.3 Pembuatan Buffer Fosfat 0,2 M pH 6

Larutan A sebanyak 87,7 mL dimasukkan ke dalam gelas kimia 250 mL. Lalu ditambahkan larutan B sebanyak 12,3 mL. Kemudian ditambahkan akuades

sebanyak 100 mL dan dihomogenkan. Pembuatan larutan buffer fosfat 0,2 M dapat dilihat pada Lampiran 6.

3.4.2.4 Pembuatan Buffer Fosfat 0,2 M pH 7

Larutan A sebanyak 39 mL dimasukkan ke dalam gelas kimia 250 mL. Lalu ditambahkan larutan B sebanyak 61 mL. Kemudian ditambahkan akuades sebanyak 100 mL dan dihomogenkan.

3.4.2.5 Pembuatan Buffer Fosfat 0,2 M pH 8

Larutan A sebanyak 5,3 mL dimasukkan ke dalam gelas kimia 250 mL. Lalu ditambahkan larutan B sebanyak 94,7 mL. Kemudian ditambahkan akuades sebanyak 100 mL dan dihomogenkan.

3.4.3 Pembuatan Buffer Borat-Boraks 0,2 M pH 9 (Sudarmadji, dkk., 1997)

Larutan H_3BO_3 0,2 M dipipet sebanyak 50 mL kemudian ditambahkan larutan $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 0,05 M sebanyak 59 mL lalu diencerkan dengan akuades hingga volume campuran mencapai 200 mL kemudian homogenkan. Pembuatan buffer borat-boraks 0,2 M dapat dilihat pada Lampiran 7.

3.4.4 Pembuatan Medium

3.4.4.1 Pembuatan Medium Agar Miring

Campuran 2% bakto-pepton, 1% bakto-ekstrak ragi, 1% NaCl dan 2% agar dilarutkan dalam akuades. Campuran medium agar tersebut dipanaskan sampai larut dan diatur pH 7. Kemudian campuran tersebut dimasukkan kedalam tabung reaksi serta disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C tekanan 2 atm selama 15 menit setelah itu didinginkan dalam keadaan miring (Arfah, 2016).

3.4.4.2 Pembuatan Medium Padat di Cawan Petri

Nutrient agar ditimbang sebanyak 1 g, kemudian ditambahkan sampel serbuk tanah sebanyak 0,5 g yang telah dihaluskan dan ditambahkan larutan Ni (II) 100 mg/L sebanyak 1,5 mL lalu ditambahkan dengan buffer fosfat 0,2 M pH 6 hingga volume mencapai 50 mL dalam gelas kimia, kemudian dipanaskan sambil diaduk menggunakan batang pengaduk sampai homogen selanjutnya ditutup dengan menggunakan penutup kapas yang dibungkus kasa lalu dibungkus dengan *plastic wrap* dan *aluminium foil* setelah itu disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Kemudian campuran tersebut dimasukkan 15 mL ke dalam cawan petri yang telah disterilisasi terlebih dahulu secara aseptis, tutup cawan petri dan didinginkan pada suhu kamar hingga memadat. Diulangi prosedur di atas dengan mengganti buffer fosfat 0,2 M pH 6 menjadi pH 7, 8 dan 9 (Isa dan Retnowati, 2013; Alnaimat, dkk., 2017 yang dimodifikasi).

3.4.4.3 Pembuatan Medium Inokulum

Nutrient broth ditimbang sebanyak 1 g, sampel serbuk tanah sebanyak 0,5 g dan larutan Ni (II) 100 mg/L sebanyak 1,5 mL selanjutnya ditambahkan dengan buffer fosfat 0,2 M pH 6 hingga volume mencapai 50 mL, kemudian dipanaskan sambil diaduk menggunakan batang pengaduk sampai homogen kemudian ditutup dengan menggunakan penutup kapas yang dibungkus kasa lalu dibungkus dengan *plastic wrap* dan *aluminium foil* setelah itu diautoklaf selama 15 menit dengan tekanan 2 atm dan suhu 121 °C. Diulangi prosedur di atas dengan mengganti buffer fosfat 0,2 M pH 6 menjadi pH 7, 8 dan 9 (Alnaimat dkk., 2017 yang dimodifikasi).

3.4.4.4 Pembuatan Medium Produksi

Nutrient broth ditimbang sebanyak 4 g, sampel serbuk tanah sebanyak 2 g dan larutan Ni (II) 100 mg/L sebanyak 6 mL selanjutnya ditambahkan dengan buffer fosfat 0,2 M pH 6 hingga volume mencapai 200 mL, kemudian dipanaskan sambil diaduk menggunakan batang pengaduk sampai homogen kemudian ditutup dengan menggunakan penutup kapas yang dibungkus kasa lalu dibungkus dengan *plastic wrap* dan *aluminium foil* setelah itu diautoklaf selama 15 menit dengan tekanan 2 atm dan suhu 121 °C. Diulangi prosedur di atas dengan mengganti buffer fosfat 0,2 M pH 6 menjadi pH 7, 8 dan 9 (Alnaimat dkk., 2017).

3.4.5 Penentuan Kandungan Mineral pada Sampel Tanah Tambang dengan Metode XRF

Sampel serbuk tanah yang telah kering dimasukkan ke dalam *sample holder* kemudian sampel diradiasi dengan sinar X. Data yang diperoleh berupa kandungan mineral dalam sampel serbuk tanah (Alimin dkk., 2016).

3.4.6 Peremajaan Isolat Bakteri

Isolat bakteri termofil *Bacillus licheniformis* 1A1 digoreskan 2-3 ose pada medium agar miring kemudian diinkubasi pada suhu 50°C selama ±10 jam (Soeka, 2015).

3.4.7 Pertumbuhan Isolat Bakteri Termofil *Bacillus licheniformis* 1A1 pada Medium Cawan Petri

Isolat bakteri termofil *Bacillus licheniformis* 1A1 yang sudah diremajakan pada medium agar miring, digoreskan 2-3 ose pada medium cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 50°C selama 1 x 24 jam (Alnaimat dkk., 2017).

3.4.8 Optimasi Pertumbuhan Bakteri Termofil *Bacillus licheniformis* 1A1 untuk Ekstraksi Logam Mn Tak Terlarut menjadi Terlarut dengan Proses *Bioleaching*

Optimasi pertumbuhan isolat bakteri termofil *Bacillus licheniformis* 1A1 untuk ekstraksi logam Ni tak terlarut menjadi terlarut dengan proses *bioleaching* dilakukan dalam tiga variabel yaitu: 1. Penentuan pH optimum, 2. Penentuan suhu optimum, dan 3. Penentuan waktu pertumbuhan optimum.

3.4.8.1 Penentuan pH Optimum

Optimasi pH dilakukan dalam medium inokulum kemudian dilanjutkan dalam medium produksi. Variasi pH medium yang digunakan adalah pH 6, pH 7, pH 8 dan pH 9. Selanjutnya isolat yang sudah ditumbuhkan pada medium cawan petri diinokulasi ke dalam medium inokulum pH 6 dengan cara menggores isolat bakteri dalam cawan petri secara aseptik kemudian dimasukkan ke dalam medium inokulum dan diinkubasi dalam *shaker incubator* selama 24 jam pada suhu 50 °C dengan kecepatan 150 rpm. Selanjutnya 10 % inokulum aktif dimasukkan ke dalam medium produksi pH 6 secara aseptik dan diinkubasi kembali dalam *shaker incubator* selama 24 jam pada suhu 50 °C dengan kecepatan 150 rpm. Selanjutnya medium produksi tersebut diambil sebanyak 20 mL untuk diukur *optical density* (OD) dengan menggunakan spektrometri 20 D+ pada panjang gelombang 660 nm, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3.500 rpm selama 30 menit. Supernatan dari medium produksi diambil untuk ditentukan kadar logam mangan terlarut dengan menggunakan spektrofotometer serapan atom (SSA). Diulangi prosedur di atas dengan mengganti pH medium dengan pH 7, pH 8 dan pH 9 (Alnaimat dkk., 2017 yang dimodifikasi).

3.4.8.2 Penentuan Suhu Optimum

Optimasi suhu menggunakan medium produksi dengan pH optimum (pH 8) . Suhu yang digunakan yaitu suhu 40 °C; 45 °C, 50 °C; dan 55 °C. Selanjutnya isolat yang sudah ditumbuhkan pada medium cawan petri yang berumur 24 jam diinokulasi ke dalam medium inokulum dengan cara menggores isolat bakteri dalam cawan petri secara aseptik kemudian dimasukkan ke dalam medium inokulum dan diinkubasi dalam *shaker incubator* selama 24 jam pada suhu 40 °C dengan kecepatan 150 rpm. Kemudian 10 % inokulum aktif dimasukkan ke dalam medium produksi secara aseptik dan diinkubasi kembali dalam *shaker incubator* pada suhu 40 °C dengan kecepatan 150 rpm selama 24 jam. Kemudian medium produksi tersebut diambil sebanyak 20 mL untuk diukur *optical density* (OD) dengan menggunakan spektronik 20 D+ pada panjang gelombang 660 nm, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3.500 rpm selama 30 menit. Supernatan diambil untuk ditentukan kadar logam mangan terlarut dengan menggunakan spektrofotometer serapan atom (SSA). Diulangi prosedur di atas dengan mengganti perlakuan suhu menjadi 45 °C, 50 °C; dan 55 °C (Arfah, 2016; Alnaimat dkk., 2017 yang dimodifikasi).

