

Skripsi

**UJI BIODEGRADASI ISOLAT BAKTERI *Bacillus subtilis* TERHADAP
LOGAM SENG (Zn) DARI LIMBAH PERTAMBANGAN EMAS POBOYA
PALU**

FITRIYANA M.AMIN

H031 17 1510



**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**UJI BIODEGRDASI ISOLAT BAKTERI *Bacillus subtilis* TERHADAP LOGAM
SENG (Zn) DARI LIMBAH PERTAMBANGAN EMAS POBOYA PALU**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk
memperoleh gelar sarjana sains*

Oleh

FITRIYANA M.AMIN

H031171510



MAKASSAR

2022

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

UJI BIODEGRADASI ISOLAT BAKTERI *Bacillus subtilis* TERHADAP LOGAM SENG (Zn) DARI LIMBAH PERTAMBANGAN EMAS POBOYA PALU

Disusun dan diajukan oleh

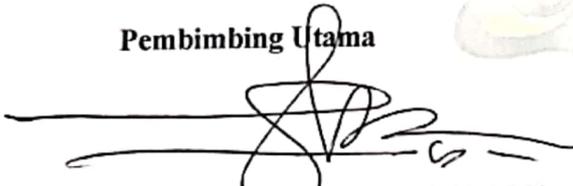
FITRIYANA M.AMIN

H031 17 1510

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Sidang Sarjana Program Studi
Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddin
Pada 26 Oktober 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

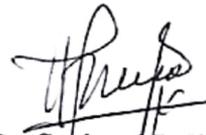
Menyetujui,

Pembimbing Utama



Dr. Syahrudin Kasim. S.Si, M.Si
NIP.19690705 199703 1 001

Pembimbing Pertama



Dr. Seniwati Dali, M. Si
NIP.19581231 18803 2 003

Ketua Program Studi



Dr. St. Fauziah, M. Si
NIP. 19720202 199903 200

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Fitriyana M.Amin

NIM : H031171510

Program Studi : Kimia

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul “Uji Biodegradasi Isolat Bakteri *Bacillus subtilis* Terhadap Logam Seng (Zn) Dari Limbah Pertambangan Emas Poboya Palu” adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 19 Oktober 2022

Yang Menyatakan,



Fitriyana M.Amin

PRAKATA

Alhamdulillah Rabbilalamin, dengan nama Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang. Sembah sujud dan rasa syukur hamba haturkan kehadirat-Nya, karena hanya dengan rahmat, hidayah, inayah, serta izin-Nya yang telah memberikan kekuatan dan kesabaran kepada penulis, sehingga skripsi ini dapat terlaksana sebagaimana adanya. Sholawat serta salam tak lupa kita kirimkan kepada baginda Rasulullah SAW yang telah mengangkat derajat manusia dari jaman jahilia menuju jaman peradaban ilmu.

Limpahan rasa hormat, bakti serta doa yang tulus, penulis persembahkan kepada Ibunda Alm. Nurmadina Djafar dan ayahanda M. Amin Tahir, yang telah membesarkan, mendidik dengan penuh keikhlasan dan kesabaran serta saudara saudariku Maya, Anni, dan Arif.

Terima kasih saya ucapkan kepada:

1. **Dr. Syahrudin Kasim, S.Si. M.Si**, selaku dosen pembimbing utama, dan **Dr.Hj.Seniwati Dali, M.Si**, selaku dosen pembimbing pertama yang telah membimbing saya dengan begitu luar biasa, meluangkan banyak waktu dan memberikan dorongan, masukan dan saran-saran selama penyusunan skripsi
2. **Dr. Nur Umriani Permatasari, M.Si**, selaku koordinator seminar Proposal dan Hasil selama proses penyusunan skripsi ini.
3. **Dr. Syarifudin Liong, M.Si** dan **Syadza Firdausiah, S.Si. M.Sc.**, sebagai tim dosen penguji yang telah memberikan banyak ilmu dan masukan selama proses penyusunan skripsi ini.
4. Seluruh **Staf Departemen Kimia dan Fakultas MIPA** yang senantiasa membantu penulis dalam hal administrasi.