3.4.8.3 Penentuan Waktu Pertumbuhan Optimum

Optimasi waktu pertumbuhan isolat bakteri termofil *Bacillus licheniformis* 1A1 untuk proses *bioleaching* menggunakan medium produksi dengan pH optimum (pH 8) dan suhu optimum (50 °C). Selanjutnya isolat yang sudah ditumbuhkan pada medium cawan petri yang telah berumur 24 jam, diinokulasi ke dalam medium inokulum pH 8 dengan cara menggores isolat bakteri dalam cawan petri secara aseptik kemudian dimasukkan ke dalam medium inokulum dan

diinkubasi dalam *shaker incubator* selama 24 jam pada suhu 50 °C dengan kecepatan 150 rpm. Kemudian 10 % inokulum aktif dimasukkan ke dalam medium produksi pada pH 8 dan suhu 50 °C secara aseptik dan diinkubasi kembali dalam *shaker incubator* selama 24 jam dimana setiap empat jam dilakukan pengambilan sampel kultur sebanyak 10 mL kemudian diukur *optical density* menggunakan spektroskopik 20 D+ pada panjang gelombang 660 nm, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3.500 rpm selama 30 menit. Supernatan diambil untuk ditentukan kadar logam mangan terlarut dengan menggunakan spektrofotometer serapan atom (SSA) (Alnaimat dkk., 2017 dimodifikasi).

3.4.9 Penentuan Konsentrasi Nikel Terlarut Hasil *Bioleaching* menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom

3.4.9.1 Pembuatan Larutan Induk Ni (II) 1000 ppm

Nikel (II) sulfat heksa hidrat ($\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ditimbang sebanyak 0,4478 g dan dimasukkan ke dalam gelas kimia 50 mL lalu dilarutkan dengan akuades, kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL, dihindarkan volumenya dengan akuades hingga tanda batas lalu dihomogenkan (Zajac dkk., 2010).

3.4.9.2 Pembuatan Larutan Standar Ni (II) 100 mg/L

Larutan induk Ni(II) 1000 mg/L dipipet ke dalam labu ukur 100 mL sebanyak 10 mL, kemudian dihindarkan dengan akuades hingga tanda batas.

3.4.9.3 Pembuatan Larutan Deret Standar dan Penentuan Kurva Kalibrasi

Larutan induk Ni(II) 100 mg/L dipipet ke dalam labu ukur 10 mL berturut-turut sebanyak 0,25 mL; 0,5 mL; 1,0 mL; 2,0 mL, 4,0 mL, dan 8,0 mL.. Kemudian larutan tersebut ditambahkan larutan HNO_3 0,01 N hingga tanda batas dan dihomogenkan sehingga diperoleh larutan deret standar 0,25 mg/L, 0,5 mg/L,

1 mg/L, 2 mg/L, 4 mg/L, dan 8 mg/L. Masing-masing larutan tersebut kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer serapan atom (SSA).

3.4.9.4 Penentuan Konsentrasi Nikel Terlarut pada Medium Cair Sebelum Melalui Proses *Bioleaching* menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)

Supernatan medium cair sebelum melalui proses *bioleaching* sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian larutan tersebut ditambahkan larutan HNO₃ 0,01 N hingga tanda batas dan dihomogenkan. Selanjutnya, diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer serapan atom (SSA) (AOAC International, 1990 yang dimodifikasi).

3.4.9.5 Penentuan Konsentrasi Nikel Terlarut pada Medium Cair setelah melalui Proses *Bioleaching* menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)

Supernatan medium cair setelah melalui proses *bioleaching* sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian larutan tersebut ditambahkan larutan HNO₃ 0,01 N hingga tanda batas dan dihomogenkan. Selanjutnya, diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer serapan atom (SSA) (AOAC International, 1990 yang dimodifikasi).

3.4.10 Perhitungan Konsentrasi Logam Nikel Terlarut Hasil *Bioleaching*

$$[\text{Ni}]_{\text{bioleaching}} = [\text{Ni}]_{\text{setelah bioleaching}} - [\text{Ni}]_{\text{sebelum bioleaching}}$$

Keterangan:

$[\text{Ni}]_{\text{setelah bioleaching}}$ = konsentrasi nikel terlarut pada medium produksi cair
(medium setelah proses *bioleaching*)

$[\text{Ni}]_{\text{sebelum bioleaching}}$ = konsentrasi nikel terlarut pada medium awal (medium produksi cair sebelum ditambahkan bakteri *Bacillus licheniformis*)

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bab ini membahas tentang hasil penelitian yang berhubungan dengan *bioleaching* logam Ni tak terlarut menjadi terlarut menggunakan isolat bakteri termofil *Bacillus licheniformis* 1A1. Sebelum digunakan untuk *bioleaching*, konsentrasi logam Ni pada medium awal ditentukan. Penentuan konsentrasi logam Ni dilakukan setelah mencari pH, suhu dan waktu pertumbuhan optimum. Analisis kadar logam Ni dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometri Serapan Atom (SSA).

4.1 Mineral yang Terkandung pada Sampel Tanah Tambang dengan menggunakan Metode XRF

Sampel tanah yang telah melalui tahap pengeringan, penghalusan dan pengayakan menggunakan ayakan 100 mesh sehingga diperoleh sampel serbuk tanah, memiliki tekstur yang halus dan warna kecoklatan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Sampel Serbuk Tanah

Analisis kandungan mineral pada sampel serbuk tanah menggunakan instrument XRF menunjukkan bahwa Berdasarkan hasil analisis XRF dapat dilihat

bahwa sampel serbuk tanah mengandung Ni sebesar 7,41% dan NiO 9,43% yang menunjukkan bahwa tanah yang digunakan sebagai sampel benar mengandung Ni. Sedangkan, kandungan mineral lainnya yang terdapat dalam sampel tanah dapat dilihat pada Lampiran 5.

X-ray Fluorescence yang digunakan pada penelitian kami yaitu XRF Thermo Fisher Scientific menghasilkan kandungan NiO (Nikel oksida) atau biasa disebut dengan mineral bunsenite. Nikel oksida muncul sebagai kristal kubik hijau-hitam tidak berbau (kuning saat panas) atau bubuk hijau Titik leleh bunsenite 1995 °C. Kelarutan bunsenite di dalam air yaitu sukar larut dan larut pada larutan asam seperti KCN dan ammonium hidroksida (Pubchem, 2005).

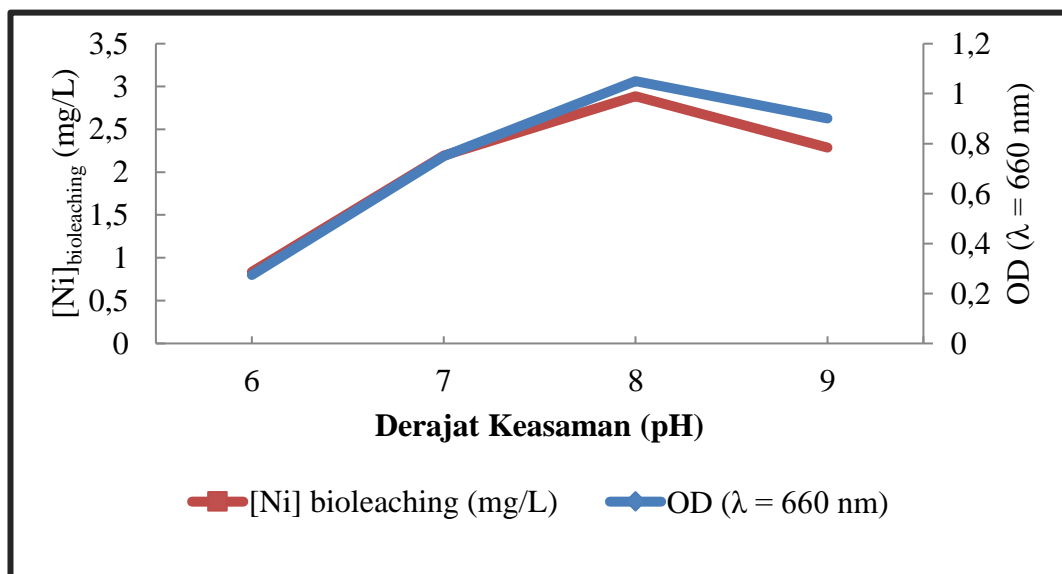
4.2 Optimasi Pertumbuhan Bakteri *Bacillus licheniformis* untuk Ekstraksi Logam Ni tidak Terlarut menjadi Terlarut pada Proses *Bioleaching* berdasarkan pengaruh pH, Suhu dan Waktu pertumbuhan.

Pada penelitian ini proses *bioleaching* logam Ni digunakan isolat bakteri *Bacillus licheniformis* hasil isolasi bakteri termofil penghasil α -amilase dari sampel air yang diperoleh dari sumber air panas Teluk Jailolo Maluku Utara, yang telah ditumbuhkan pada suhu 50 °C (Lestari, 2018). Isolat bakteri *Bacillus licheniformis* tersebut kemudian diremajakan selama ± 10 jam terlihat pada lampiran 13. Penelitian ini dilakukan beberapa variasi perlakuan yang berbeda agar hasil yang diperoleh dapat dibandingkan satu sama lain. Perlakuan tersebut meliputi variasi derajat keasaman (pH), suhu dan waktu pertumbuhan yang berbeda-beda.

4.2.1 pH optimum *bioleaching* logam Ni

Isolat bakteri *bacillus licheniformis* kemudian di tumbuhkan dengan variasi derajat keasaman (pH) dapat dilihat pada Gambar 13. Derajat keasaman

(pH) merupakan salah satu faktor penting yang mempengaruhi proses *bioleaching* logam Ni tak terlarut menjadi terlarut. Dalam penelitian ini pH yang digunakan yaitu pH 6; 7; 8 dan 9 dimana pH yang diinginkan diperoleh dengan menambahkan *buffer* fosfat 0,2 M dan *buffer* borat-boraks 0,2 M. Penambahan *buffer* dimaksudkan untuk mempertahankan kondisi pH sesuai dengan besaran yang diinginkan. Pertumbuhan isolat bakteri *Bacillus licheniformis* 1A1 pada berbagai pH dapat diketahui dengan mengukur nilai OD menggunakan instrumen spektrometri 20 D+ pada panjang gelombang 660 nm. Data hasil pengukuran OD dapat dilihat pada Gambar 4. Data selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 10.



Gambar 4. Pengaruh pH terhadap pertumbuhan isolat bakteri termofilik *Bacillus licheniformis* 1A1 (Nilai OD) dan konsentrasi logam Ni (mg/L) dengan kondisi suhu 50 °C dan kecepatan agitasi 150 rpm selama 1 x 24 jam

Berdasarkan data hasil pada Gambar 4 menunjukkan bahwa *optical density* (OD) dan kadar logam nikel meningkat dengan bertambah tingginya pH. Ilyas dkk. 2010 menjelaskan bahwa semakin banyak jumlah sel bakteri hidup yang

terdapat dalam medium maka aktivitas bakteri dalam proses *bioleaching* suatu logam semakin tinggi dimana menghasilkan kadar logam hasil *bioleaching* yang semakin tinggi pula. Pada pH 6, konsentrasi logam nikel hasil *bioleaching* oleh bakteri *Bacillus licheniformis* yaitu sebesar 0,8360 mg/L, pada pH 7 sebesar 2,1924 mg/L dan mencapai optimum pada pH 8 yaitu 2,8864 mg/L serta pada pH 9 yaitu 2,2871 mg/L.

Hasil penelitian ini menunjukkan telah terjadi penurunan pH dengan berjalannya waktu yang mengindikasikan berlangsungnya pembentukan asam oleh aktivitas isolat bakteri termofil *Bacillus licheniformis* 1A1. Hasil pengukuran menunjukkan kondisi pada pH awal medium adalah pH 8 dan setelah proses *bioleaching* pH medium mengalami penurunan menjadi pH 6. Hal ini terjadi pula pada penelitian yang telah dilakukan oleh Mubarak dkk (2016), melaporkan terjadinya penurunan pH pada *bioleaching* nikel dari biji limonit pulau GAG menggunakan bakteri mixotrof dimana pH awal medium mempunyai nilai pH 4,9 menjadi pH 4. Hasil penelitian menunjukkan telah terjadi penurunan pH dengan berjalannya waktu, yang mengindikasikan berlangsungnya pembentukan asam oleh aktivitas bakteri. Penurunan pH yang signifikan terjadi karena medium mengandung nutrisi yang di butuhkan oleh bakteri untuk melakukan aktivitas metabolisme.

Tabel 2. Beberapa hasil penelitian mengenai optimasi pH pada proses *bioleaching* logam Ni menggunakan bakteri

No	Bakteri	Sampel	pH	Kadar [Ni] <i>bioleaching</i>	Sumber
1.	<i>Aspergillus foetidus</i>	Mineral Laterit	3,8	30 %	Tang dkk., 2006
2.	<i>Alicyclobacillus ferrooxidans</i> , <i>Bacillus mucilaginosus</i> dan <i>Pseudomonas putida</i>	Bijih nikel laterit tipe limonit	4,9	30,34 %	Mubarok dkk., 2016
3.	Isolat <i>Bacillus licheniformis</i> 1A1	Tanah Pertambangan	8	2,8865 mg/L (18,7%)	Hasil penelitian ini

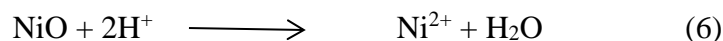
Berdasarkan beberapa hasil penelitian dari Tabel 2, menunjukkan bahwa pH mempengaruhi aktivitas bakteri dalam proses *bioleaching* logam Ni dimana tiap bakteri menghasilkan kadar logam Ni yang berbeda. Tiap mikroorganisme memiliki mekanisme proses *bioleaching* yang berbeda. Namun, pada umumnya mikroorganisme dalam proses *bioleaching* menghasilkan asam untuk membebaskan ion logam dari senyawa pengikatnya (Mallick dan Rai, 1993). Jenis asam organik yang dihasilkan dari proses metabolisme mikroorganisme sangat berpengaruh terhadap besarnya konsentrasi ion nikel yang terekstraksi. Selama hidupnya semua jenis mikroorganisme akan melakukan metabolisme untuk mempertahankan pertumbuhannya (Kurniawan, dkk., 2018).

Terjadi reaksi glikolisis pada aktivitas metabolisme yang dilakukan oleh bakteri. Glikolisis adalah proses pemecahan glukosa menjadi asam piruvat yang terjadi dalam sitosol semua sel dengan tujuan untuk menghasilkan energi (ATP). Dalam hal ini glukosa sebagai sumber karbon berasal dari medium nutrisi

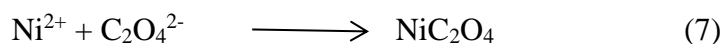
(*nutrient broth*) yang ikut diumpangkan bersama isolat bakteri *Bacillus licheniformis* (Kurniawan dkk, 2010).

Asam piruvat yang dihasilkan dari proses glikolisis selanjutnya akan dikonversi oleh mikroorganisme menjadi senyawa asam organik, seperti asam asetat, asam oksalat dan asam sitrat. Asam organik inilah yang melarutkan logam menuju fasa cair. Pelarutan logam umumnya ditentukan oleh faktor konsentrasi dan kereaktifan asam. Semakin meningkat konsentrasi asam organik maka semakin meningkat jumlah proton yang dapat dilepas, sehingga intensitas penyerangan proton terhadap ikatan logam semakin meningkat pula. Hal ini mengakibatkan jumlah logam yang dileaching akan semakin besar organik (Kurniawan dkk, 2010).

Pada saat logam mengalami pelarutan, maka reaksi yang berlangsung adalah difusi, dimana driving forcenya adalah perbedaan konsentrasi logam. Reaksi ini merupakan reaksi antara atom-atom pada lapisan permukaan kristal logam dengan larutan asam organik reaktif yang berada di luar kristal. Hasilnya, pada permukaan logam terjadi penyingkiran atom logam penyusun dan kemudian masuk ke dalam larutan asam organik. Selanjutnya di dalam lapisan logam akan mencari kesetimbangan baru dan pada bagian larutan akan terjadi peningkatan konsentrasi atom (ion logam) (Kurniawan dkk, 2010). Adapun reaksi yang memungkinkan terjadi dalam proses *bioleaching* pada penelitian ini adalah mekanisme asidolisis yang dijelaskan oleh Malligan (2001) dalam Okoh (2018) dimana pada proses ini oksigen yang mengelilingi permukaan logam akan menarik proton (H^+) yang berasal dari asam organik, misalnya asam oksalat. Sehingga oksigen dan proton (H^+) berikatan membentuk air dan terlepas dari permukaan logam.

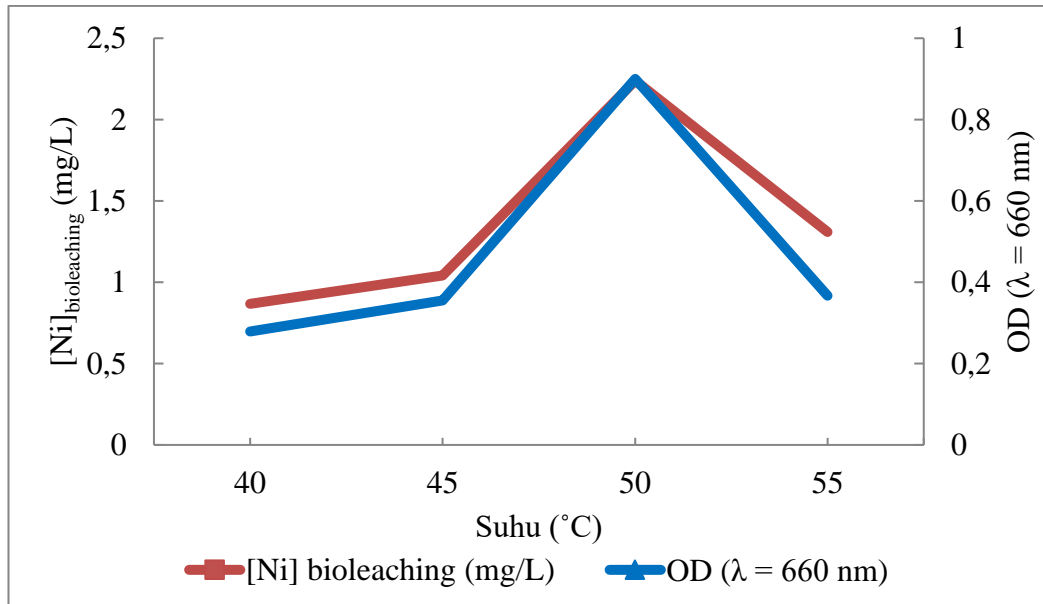


Ion Ni^{2+} kemudian berikatan dengan ion oksalat membentuk senyawa nikel (II) oksalat yang memiliki sifat mudah larut. Persamaan reaksinya dapat dilihat pada persamaan 7:



4.2.2 Suhu optimum *bioleaching* logam Ni

Setiap mikroorganisme termasuk bakteri mempunyai respon yang berbeda terhadap lingkungannya, masing-masing isolat bakteri menunjukkan perbedaan suhu optimal. Suhu merupakan salah satu variabel penting pada proses *bioleaching*. Tiap mikroba memiliki bentuk adaptasi tersendiri terhadap suhu. Adapun mikroba yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri termofilik *Bacillus licheniformis* 1A1 dimana tergolong kedalam bakteri termofilik. Bakteri termofilik adalah bakteri yang dapat tumbuh optimum pada lingkungan yang memiliki suhu 50-60 °C (Gupta dkk., 2014). Dalam penelitian ini suhu yang digunakan yaitu 40; 45; 50; dan 55 °C. Pengukuran pertumbuhan bakteri diukur nilai OD menggunakan instrumen spektrometri 20 D+ pada panjang gelombang 660 nm. Hasil data pengukuran nilai OD dapat dilihat pada Gambar 5. Data selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 11.