5. Sahabat tercinta **Sani, Yuyun, Devi, Ulfah, Novi**, yang senantiasa memberikan semangat dan doa dalam penyusunan skripsi ini.
6. Teman panel **Indo Esse** yang senantiasa menemani, memberikan semangat dan membantu dari penyusunan skripsi hingga selesai.
7. Teman-teman **Pahoehoe** yang telah menemani selama tinggal di kost Pondok Saudara.
8. Teman-teman **KIMIA 2017** yang selalu ada dari awal perkuliahan hingga saat ini.

Semua pihak yang tidak sempat tertulis namanya yang telah memberikan dukungan maupun bantuan kepada penulis. Semoga segala bentuk bantuan, yaitu doa, saran, motivasi dan pengorbanan yang telah diberikan kepada penulis dapat bernilai ibadah dan diganjarkan pahala di sisi Allah *Subhanahu wa Ta'ala*.
Aamiin.

Makassar, September 2022

Fitriyana M.Amin
NIM. H031171510

ABSTRAK

Industri pertambangan emas di Poboya Palu yang berkembang pesat memberikan dampak lingkungan terhadap limbah yang dihasilkan karena mengandung logam berat yang berbahaya salah satunya adalah seng. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis kandungan logam seng dalam limbah pertambangan emas Poboya Palu, mengkarakterisasi kondisi optimum bakteri *Bacillus subtilis* dalam mendegradasi logam seng dan menentukan kandungan logam seng akhir pada hasil biodegradasi. Sampel tanah diperoleh dari Tambang Emas Poboya di Palu. Penelitian ini dilakukan dengan menginokulasikan bakteri ke dalam medium cair *Luria Broth* (LB) yang telah diperkaya dengan $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ dengan konsentrasi masing-masing 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, dan 20 ppm. Selanjutnya diinkubasi selama ± 48 jam dan diukur nilai *Optical Density* (OD) pada panjang gelombang 660 nm untuk mengetahui tingkat kepadatan bakteri pada spektrofotometer. Kadar seng dari Tambang Emas Poboya yang diperoleh sebesar 39,7473 mg/kg. Optimasi pertumbuhan terjadi pada waktu 24 Jam masa inkubasi untuk konsentrasi 5 ppm, 10 ppm dan 15 ppm. Isolat bakteri *Bacillus subtilis* mampu menurunkan kadar logam seng dengan hasil penurunan untuk setiap konsentrasi yaitu 5 ppm sebesar 50%, 10 ppm sebesar 41% ppm dan 15 ppm sebesar 38%.

Kata Kunci: *Bacillus subtilis*, seng, resisten, media LB dan spektrofotometer serapan atom.

ABSTRACT

The gold mining industry in Poboja Palu which is growing rapidly has an environmental impact on the waste produced because it contains dangerous heavy metals, one of which is zinc. The purpose of this study was to analyze the zinc metal content in the gold mining waste of Poboja Palu, to characterize the optimal condition of *Bacillus subtilis* in degrading zinc metal and to determine the final zinc metal content in the biodegradation product. Soil samples were obtained from the Poboja Gold Mine in Palu. This research was carried out by inoculating bacteria into *Luria Broth* (LB) liquid medium which had been enriched with $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, and 20 ppm, respectively. Then it was incubated for \pm 48 hours and the *Optical Density* (OD) value was measured at a wavelength of 660 nm to determine the level of bacterial density on the spectrophotometer. The zinc content of the Poboja Gold Mine obtained was 39.7473 mg/kg. Growth optimization occurred during the 24 hour incubation period for concentrations of 5 ppm, 10 ppm and 15 ppm. The isolate of *Bacillus subtilis* able to reduce zinc metal levels with the results of a decrease for each concentration of 5 ppm by 50%, 10 ppm by 41% ppm and 15 ppm by 38%.

Keywords: *Bacillus subtilis*, zinc, resistance, LB media and atomic absorption spectrophotometer.