Gambar 5. Pengaruh suhu terhadap pertumbuhan isolat bakteri termofilik *Bacillus licheniformis* 1A1 (Nilai OD) dan konsentrasi logam Ni (mg/L) dengan kondisi pH optimum (pH 8) dan kecepatan agitasi 150 rpm selama 1x24 jam

Berdasarkan Gambar 5 dapat dilihat bahwa OD paling tinggi dihasilkan oleh suhu 50 °C yaitu 0,900, sedangkan suhu 40 °C yaitu 0,278, suhu 45 °C yaitu 0,355 dan suhu 55 °C yaitu 0,367 pengaruh suhu pada proses *bioleaching* logam Ni dengan konsentrasi logam Ni paling tinggi dihasilkan pada suhu 50 °C yaitu 2,2397 mg/L. Konsentrasi ini merupakan konsentrasi logam Ni tertinggi yang diperoleh dibandingkan variasi suhu yang lainnya. Sedangkan konsentrasi logam Ni pada suhu 40 °C yaitu 0,8675 mg/L, suhu 45 °C yaitu 1,0410 mg/L dan suhu 55 °C yaitu 1,3091 mg/L.

Data pada Gambar 5 menunjukkan bahwa hubungan antara nilai OD dengan konsentrasi $Ni_{bioleaching}$ adalah berbanding lurus dimana semakin besar nilai OD maka konsentrasi $Ni_{bioleaching}$ juga semakin besar atau bertambah. Ilyas dkk. 2010 menjelaskan bahwa semakin banyak jumlah sel bakteri hidup yang terdapat dalam medium maka aktivitas bakteri dalam proses *bioleaching* suatu

logam semakin tinggi dimana menghasilkan kadar logam hasil *bioleaching* yang semakin tinggi pula.

Tabel 3. Beberapa hasil penelitian mengenai optimasi Suhu pada proses *bioleaching* logam Ni menggunakan bakteri

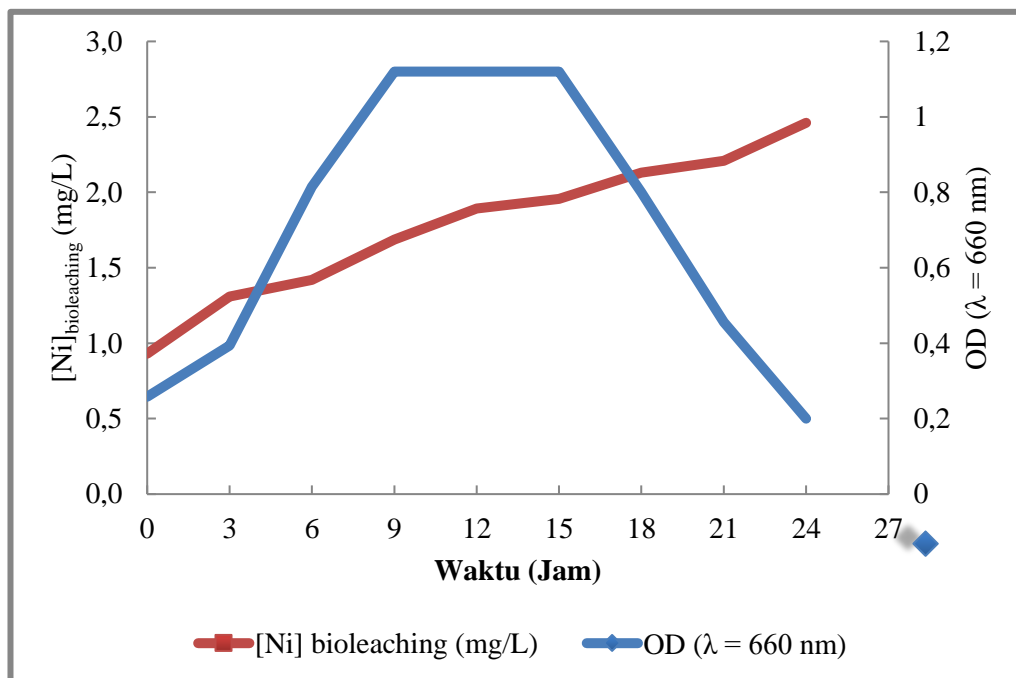
No	Bakteri / Jamur	Sampel	pH	Kadar [Ni] _{bioleaching}	Sumber
1.	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Mineral Nikel Oksida	37 °C	4.26 mg/L	Kurniawan (2018)
2.	<i>Aspergillus niger</i>	Mineral Nikel Oksida	37 °C	3,41 mg/L	Kurniawan (2018)
3.	Isolat <i>Bacillus licheniformis</i> 1A1	Tanah Pertambangan	50 °C	2,2397 mg/L	Hasil penelitian ini

Pada umumnya proses pelarutan dipengaruhi oleh temperatur, dimana semakin tinggi temperatur maka pelarutan dari padatan ke dalam fasa cair (medium) juga akan semakin besar. Selain itu, setiap mikroorganisme juga mempunyai karakteristik tersendiri terhadap kondisi lingkungan yang sesuai untuk kelangsungan hidupnya. Oleh karena itu penentuan temperatur *bioleaching* sebaiknya disesuaikan dengan kondisi pertumbuhan optimum dari mikroorganisme yang digunakan agar didapatkan konsentrasi logam yang maksimal.

4.2.3 Waktu pertumbuhan optimum *bioleaching* logam Ni

Waktu merupakan hal yang paling penting dalam proses *bioleaching* hal ini dikarenakan mikroorganisme memerlukan waktu untuk menghasilkan dan melarutkan logam nikel. optimum Masing-masing bakteri dapat tumbuh dengan

optimum dalam waktu tertentu. Pertumbuhan sel ini dapat dilihat menggunakan metode tidak langsung melalui kekeruhan dengan menggunakan alat spektrofotometer *visible* dimana akan didapatkan nilai *optical density* (OD). Nilai OD ini dinyatakan sebagai jumlah massa sel bakteri. Pada penelitian ini pertumbuhan bakteri dilakukan dengan variasi waktu menggunakan pH 8 sebagai pH optimum dan suhu 50 °C. Hasil data pengukuran nilai OD dapat dilihat pada Gambar 6. Data selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 12.



Gambar 6. Grafik pengaruh waktu inkubasi terhadap pertumbuhan isolat bakteri *Bacillus licheniformis* 1A1 (Nilai OD) dan konsentrasi logam Ni dengan kondisi pH optimum (pH 8), suhu optimum (50 °C), dan kecepatan agitasi 150 rpm selama 24 jam

Berdasarkan data yang diperoleh pada Gambar 6 dapat diketahui bahwa fase pertumbuhan pada jam ke-0 sampai jam ke-6 terjadi fase eksponensial (*log Phase*). Dimana konsentrasi logam Ni_{bioleaching} yaitu 0,9306 mg/L; 1,3091 mg/L; 1,4196 mg/L. Pada fase ini, sel-sel bakteri sangat aktif membelah

serta periode pertumbuhan berlangsung cepat. Variasi derajat pertumbuhan bakteri pada fase eksponensial ini sangat dipengaruhi oleh sifat genetik yang diturunkannya. Selain itu, derajat pertumbuhan juga dipengaruhi oleh kadar nutrisi dalam media, suhu inkubasi, kondisi pH dan aerasi.

Pertumbuhan bakteri melambat ketika memasuki fase stasioner yaitu mulai pada jam ke-9 sampai dengan jam ke-15. Dimana konsentrasi logam $Ni_{bioleaching}$ yaitu 1,3091 mg/L; 1,4196 mg/L; dan 1,9558. Fase stasioner terjadi pada saat laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya, sehingga jumlah bakteri keseluruhan tetap. Keseimbangan jumlah keseluruhan bakteri ini terjadi karena adanya pengurangan derajat pembelahan sel. Fase tersebut disebabkan kadar glukosa dan nutrisi yang semakin berkurang, terjadi akumulasi produk toksik sehingga mengganggu pembelahan sel, serta terjadinya produk samping dari *bioleaching* yang tidak terkait dengan pertumbuhan dan produktivitas bakteri, Fase kematian terjadi ketika memasuki jam ke-18 sampai jam ke-24 fase dimana laju kematian lebih besar. Dimana konsentrasi logam $Ni_{bioleaching}$ yaitu 2,1294 mg/L, 2,2082 mg/L dan 2,4606 mg/L.

Berdasarkan Gambar 6 konsentrasi logam meningkat dengan lamanya waktu *bioleaching* hal ini sesuai dengan teori bahwa semakin lama waktu *bioleaching*, konsentrasi logam yang terkandung di dalam sampel juga semakin besar. Lama waktu *bioleaching* akan sangat berpengaruh pada pertumbuhan dan aktivitas metabolisme mikroorganisme. Tentu saja hal ini akan berdampak pada perolehan hasil akhir *bioleaching*, yaitu nilai konsentrasi logam yang terkandung dalam sampel akan semakin meningkat.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa bakteri isolat bakteri termofilik *Bacillus licheniformis* 1A1 dapat digunakan sebagai sumber bakteri dalam proses *bioleaching* suatu logam. Dimana pH, suhu, dan waktu inkubasi optimum dalam proses *bioleaching* logam Ni tidak terlarut menjadi terlarut menggunakan isolat bakteri termofilik *Bacillus licheniformis* 1A1 pada tanah tambang adalah pH 8, suhu 50 °C dan 24 jam dengan konsentrasi Ni_{bioleaching} tertinggi sebesar 2,4606 mg/L.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dan untuk mengembangkan hasil penelitian, maka perlu dilakukan penelitian lanjutan antara lain, penggunaan bakteri lain dan variasi pH, suhu dan waktu pertumbuhan berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Alnaimat, S., Shattal, S.A., Althunibat, O., Alsbou, E., dan Amasha, R., 2017, Iron (II) and Other Heavy-Metal Tolernce in Bacteria Isolated from Rock Varnish in the Arid Region of Al-Jafer Basin, Jordan, *Biodiversitas*, **18**(3): 1250-1257.
- Stewart, C., 2012, *Nickel Ore Shipment To China*. INSIGHT No. 16. China.
- Arfah, R. A., 2016, *Isolasi, Pemurnian, dan Karakterisasi Enzim α -Amilase dari Bakteri Termofil Sumber Air Panas Lejja Sulawesi Selatan dan Aplikasi dalam Hidrolisis Pati Sagu Menjadi Maltodekstrin*, Disertasi tidak diterbitkan, Sekolah Pascasarjana, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Ariesta, R. 2013, *Jumlah Bakteri Pada Media Nutrient Agar dengan Pematik Swallow Globe Putih dan Bacto-Agar dengan Variasi Konsentrasi Metode Tuang*, Program Studi DIII Analis Kesehatan Univesitas Muhammadiyah Semarang, Semarang.
- Astuti, Widi., Khodijah, Siti, Chaerun., Zaki, M, Mubarak., 2011, *Prospek Fungal Biorecovery untuk Pengolahan Bijih Nikel Laterit di Indonesia*, Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Atlas, R. M. and Bartha, R. 1993. *Microbial Ecology Fundamentals And Applications*. Benjamin Cummings Publishing Company Inc., California : 65. California.
- Bosecker, K, 1987, *Microbial Leaching, in Prave, P., Faust, U., Sitting, W., Sukachth, D.A (eds), Fundamenthals of Biotecknology*, VCH Weinheim.s. Jerman.
- Brandl, H, 2001, *Microbial Leaching of Metal*, Switzerland: Wiley Inc.,
- Brooks, G.F., Butel, J.S., and Morse, S.A., 2008. *Mikrobiologi Kedokteran* (23th ed.). Jakarta: EGC.
- Brown, Robin.G., Burns, dan Tony. 2005. *The Notes on Dermatologi. Edisi 8*. Jakarta: PT. Gelora Aksara Pratama
- Capriyanti, Y., 2014, *Optimasi Kondisi Produksi Enzim Amilase Bakteri Laut Bacillus sp., Skripsi tidak Diterbitkan*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Chen S., Wilson DB, 1997, Genetic Engineering of Bacteria and Their Potential for Hg²⁺ Bioremediation, *J. Biodegradation*, **8**: 97-103.
- Chen S., Wilson DB, 1997, Construction and Characterization of *Escherichia coli* Genetically Enggineered for Bioremediation of Hg²⁺ Conminated Environments, *J. Appl. Environ. Microbiol.* **63**(3): 2442-2445.

- Clifton, C. E. 1958. *Introduction to the Bacteria*. Tokyo: Kogakusha Company LTD.
- Dalvi, D.A., Bacon, W.G. and Osborne, R.C., 2004. Past and the future of nickel laterites, *PDAC International Convention*, **1**: 1-27.
- Deveci, H., Akcil, A., dan Alp, I., 2003, *Parameters for Control and Optimization of Bioleaching of Sulfide Minerals*, Mining Eng. Dept., Kradeniz Technical University, Turkey.
- Edwards, C., 1990, *Thermophiles Microbiology and Extreme Environment*, Alden Press Oxford, Milton Keynes.
- Febrian, M., Liliandini. 2009. *Pemisahan Logam Dari Limbah Katalis Bekas Dengan Proses Bioleaching*. Bandung. Institut Teknologi Nasional. .
- Gordon, R.E. 1972. *The Genus of Bacillus*. Di dalam *A.I. Lamkidna n H.A. Lechevalier (eds.)*. Handbook of Microbiology. CRC Press, New Jersey.
- Harti, A.S., 2014. *Mikrobiologi Kesehatan*. Yogyakarta: CV. Andi Offset.
- Haryadi, H., 2017, Analisis Neraca Sumber Daya Pasir Besi dan Bijih Nikel Indonesia, *Jurnal Teknologi Mineral dan Batubara*, **13**(2), 153-169.
- Heslop, R. dan Robinson, D.L., 1960. *Inorganic Chemistry*. Elsevier Publishing Company.
- Ilyas, S., et all, 2008, Bioleaching of Pb-Zn ore by Moderate Thermophilic Chemolithotropic Bacteria, *J. Chem, soc. Park*. **30**: 61-68.
- Isa, I., dan Retnowati, Y., 2014. *Pemanfaatan Berbagai Jenis Bakteri Dalam Proses Bioleaching Limbah Logam Berat*. Laporan Akhir Penelitian Fundamental. Yogyakarta.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg's. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika.
- Khopkar, S. M., 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI-press.
- Kong, L.C., Bitton, G., Koopman, B., Jung, K.H., 1995. Heavy Metal Toxicity Testing in Enviromental Samples. *Reviews of Enviromental Contamination and Toxicology*. **1**: 142.
- Kurniawan, R. Juhanda, S. Hayu, M.G., dan Aldiah, P.P., 2009. *Pemisahan Logam dari Limbah Katalis Bekas dengan Proses Bioleaching*. Bandung: FT Industri ITENAS.
- Kurniawan, R., Juhanda, S., Hayu, M.G., Aldila, P.P, 2018. Aplikasi *Bioleaching* dalam Pemisahan Logam Oksida dengan Jamur *Aspergillus niger* dan

Penicillium crhysogenum. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan”.ISSN 1693-4393.

Kyle J, 2010, *Nickel Laterite Processing Technologies – Where to Next?*. Perth: ALTA 2010 Nickel/Cobalt/Copper Conference.

Lasa, I., dan Berenguer, J., 1993, Thermophilic Enzymes and Their Biotechnological Potential, *Microbiologia SEM*, **9**: 77-89.

Lestari, Y.L., 2018, berjudul *Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Termofil Penghasil Enzim α -Amilase Dari Sumber Air Panas Teluk Jailolo Maluku Utara* tidak diterbitkan, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Lev, T.A., 1905. Uber ein Neues Empfindliches Reagen auf Nickel. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. **38**(3): 2520-2522.

Mallick, N., and L.C. Rai. 1993. Influence of Culture Density, pH, Organic Acid, and Divalent Cations the Removal of Nutrients and Melt by Immobilized *Anabaena doliolum* and *Chlorella vulgaris*. *World Journal of Microbiology & Biotech.* **1**(1): 196-201

Mayangsari, W., dan Agus, B.P., 2016. Proses Reduksi Selektif Bijih Nikel Limonit Menggunakan Zat Aditif CaSO_4 . *Metalurgi*. **1**: 1-68.

Miarastiska, N., dan Azizah, R., 2015, Hubungan Paparan Nikel dengan Gangguan Kesehatan Kulit pada Pekerja Industri Rumah Tangga Pelapis Logam di Kabupaten Sidoarjo. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*. **1**(1): 25-36.

Mubarok, M.Z., Betri, E.P., dan Siti, K.C., 2016. *Bioleaching* Nikel Dari Bijih Limonit Pulau Gag Menggunakan Bakteri Mixotrof. *Jurnal Teknologi Mineral dan Batuan* **12**(1): 69-79.

Moghaddam, H.H., 2011. A Selective Flotation Spectrophotometric Method for the Determination of Nickel using Dimethylglyoximw. *J. braz. Chem. Sac.* **22**(6): 1056-1060

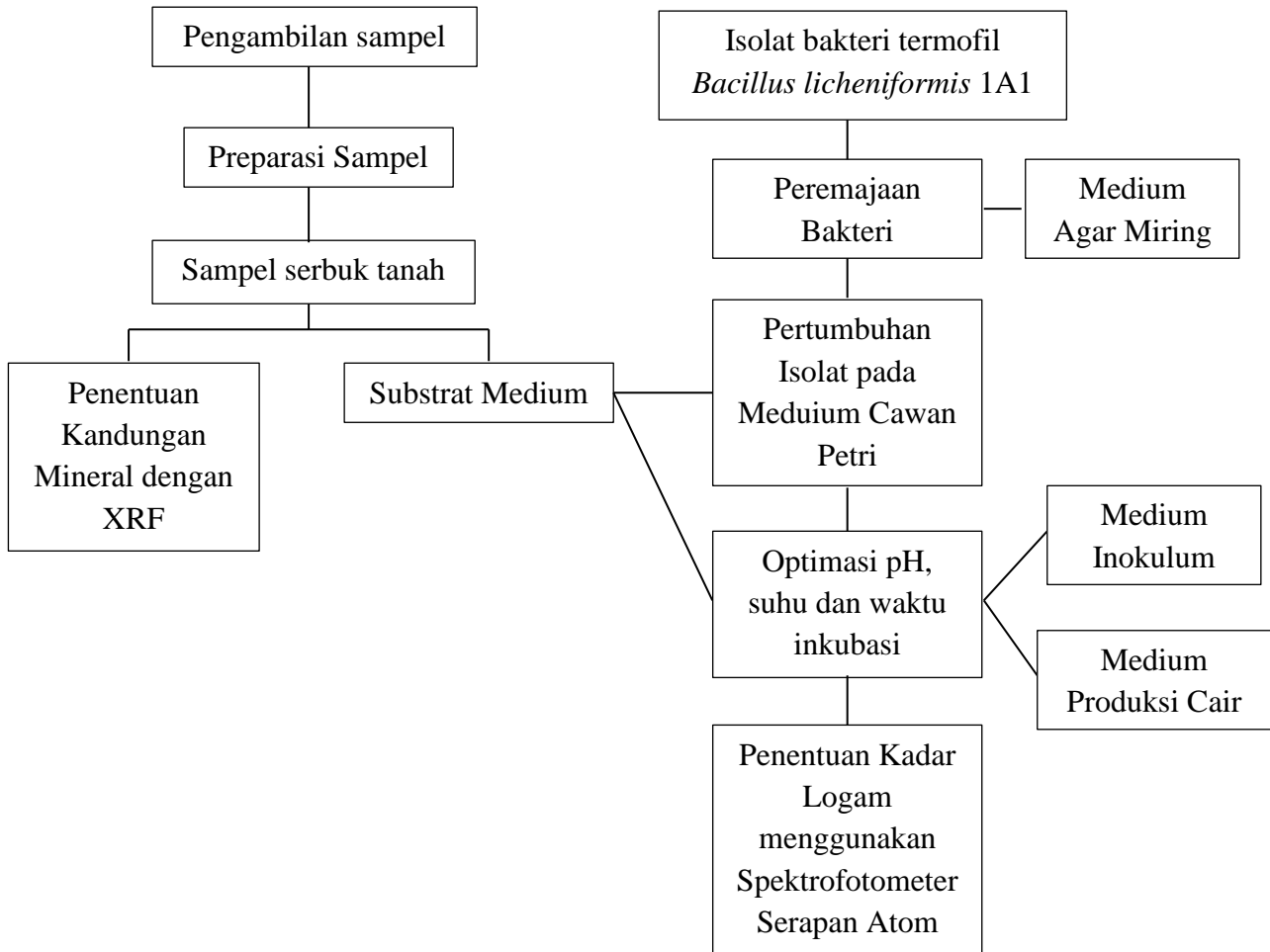
Norris, P.R., Burthon, N.P., Foulis, N.M., 2000, Acidophiles in Bioreactor Mineral Processing, *Extremophiles*, **4**: 71-76.