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA.....	iv
ABSTRAK.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR ARTI SIMBOL DAN SINGKATAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Maksud Penelitian.....	4
1.3.2 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Percobaan.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Seng.....	6
2.2 Pencemaran Tanah	7
2.3 Bakteri <i>Bacillus sp</i>	8
2.4 Kemampuan Bakteri mengakumulasi Logam Berat	9
2.5 Mekanisme Akumulasi Logam Berat.....	11
2.6 Biodegradasi.....	13
2.7 Spektrofotometer Serapan Atom.....	18

BAB III METODE PENELITIAN.....	18
3.1 Bahan Penelitian.....	18
3.2 Alat Penelitian	18
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	18
3.4 Prosedur Penelitian.....	19
3.4.1 Pembuatan Larutan Baku Zn.....	19
3.4.1.1 Pembuatan Larutan Induk Zn 1000 ppm.....	19
3.4.1.2 Pembuatan Larutan Intermediate Zn 50 ppm.....	19
3.4.1.3 Pembuatan Deret Larutan Baku Kerja	19
3.4.2 Analisis Pendahuluan	19
3.4.3 Pembuatan Media.....	20
3.4.3.1 Pembuatan Media Luria Broth	20
3.4.3.2 Peremajaan Bakteri	20
3.4.4 Uji Biodegradasi <i>Bacillus subtilis</i> terhadap logam seng.....	20
3.4.5 Analisis Kadar Akhir Logam Zn Hasil Biodegradasi	21
 BAB IV Hasil dan Pembahasan	 22
4.1 Analisis Pendahuluan	22
4.2 Uji Biodegradasi Isolat <i>Bacillus subtilis</i> terhadap seng.....	23
4.3 Pengukuran Kadar Seng Hasil Inokulasi Menggunakan ASS... ..	26
 BAB V Kesimpulan dan saran	 27
5.1 Kesimpulan	27
5.2 Saran.....	27
 DAFTAR PUSTAKA	 28
 LAMPIRAN.....	 34

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Mekanisme Interaksi Logam Berat pada Mikroorganisme	12
2. Prinsip mikroorganisme dalam mempengaruhi mobilitas logam.....	16
3. Alat Instrumentasi AAS	18
4. Sistem Instrumentasi dasar dari SSA	19
5. Kurva Standar	25
6. Diagram Batang Pengukuran Aktivitas Bakteri Dengan Logam Zn dalam Volume 5 mL, 10 mL dan 25 mL.....	27

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Jenis polutan sebagai substrat pertumbuhan bakteri agen pendegradasi	13
2. Data hasil analisis kandungan logam seng pada tanah hasil limbah pertambangan emas Poboya Palu.....	23
3. Hasil Pengukuran konsentrasi Logam Seng hasil Biodegradasi	26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema Kerja Penelitian.....	44
2. Bagan Kerja.....	45
3. Perhitungan	50
4. Dokumentasi	57

DAFTAR ARTI SIMBOL DAN SINGKATAN

Singkatan	Arti
AAS	<i>Atomic Absorption Spectrophotometer</i>
mg/kg	milligram per kilogram
nm	nano meter
OD	<i>Optical Density</i>
Psi	<i>Pound per square inch</i>
RPM	<i>Revolution Per Minute</i>
μg	

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Negara Indonesia memiliki potensi sumber daya alam yang sangat melimpah salah satunya ialah mineral dan energi, hal ini menjadikan Indonesia menjadi lahan subur bagi industri pertambangan. Kegiatan pertambangan selain menghasilkan produk utama juga menghasilkan produk buangan berupa limbah yang dapat berpotensi menurunkan daya dukung lingkungan di sekitar daerah penambangan maupun *emplacement area* (Rahmawati dan Widyastuti, 2013).

Salah satu daerah pertambangan yang ada di Indonesia berada di Poboya Kecamatan Palu Timur, Kota Palu, Propinsi Sulawesi Tengah. Kelurahan ini terletak sekitar ± 7 km dari pusat kecamatan. Kawasan ini merupakan daerah penyangga air untuk Kota Palu dan sekitarnya. Kawasan Poboya bersentuhan dengan empat wilayah yakni Kota Palu, Kabupaten Donggala, Kabupaten Parigi Moutong dan Kabupaten Sigi (Ruslan dan Khairuddin, 2010).

Kegiatan pertambangan banyak menghasilkan limbah berupa tailing dan dibuang di dataran atau badan air, limbah unsur pencemar kemungkinan tersebar di sekitar wilayah tersebut dan dapat menyebabkan pencemaran pada lingkungan (Nuriadi dkk, 2013). Aktifitas penambangan yang tidak terkontrol mengundang kekhawatiran dari banyak pihak, satu persatu persoalan mulai timbul sebagai akibat dari aktifitas tersebut. Kerusakan dan pencemaran lingkungan merupakan masalah terdepan yang muncul, kerusakan areal hutan dan sungai akibat penggalan, serta efek toksisitas yang disebabkan oleh logam berat (Ruslan dan Khairuddin, 2010).