Okoh, M. P., Ifeyomi, W. O., dan Salamatu, S. M. M., 2018, Bioleaching, a technology for metal extraction and remediation: Mitigating Health Consequences for Metal Exposure, *International Journal of Development and Sustainability*, **7**(7): 2103-2118.

- Palczar, M.J. dan Chan, E.C.S. 2010. *Dasar-Dasar Mikrobiologi I*. Jakarta: UI Press.
- Prasetyo, P. 2016. Tidak Sederhana Mewujudkan Industri Pengolahan Nikel Laterit Kadar Rendah Di Indonesia Sehubungan Dengan Undang-Undang Minerba 2009. *Jurnal Teknologi Mineral dan Batubara*, **12**(3): 195-207.
- Pratita, M. Y. E., dan Putra, S. R, 2012, Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Mata Air Panas Di Songgoriti Setelah Dua Hari Inkubasi, *Jurnal Teknik Pomits*, **1**(1): 1-5.
- Rahayu, S., 2014, *Isolasi dan Karakterisasi Protease dari Bakteri Sumber Air Panas Tamalantik Mamasa Sulawesi Barat*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar
- Reddy, N. S., Nimmagadda, A., dan Rao, K. R., 2003, An Overview of Themicrobial α -Amylase Family. *African Journal of Biotechnology*, **2**: 645–648.
- Republik Indonesia, 2009, Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 04 Tahun 2009 Tentang Pertambangan Mineral dan Batubara, Jakarta: Pemerintah Republik Indonesia.
- Rizky, W.D. 2013. *Pengaruh Kandungan Protein Tepung Bulu Ayam sebagai Media Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli*. Semarang: Jurusan Analisis Kesehatan. Poltekkes Kemenkes Semarang.
- Rofi'i, F., 2009, *Hubungan Antara Jumlah Total Bakteri dan Angka Katalase Terhadap Daya Tahan Susu*, Skripsi tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rowling, D.E., Dew, D., Plessis, C., 2003, Biomineralization of Metal Containing Ore and Concentrates, *Trends in Biotechnology*, **21**(1): 38-44.
- Rubisov, D.H., and V.G. Papangelakis, 2000, Sulphuric acid pressure leaching of laterites – speciation and prediction of metal solubilities 'at temperature, *Hydrometallurgy*, **58**: 13-26.
- Rufaida, A. D., dan waldjinah, 2012, *Kimia*, Klaten: PT Intan Pariwara.
- Satriawan, G., 2015, Kebijakan Indonesia dalam Melarang Ekspor Mineral Mentah Tahun 2009-2014 (Studi Kasus: Larangan Ekspor Mineral Mentah Nikel ke Tiongkok), *Jom FISIP*, **2**(2), 1-5.
- Seidel, A., Zimmels, Y., and Armon, R, 2001, Mechanism of Bioleaching of Coal Fly Ash by *Thiobacillus thiooxidans*, *Chemical Engineering Journal*, **88**: 123-130.

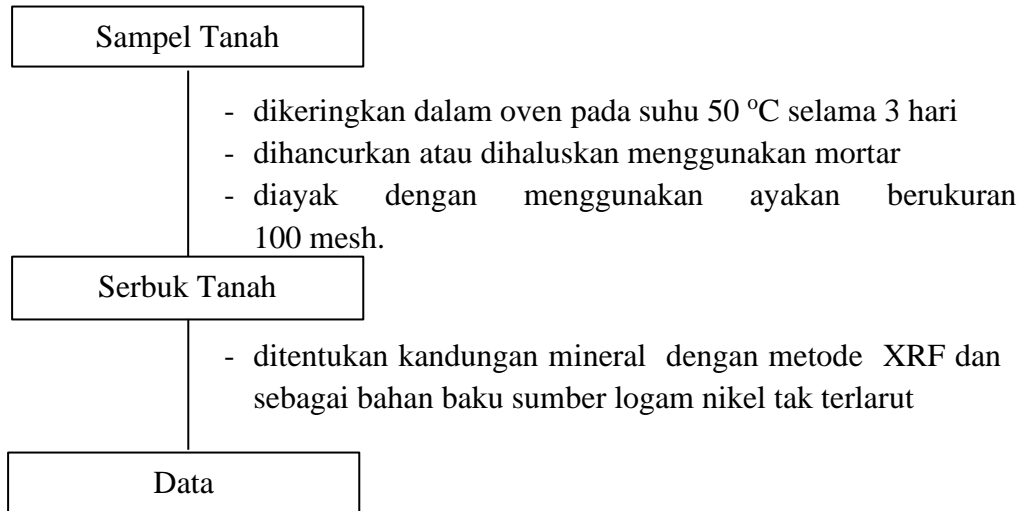
- Shao, X. 2018. *Spectrophotometric Determination of Ni in Real Samples from Polyethylen Lined Tubing for Petroleum and Natural Gas Industries*. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. IOP Publishing.
- Sianturi, D. C., 2008, *Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Termofil Kasar dari Sumber Air Panas Penen Sibirubiru Sumatera Utara*, Tesis tidak diterbitkan, Sekolah Pascasarjana, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Soeka, Y.S., Rahayu, S.H., Seatiningrum, N., dan Nalola, E., 2011. Kemampuan *Bacillus licheniformis* dalam Memproduksi Enzim Protease yang Bersifat Alkalin dan Termofilik. *Media Litbang Kesehatan*. **21**(2): 89-95.
- Soeka, Y.S., 2015. Kemampuan *Bacillus licheniformis* dalam Menghasilkan Enzim Amilase. *Jurnal Produksi Enzim A-Amilase dengan Bacillus licheniformis*. **1**(5): 1162-1166.
- Sudarmaji, S., Bambang, H., dan Suhardi, 1997, *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*, Liberty Yogyakarta: Yogyakarta.
- Suzuki, I., 2015, Kemampuan *Bacillus licheniformis* dalam menghasilkan Enzim Amilase, *Jurnal Produksi Enzim A-Amilase dengan Bacillus licheniformis*, **1**(5): 1162-1166.
- Tang, J.A., dan Valix, M., 2016, Leaching of Low Grade Limonite and Nontronite Ores by Fungi Metabolc Acids, *Minerals Engineering*. **19**: 1274-1279.
- Waluyo, L., 2005, *Mikrobiologi Umum*, Malang: Universitas Malang Press.
- Yuanita, D.N.S.P., dan Wikandari, P. R., 2014, Screening Bakteri Proteolitik Termofilik dari Sumber Air Panas Singgahan Tuban, *UNESA Journal of Chemistry*, **3**(3): 49-54.
- Zajac, A.S., Monika, T., Mohit, P.M., Ferenc, P., Martina, H., Joanna, J., 2010. Determination Of Nickel In Tea By Using Dimethylglioksime Method. *Food Chemistry and Biotechnology*. **74**(1081): 5-11.