Logam berat merupakan bahan pencemar yang berbahaya karena bersifat toksik. Logam berat secara alamiah akan terus menerus berada di alam karena tidak mengalami transformasi sehingga menyimpan potensi racun. Logam berat juga tidak dapat didegradasi oleh tubuh dan memiliki sifat racun pada makhluk hidup walaupun dalam konsentrasi yang rendah serta dapat terakumulasi dalam jangka waktu tertentu (Gupta dan Rastolgi, 2008). Salah satu contoh dari logam berat ialah logam seng.

Seng di alam tidak berada dalam keadaan bebas, tetapi dalam bentuk terikat dengan unsur lain berupa mineral. Ion seng mudah terserap dalam sedimen dan tanah. Seng dapat bereaksi dengan asam, basa, dan senyawa non logam. Seng tergolong dalam unsur hara mikro bagi tanaman yang apabila jumlahnya berlebih dapat menjadi racun bagi tanaman. Sumber polutan seng di lingkungan dapat berasal dari aktivitas pertambangan dan peleburan logam, pertanian yang menggunakan pupuk dari sisa limbah, dan pertanian dengan bahan kimia (pupuk dan pestisida) (Darmayanti dkk., 2012). Logam seng memiliki sifat akumulatif di lingkungan, sehingga untuk mengatasi permasalahan limbah seng pada aktifitas pertambangan maka dapat dilakukan biodegradasi.

Biodegradasi merupakan alternatif teknologi untuk remediasi sebuah area dan dapat memperbaiki sebuah lahan tercemar secara menyeluruh (Evelyne dan Ravisankar, 2014). Biodegradasi memanfaatkan reaksi metabolisme dari mikroorganisme untuk mendegradasi kontaminan yang terlepas pada lingkungan (Mahimairaja, 2011). Biodegradasi merupakan salah satu pengolahan limbah secara biologi yang sering dipilih karena efektif untuk pengolahan limbah organik terlarut dan membutuhkan biaya yang sedikit. Namun keberhasilan pengolahan limbah secara biologi sangat tergantung pada aktivitas dan

kemampuan mikroorganisme pendegradasi bahan organik dalam limbah (Syamsudin dkk, 2006).

Pemanfaatan mikroorganisme dalam mengurangi efek toksik logam pada tanah terkontaminasi telah menjadi perhatian para peneliti akhir-akhir ini karena lebih bersifat ramah lingkungan dan lebih ekonomis dibandingkan metode secara konvensional, yaitu dengan metode fisiko-kimia misalnya ultrafiltrasi, ion-exchange, reverse osmosis, elektrodialisis, dan pengendapan kimiawi. Metode ini relatif mahal dan memiliki beberapa kelemahan diantaranya pemindahan ion logam yang tidak sempurna, membutuhkan reagen yang mahal dan energi yang besar, serta menghasilkan residu lumpur toksik yang menjadi limbah sekunder. Secara alami, suatu ekosistem alam mempunyai mekanisme dalam mengurangi bahaya alami, suatu ekosistem alam mempunyai mekanisme dalam mengurangi bahaya kontaminasi logam berat. Bila kontaminasi logam berat berlebihan, terjadi akumulasi dan bersifat toksik, sehingga akan terjadi ketidakseimbangan di dalam suatu ekosistem, dalam hal ini peranan mikroorganisme dalam mengatasi permasalahan lingkungan terkontaminasi logam berat akan sangat membantu (Farida dan Dayla, 2016).

Berbagai penelitian telah melaporkan mekanisme yang dikembangkan oleh mikroorganisme dalam mendegradasi logam berat antara lain serapan logam, penyerapan dan akumulasi endapan ekstraseluler, mineralisasi dan oksidasi atau reduksi enzimatis menjadi bentuk tidak beracun, serta penghilangan logam berat dari sel (Fretes dkk, 2019). Bakteri merupakan salah satu jenis mikroorganisme yang memiliki kelimpahan yang sangat tinggi di alam, baik dari segi jumlah maupun jenisnya. Bakteri tersebar dalam berbagai lingkungan baik di darat, laut, gunung api, samudera antartika bahkan di kawah gunung api. Diversitas

bakteri yang tinggi di alam ini merupakan hasil dari kemampuan beradaptasi yang tinggi dengan kondisi yang ekstrim untuk mendukung fungsi fisiologisnya (Afianti, 2018).

Salah satu peranan bakteri yang menguntungkan yaitu dapat dijadikan sebagai agen hayati yang dapat menekan atau mengendalikan terjadinya pencemaran lingkungan (Jannah, 2016). Bakteri yang berpotensi sebagai agen biodegradasi logam berat adalah bakteri yang resisten dan toleran terhadap keberadaan logam berat di lingkungan (Abidin, 2019). Mikroorganisme yang mampu melakukan remediasi logam berat di antaranya adalah jenis bakteri (*Bacillus* sp, *Pseudomonas* sp, dan *Escherichia coli*), kapang (*Penicillium chrysogenum*, *Rhizopus stolonifer* dan *Aspergillus oryzae*), dan khamir (*Saccharomyces cerevisiae*)(Suhendrayatna, 2001).

Salah satu genus *Bacillus* sp. yang mampu hidup pada habitat yang tercemar logam berat adalah *Bacillus subtilis*. *Bacillus subtilis* mampu mengikat logam Pb, Cd, Zn dan Cu. Berdasarkan penelitian (Issazadeh dkk, 2011) Bioakumulasi seng maksimum adalah 5 mol/g *biomass* untuk *Bacillus subtilis*, 4,5 mol/g *biomass* untuk *Bacillus licheniformis* dan 4,1 mol/g *biomass* untuk *Bacillus cereus* dan *Bacillus amyloliquefaciens*. Bioakumulasi timbal maksimum adalah 1,1 mol/g *biomass* untuk *Bacillus amyloliquefaciens*, 1,8 mol/g *biomass* untuk *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis*. *Bacillus subtilis* menjadi pengakumulasi logam Zn dan Pb terbaik bila dibandingkan dengan *Bacillus licheniformis*, *Bacillus cereus* dan *Bacillus amyloliquefaciens*. Berdasarkan uraian tersebut, maka dilakukanlah penelitian ini untuk mengetahui penggunaan bakteri *Bacillus subtilis* sebagai pendegradasi logam seng pada limbah pertambangan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. berapa kandungan logam seng dalam limbah pertambangan emas di Poboya Palu?
2. bagaimana kondisi optimum bakteri *Bacillus subtilis* dalam mendegradasi logam seng?
3. berapa kandungan logam seng akhir pada hasil biodegradasi?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Maksud dari penelitian ini adalah untuk menentukan dan mengetahui uji biodegradasi isolat bakteri *Bacillus subtilis* terhadap logam seng dari lahan tambang emas di Poboya Palu.

1.3.2 Tujuan Penelitian

1. menganalisis kandungan logam seng dalam limbah pertambangan emas di Poboya Palu.
2. mengkarakterisasi kondisi optimum bakteri *Bacillus subtilis* dalam mendegradasi logam seng.
3. menentukan kandungan logam seng akhir hasil biodegradasi.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi peneliti dan masyarakat mengenai bakteri pendegradasi logam seng serta mengetahui kemampuan bakteri dalam mengakumulasi logam berat seng yang terdapat pada lahan tambang emas di Poboya Palu.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Seng (Zn)

Seng merupakan logam berwarna putih kebiruan. Seng dilambangkan menggunakan Zn pada table periodik atau sistem periodik unsur, memiliki angka atom 30 dan massa atom relatifnya 65,39. Seng ialah unsur pertama golongan dua belas. Seng mempunyai warna putih kebiruan, berkilau, dan bersifat diamagnetik. Seng merupakan logam dengan urutan keempat paling banyak dipergunakan pada dunia industri setelah baja, aluminium, serta tembaga. Berdasarkan penggunaannya, seng banyak digunakan menjadi coating anoda untuk memproteksi baja dari korosi (Flora dan Pachauri, 2010).