Lampiran 1. Tahapan Penelitian

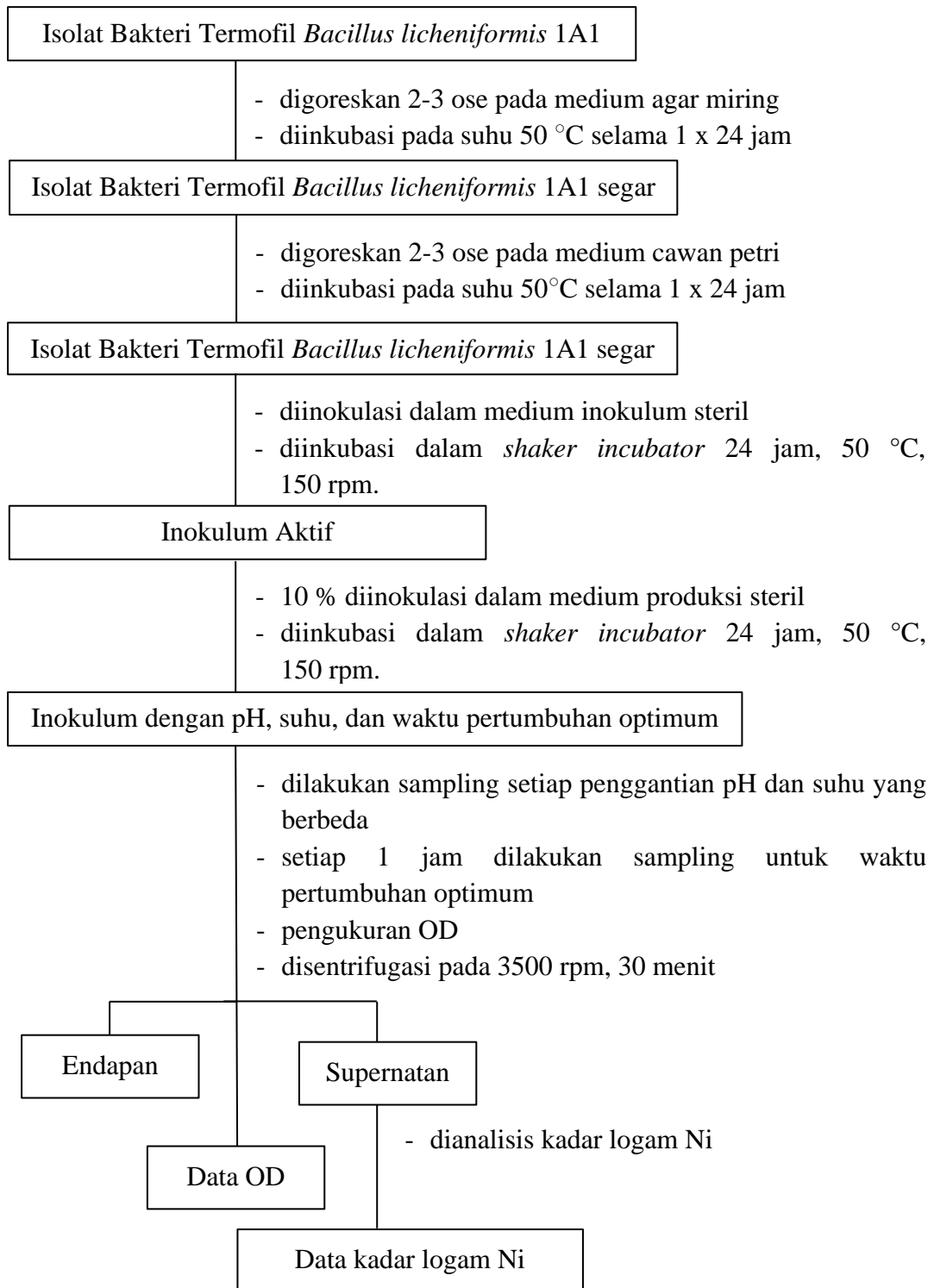


Lampiran 2. Skema Preparasi Sampel Tanah

Preparasi Sampel Tanah



Lampiran 3. Skema Optimasi Pertumbuhan Bakteri *Bacillus licheniformis* untuk Ekstraksi Logam Ni tak Terlarut menjadi Terlarut dengan Proses *Bioleaching*



Lampiran 4. Komposisi *Nutrient Agar* dan *Nutrient Broth* (Sigma Aldrich)

1. Komposisi *Nutrient Agar*

Komposisi	Jumlah
Agar	15 g/L
Ekstrak Daging	1 g/L
Pepton	5 g/L
NaCl	5 g/L
Ekstrak ragi	2 g/L

2. Komposisi *Nutrient Broth*

Komposisi	Jumlah
D(+)-glukosa	1 g/L
Pepton	15 g/L
NaCl	6 g/L
Ekstrak ragi	3 g/L

Lampiran 5. Hasil data analisis kandungan mineral dalam sampel tanah menggunakan XRF

Unsur	Kadar (m/m%)	Senyawa	Kadar (m/m%)
Fe	42,56	Fe ₂ O ₃	60,85
Si	11,56	SiO ₂	24,73
Ni	7,41	NiO	9,43
Mn	1,41	MnO	1,93
Cr	1,06	Cr ₂ O ₃	1,54
Ti	0,563	TiO ₂	0,940
Ca	0,255	CaO	0,357
Cl	0,247	Cl	0,247
Zn	0,046	ZnO	0,057
Nb	0,0061	Nb ₂ O ₅	0,0087

Lampiran 6. Pembuatan Larutan *Buffer* Fosfat 0,2 M (Sudarmadji dkk., 1997)

Larutan A : 0,2 M KH_2PO_4

Larutan B : 0,2 M K_2HPO_4

x mL larutan A + y mL larutan B, diencerkan sampai 200 mL

X	Y	pH
93,5	6,5	5,7
92,0	8,0	5,8
90,0	10,0	5,9
87,7	12,3	6,0
85,0	15,0	6,1
81,5	18,5	6,2
77,5	22,5	6,3
73,5	26,5	6,4
68,5	31,5	6,5
62,5	37,5	6,6
56,5	43,5	6,7
51,0	49,0	6,8
45,0	45,0	6,9
39,0	61,0	7,0
33,0	67,0	7,1
28,0	72,0	7,2
23,0	77,0	7,3
19,0	81,0	7,4
16,0	84,0	7,5
13,0	87,0	7,6
10,5	90,5	7,7
8,5	91,5	7,8
7,0	93,0	7,9
5,3	94,7	8,0

Lampiran 7. Larutan Buffer Borat-Boraks (Sudarmadji, dkk., 1997)

Larutan A : 0,2 M H_3BO_3

Larutan B : 0,05 M $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$

50 mL larutan A + x mL larutan B, diencerkan sampai 200 mL

X	pH
2	7,6
3,1	7,8
4,9	8
7,3	8,2
11,5	8,4
17,5	8,6
22,5	8,7
30	8,8
42,5	8,9
59	9
83	9,1
115	9,2

Lampiran 8. Pembuatan Larutan Ni

A. Pembuatan larutan induk Ni 1000 mg/L

$$1000 \text{ mg/L} = \frac{\text{Ar Ni}}{\text{Mr NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}} \times \frac{\text{Massa NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}}{\text{V pelarut}}$$

$$1000 \text{ mg/L} = \frac{58,7}{262,8488} \times \frac{\text{Massa NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}}{0,1 \text{ L}}$$

$$\text{Massa NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O} = 447,7833 \text{ mg}$$

$$\text{Massa NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O} = 0,4478 \text{ g}$$

B. Pembuatan larutan Ni 100 mg/L dari larutan Ni 1000 mg/L

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ mg/L} = 100 \text{ mL} \times 100 \text{ mg/L}$$

$$V_1 = 10 \text{ mL}$$

C. Pembuatan 50 mL larutan Ni 3 mg/L dari larutan Ni 100 mg/L

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ mg/L} = 50 \text{ mL} \times 3 \text{ mg/L}$$

$$V_1 = 1,5 \text{ mL}$$

D. Pembuatan 200 mL larutan Ni 3 mg/L dari larutan Ni 100 mg/L

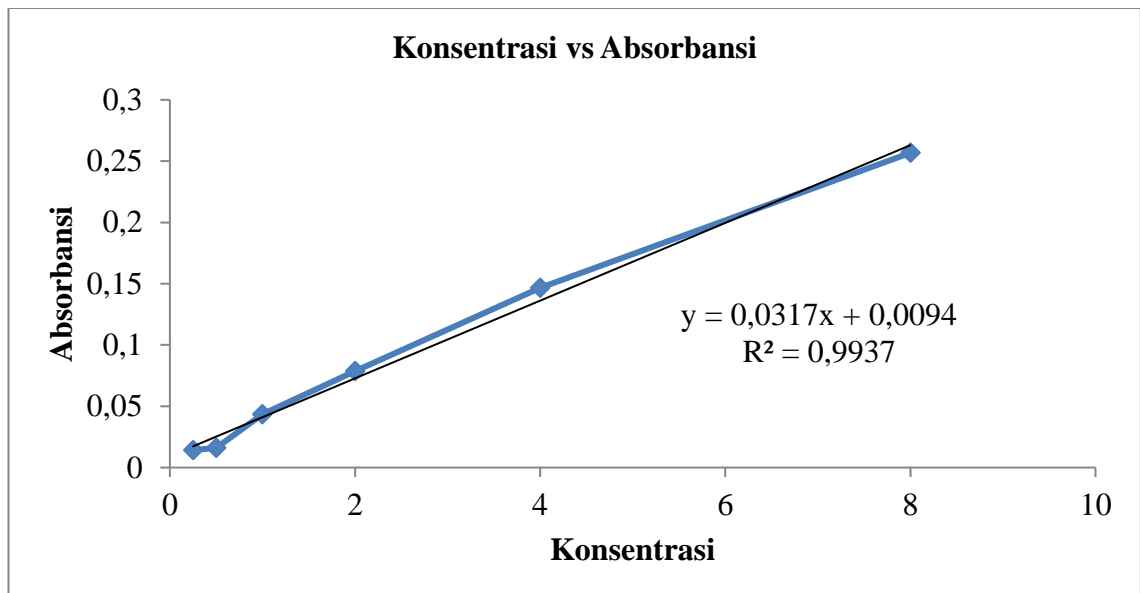
$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ mg/L} = 200 \text{ mL} \times 3 \text{ mg/L}$$

$$V_1 = 6 \text{ mL}$$

Lampiran 9. Data Absorbansi Kurva Standar Larutan Ni untuk Penentuan Kadar Logam Ni

Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi
0,25	0,014237
0,50	0,015924
1,00	0,043410
2,00	0,078686
4,00	0,146505
8,00	0,256731



Lampiran 10. Nilai OD dan Hasil Kadar Logam Ni pada Optimasi pH Pertumbuhan Bakteri *Bacillus licheniformis* untuk Ekstraksi Logam Ni Tak Terlarut menjadi Terlarut dengan Proses *Bioleaching*

1. Nilai *Optical Density* (OD)

pH	Optical Density (OD)
6	0,274
7	0,750
8	1,050
9	0,900

2. Hasil Kadar Logam Ni pada Optimasi pH Pertumbuhan Bakteri *Bacillus licheniformis* untuk Ekstraksi Logam Ni Tak Terlarut menjadi Terlarut dengan Proses *Bioleaching*