Logam berat seng dalam keadaan sebagai ion bebas memiliki tingkat toksistas yang tinggi dan memiliki sifat reaktif dengan oksigen. Ikatan seng dan oksigen yang masuk ke dalam tubuh dapat menyebabkan zink berlebih yang berdampak pada kesehatan, salah satunya defisiensi mineral serta penurunan imunitas dalam tubuh, Sehingga diperlukan adanya analisis risiko logam berat seng pada kesehatan manusia. Analisis risiko kesehatan dilakukan untuk mengidentifikasi bahaya, memahami hubungan dosis agen risiko dengan respon tubuh, besaran pajanan agen risiko yang membahayakan serta menetapkan tingkat risiko dan efeknya bagi makhluk hidup (Rahmayanti, 2018)

Seng adalah logam reaktif yang akan bergabung dengan oksigen dan non logam, dan akan bereaksi dengan cairan asam untuk melepaskan hidrogen. Sejumlah besar seng kemungkinan ditemukan di tanah. Fungsi seng dalam tanaman terlibat dalam beberapa fungsi enzim untuk meningkatkan reaksi-reaksi

metabolik, sintesis senyawa-senyawa pertumbuhan tanaman, memproduksi klorofil, dan karbohidrat (Baihaqi, 2017). Tanaman akan sulit tumbuh pada tanah yang memiliki kandungan seng terlalu tinggi. Tanaman menyerap Zn sebagian besar dalam bentuk kation divalen (Zn^{2+}), tetapi pada pH tinggi mungkin diserap sebagai kation monokovalen ($ZnOH^+$). Zn terikat juga oleh asam organik selama pengangkutan di dalam xylem atau dapat berpindah bebas seperti kation divalent (Ratmini, 2014).

2.2 Pencemaran Tanah

Tanah sangat penting bagi kehidupan manusia dan makhluk hidup lainnya sehingga fungsi dari tanah tidak akan dapat digantikan dengan yang lainnya. Hampir seluruh kegiatan yang dilakukan manusia dilakukan diatas tanah, mulai dari tempat tinggal, pertanian, industri dan aktivitas lainnya (Achmad, 2004).

Menurut Palar (2008), yang dimaksud dengan pencemaran adalah suatu kondisi yang telah berubah dari kondisi asal menuju kondisi yang lebih buruk sebagai akibat masukan dari bahan bahan pencemar atau polutan. Suatu lingkungan dikatakan tercemar apabila telah terjadi perubahan-perubahan dalam tatanan lingkungan sehingga tidak sama lagi dengan bentuk asalnya, sebagai akibat masuknya atau dimasukkannya suatu zat atau benda asing ke dalam tatanan lingkungan. Perubahan ini memberikan dampak buruk terhadap organisme yang hidup dalam tatanan tersebut. Pada tingkat lanjut, perubahan ini juga dapat membunuh bahkan menghapuskan satu atau lebih organisme.

Menurut Manik (2003), Pencemaran tanah adalah masuknya bahan atau zat atau unsur lain ke dalam tanah sehingga konsentrasi suatu zat atau unsur hara tersebut menjadi racun bagi tanaman serta mengganggu ekosistem biota tanah.

Dengan tercemarnya tanah tersebut, maka tanah tidak dapat berfungsi sebagaimana peruntukannya. Tanah yang telah tercemar dapat mengakibatkan kerugian yang besar bagi manusia. Kerugian ini dapat berupa air yang berada dalam tanah menjadi tidak bermanfaat lagi untuk keperluan industri dan pertanian. Selain itu, tanah yang tercemar dapat menjadi penyebab timbulnya penyakit baik penyakit menular maupun tidak menular (Wardhana, 2001).

2.3 Bakteri *Bacillus* sp.

Bacillus sp. adalah bakteri yang berbentuk batang, mampu menghasilkan spora yang umumnya resisten terhadap panas, bersifat aerob (beberapa spesies bersifat anaerob), katalase positif, dan oksidasi bervariasi. Tiap spesies *Bacillus* memiliki perbedaan dalam penggunaan gula dimana sebagian besar melakukan fermentasi dan sebagian tidak. *Bacillus* sp. merupakan salah satu jenis bakteri yang mempunyai kemampuan untuk menghasilkan protease. Protease ialah satu diantara tiga kelompok enzim komersial yang bisa diperdagangkan sebagai katalisator hayati (Baehaki, 2011). Enzim ekstraseluler *Bacillus* sp. sangat efisien dalam memecah berbagai senyawa baik karbohidrat, lipid, dan protein rantai panjang menjadi unit-unit rantai pendek (Yusufa, 2013).