Sampel		Absorbansi	Konsentrasi	[Ni] <i>Bioleaching</i>
pH 6	Medium awal pH 6	0,0146	0,8202	0,8360
	Medium Produksi pH 6	0,0199	1,6562	
pH 7	Medium awal pH 7	0,0143	0,7729	2,1924
	Medium Produksi pH 7	0,0282	2,9653	
pH 8	Medium awal pH 8	0,0136	0,6625	2,8864
	Medium Produksi pH 8	0,0319	3,5489	
pH 9	Medium Awal pH 9	0,0139	0,7098	2,2871
	Medium Produksi pH 9	0,0284	2,9968	

Diketahui:

$$y = 0,0317x + 0,0094$$

1. Konsentrasi Ni pada Medium Awal pH 6

$$y = 0,0317x$$

$$y = 0,0317x + 0,0094$$

$$0,0146 = 0,0317x + 0,0094$$

$$0,0146 - 0,0094 = 0,0317x$$

$$0,0052 = 0,0317x$$

$$x = \frac{0,0052}{0,0317} = 0,1640 \text{ mg/L}$$

$$[\text{Ni}]_{\text{Med. Awal pH6}} = x \cdot \text{FP}$$

$$= 0,1640 \cdot 5$$

$$= 0,8202 \text{ mg/L}$$

2. Konsentrasi Ni pada Medium Produksi pH 6

$$y = 0,0317x$$

$$y = 0,0317x + 0,0094$$

$$0,0740 = 0,0317x + 0,0094$$

$$0,0740 - 0,0094 = 0,0317x$$

$$0,0105 = 0,0317x$$

$$x = \frac{0,0105}{0,0317} = 0,3312 \text{ mg/L}$$

$$[\text{Ni}]_{\text{Med. Awal pH6}} = x \cdot \text{FP}$$

$$= 0,3312 \cdot 5$$

$$= 1,6562 \text{ mg/L}$$

$$[\text{Ni}]_{\text{setelah bioleaching}} = [\text{Ni}]_{\text{Med. Prod. pH6}} - [\text{Ni}]_{\text{Med. Awal pH6}}$$

$$= 0,8202 - 1,6562$$

$$= 0,8360 \text{ mg/L}$$

Lampiran 11. Nilai OD dan Hasil Kadar Logam Ni pada Optimasi Suhu Pertumbuhan Bakteri *Bacillus licheniformis* untuk Ekstraksi Logam Ni Tak Terlarut menjadi Terlarut dengan Proses *Bioleaching*

1. Nilai *Optical Density* (OD)

Suhu	Optical Density (OD)
40	0,279
45	0,355
50	0,9
55	0,367

2. Hasil Kadar Logam Ni pada Optimasi Suhu Pertumbuhan Bakteri *Bacillus licheniformis* untuk Ekstraksi Logam Ni Tak Terlarut menjadi Terlarut dengan Proses *Bioleaching*

Sampel		Absorbansi	Konsentrasi	[Ni] Bioleaching
40 °C	Medium awal 40 °C	0,0143	0,7729	0,8675
	Medium Produksi 40 °C	0,0198	1,6404	
45 °C	Medium awal 45 °C	0,0145	0,8044	1,0410
	Medium Produksi 45 °C	0,0211	1,8454	
50 °C	Medium awal 50 °C	0,0156	0,9779	2,2397
	Medium Produksi 50 °C	0,0298	3,2177	
55 °C	Medium awal 55 °C	0,0138	0,6940	1,3091
	Medium Produksi 55 °C	0,0221	2,0032	

Diketahui:

$$y = 0,0317x + 0,0094$$

1. Konsentrasi Ni pada Medium Awal Suhu 40 °C

$$y = 0,0317x$$

$$y = 0,0317x + 0,0094$$

$$0,0143 = 0,0317x + 0,0094$$

$$0,0143 - 0,0094 = 0,0317x$$

$$0,0049 = 0,0317x$$

$$x = \frac{0,0049}{0,0317} = 0,1546 \text{ mg/L}$$

$$\begin{aligned} [\text{Ni}]_{\text{Med.Awal suhu 40}} &= x.FP \\ &= 0,1546 \cdot 5 \\ &= 0,7729 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

2. Konsentrasi Ni pada Medium Produksi Suhu 40 °C

$$y = 0,0317x$$

$$y = 0,0317x + 0,0094$$

$$0,0198 = 0,0317x + 0,0094$$

$$0,0198 - 0,0094 = 0,0317x$$

$$0,0104 = 0,0317x$$

$$x = \frac{0,0104}{0,0317} = 0,3281 \text{ mg/L}$$

$$\begin{aligned} [\text{Ni}]_{\text{Med.Awal Suhu 40}} &= x.FP \\ &= 0,3281 \cdot 5 \\ &= 1,6404 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} [\text{Ni}]_{\text{setelah bioleaching}} &= [\text{Ni}]_{\text{Med.Prod. suhu 40}} - [\text{Ni}]_{\text{Med.Awal suhu 40}} \\ &= 1,6404 - 0,7729 \\ &= 0,8675 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

Lampiran 12. Nilai OD dan Hasil Kadar Logam Ni pada Optimasi Waktu Pertumbuhan Bakteri *Bacillus licheniformis* untuk Ekstraksi Logam Ni Tak Terlarut menjadi Terlarut dengan Proses *Bioleaching*

1. Nilai *Optical Density* (OD)

No.	Waktu Pertumbuhan (Jam)	Optical Density (OD)
1	0	0,258
2	3	0,394
3	6	0,815
4	9	1,120
5	12	1,120
6	15	0,398
7	18	0,635
8	21	0,350
9	24	0,095

2. Hasil Kadar Logam Ni pada Optimasi Waktu Pertumbuhan Bakteri *Bacillus licheniformis* untuk Ekstraksi Logam Ni Tak Terlarut menjadi Terlarut dengan Proses *Bioleaching*

Sampel	Absorbansi	Konsentrasi	[Ni] Bioleaching
Medium Awal	0,0140	0,7255	
Jam ke-0	0,0199	1,6562	0,9306
Jam ke-3	0,0223	2,0347	1,3091
Jam ke-6	0,0230	2,1451	1,4196
Jam ke-9	0,0247	2,4132	1,6877
Jam ke-12	0,0260	2,6183	1,8927
Jam ke-15	0,0264	2,6814	1,9558
Jam ke-18	0,0275	2,8549	2,1293
Jam ke-21	0,0280	2,9338	2,2082

Jam ke-24	0,0296	2,5520	2,4606
-----------	--------	--------	--------

1. Konsentrasi Ni pada Medium Awal

$$y = 0,0317x$$

$$y = 0,0317x + 0,0094$$

$$0,0140 = 0,0317x + 0,0094$$

$$0,0140 - 0,0094 = 0,0317x$$

$$0,0046 = 0,0317x$$

$$x = \frac{0,0046}{0,0317} = 0,1451 \text{ mg/L}$$

$$\begin{aligned} [\text{Ni}]_{\text{Med. Awal suhu 40}} &= x \cdot \text{FP} \\ &= 0,1451 \cdot 5 \\ &= 0,7255 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

2. Konsentrasi Ni pada Medium Produksi Suhu 0 jam

$$y = 0,0317x$$

$$y = 0,0317x + 0,0094$$

$$0,0199 = 0,0317x + 0,0094$$

$$0,0199 - 0,0094 = 0,0317x$$

$$0,0105 = 0,0317x$$

$$x = \frac{0,0105}{0,0317} = 0,3312 \text{ mg/L}$$

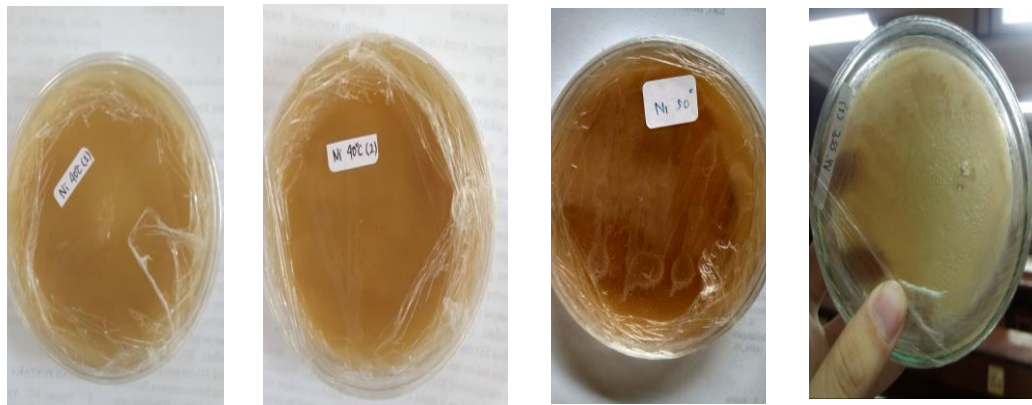
$$\begin{aligned} [\text{Ni}]_{\text{Med. Awal Suhu 0 jam}} &= x \cdot \text{FP} \\ &= 0,3312 \cdot 5 \\ &= 1,6562 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} [\text{Ni}]_{\text{setelah bioleaching}} &= [\text{Ni}]_{\text{Med. Prod 0 jam}} - [\text{Ni}]_{\text{Med. Awal}} \\ &= 1,3565 - 0,0789 \\ &= 1,2776 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

Lampiran 13. Dokumentasi Penelitian



Pertumbuhan Isolat Bakteri *Bacillus licheniformis* menggunakan variasi pH 8



Pertumbuhan Isolat Bakteri Termofil *Bacillus licheniformis* menggunakan variasi suhu



Pertumbuhan Isolat Bakteri *Bacillus licheniformis* menggunakan variasi waktu