Bacillus sp. tergolong bakteri antagonis yang mempunyai kemampuan untuk menekan beberapa penyakit pada tanaman. Bakteri *Bacillus* dapat diperoleh dari tanah, air, udara, dan materi tumbuhan yang terdekomposisi. *Bacillus* sebagian bersifat motil (mampu bergerak). Hal ini disebabkan oleh flagel yang dimiliki dimana ketika dipanaskan akan membentuk endospora yaitu bentuk dorman sel vegetatif sebagai bentuk pertahanan diri yang hadir ketika kondisi sedang ekstrim (Graumann, 2007).

Menurut Jawetz dkk (2005) *Bacillus* diklasifikasikan sebagai berikut:

Regnum : Plantae
Kelas : Bacilli
Ordo : Bacillales
Family : Bacillaceae
Genus : Bacillus
Species : *Bacillus* sp.

Bacillus memiliki endospora sebagai mekanisme resistensi terhadap panas. Marga *Bacillus* merupakan salah satu bakteri yang mempunyai berbagai macam kemampuan yang dapat dikembangkan dalam skala industri. Menurut Atlas & Bartha (1987), *Bacillus* sp. sangat potensial untuk dikembangkan dalam industri bioteknologi karena mempunyai sifat-sifat seperti, memiliki kisaran suhu pertumbuhan yang luas, pembentuk spora, kosmopolit, tahan terhadap senyawa-senyawa antiseptik, bersifat aerob atau fakultatif anaerob, memiliki kemampuan enzimatik yang beragam, dan beberapa diantaranya mampu melakukan biodegradasi terhadap banyak senyawa rekalsitran dan xenobiotik. Selain itu yang utama adalah *Bacillus* sp tidak membutuhkan faktor tumbuh yang relatif mahal.

2.4 Kemampuan Bakteri Mengakumulasi Logam Berat

Unsur logam berat adalah unsur yang mempunyai densitas lebih dari 5 g/cm³. Seng mempunyai densitas 7,14 g/cm³ (Sudarmaji dkk, 2006). Penelitian Anyanwu dkk (2011) menunjukkan bahwa bakteri heterotrofik mampu toleran terhadap merkuri, seng, dan nikel pada konsentrasi 300-500 µg/g tanah. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri menunjukkan respon yang berbeda dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi logam berat.

Polusi air dapat disebabkan oleh dua jenis polutan, seperti bahan yang menyebabkan eutrofikasi dan bahan beracun yang menyebabkan kerusakan pada organisme air. Logam berat biasanya ditemukan sangat sedikit dalam air secara alami yang kurang dari 1 µg. Tingkat konsentrasi logam dalam air dibagi sesuai dengan tingkat polusi, seperti polusi berat, polusi sedang, dan non-polusi. Air yang mengalami polusi berat biasanya memiliki kandungan logam berat yang tinggi di dalam air dan organisme yang hidup di dalamnya. Pada tingkat polusi sedang, kandungan logam berat dalam air dan organisme dalam air berada dalam batas marginal. Adapun pada tingkat non-polusi, kandungan logam berat dalam air dan organisme sangat rendah dan bahkan tidak terdeteksi (Lestari dan Trihadiningrum, 2019)

Mikroba mampu mengakumulasi logam melalui mekanisme yang bergantung pada metabolisme (metabolism-dependent / active uptake) atau tidak bergantung metabolisme (metabolism-independent/ passive uptake). Pereduksian logam berat oleh mikroba dapat dilakukan dengan cara bioakumulasi atau biosorpsi. Pada proses bioakumulasi, logam akan ditransportasi melalui membran sel ke dalam sitoplasma. Adsorpsi logam ditentukan oleh kemampuan menyerap permukaan sel yang dipengaruhi oleh komponen penyusun dinding sel. Komponen permukaan dinding sel berupa gugus fungsional gugus karboksil, gugus fosfat, lipopolisakarida, asam teikoat dan asam teikuronat (Jiang dkk, 2004).

Mikroba yang berpotensi sebagai agen bioremediasi logam berat adalah mikroba yang resisten dan toleran terhadap keberadaan logam berat di lingkungan (Silva dkk, 2009). Beberapa mikroba yang sering diuji untuk untuk mereduksi

kadar cemaran logam berat di lingkungan antara lain dari kelompok fungi adalah *Aspergillus*, *Penicillium*, dan *Rhizopus*, dari kelompok bakteri adalah, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Micrococcus* (Puyen dkk, 2012) *Pseudomonas* (Uslu dan Tanyol, 2006; Wani dan Ayoola, 2015), dan *Serratia* (Cristani, 2012). Sel yang digunakan dapat berupa sel hidup maupun sel mati, misalnya pada biosorpsi Zn^{2+} oleh *Streptomyces ciscaucasicus* strain CCNWHX 72-14 (Li dkk 2010) dan Cd^{2+} oleh *Bacillus cereus* RC-1 (Huang dkk 2013).

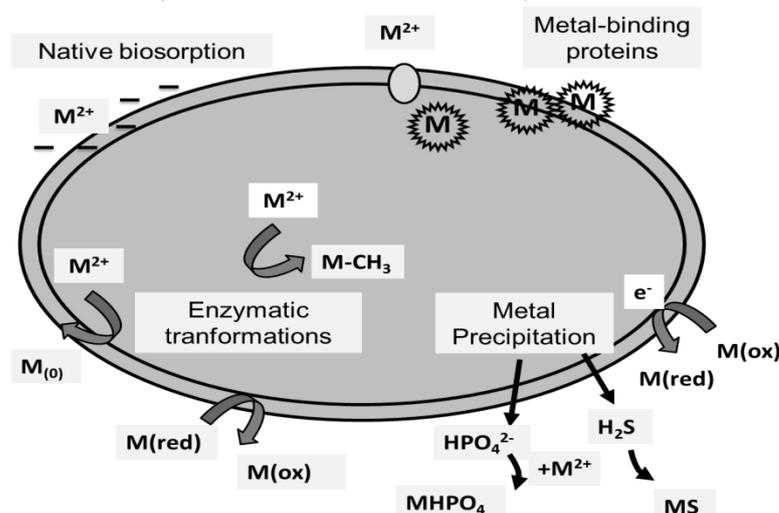
Babberapa bakteri menghasilkan biosurfaktan yang dapat menyerap berbagai jenis logam. Mekanisme reduksi oleh biosurfaktan yaitu dengan ion-exchange, presipitasi, dan ikatan ion (Acikel, 2011). Bakteri yang mampu menghasilkan biosurfaktan diantaranya adalah kelompok bakteri pendegradasi hidrokarbon yang kemudian disebut bakteri hidrokarbonoklastik (Rojo, 2009). Kelompok bakteri hidrokarbonoklastik akan melepaskan biosurfaktan ke lingkungan untuk menjerat senyawa hidrokarbon di lingkungan yang kemudian digunakan dalam metabolisme (Nugroho, 2006)

2.5 Mekanisme Akumulasi Logam Berat

Keberadaan logam berat di dalam tubuh organisme dikarenakan adanya mekanisme perpindahan logam berat dari lingkungan ke dalam sel, jaringan maupun organ (Valls dan De Lorenzo 2002). Esensi dan eksistensi logam berat dalam kurun waktu yang lama di lingkungan menjadi ancaman serius dan signifikan bagi lingkungan dan terakumulasi di dalam rantai makanan (Rajendran dkk., 2003). Akumulasi yang melebihi batas toleransi berefek toksik bagi organisme (Chaalal dan Zekri 2005).

Mekanisme perpindahan logam berat dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung. Transportasi logam berat dari alam secara langsung dapat terjadi pertama kali pada sel-sel mikroorganisme (Valls dan De Lorenzo, 2002) sebelum adanya suksesi di ekosistem pasca tambang atau tercemar. Mikroorganisme adalah organisme awal yang biasanya terdapat di ekosistem tercemar. Hal ini karena mikroorganisme memiliki kapabilitas dan kapasitas responsif serta cepat terhadap perubahan lingkungan sehingga sering digunakan sebagai salah satu indikator untuk mengetahui dan melihat perubahan lingkungan (Paerl dkk., 2003).

Interaksi antara logam berat dengan mikroorganisme terjadi melalui beberapa mekanisme seluler (Ahmad dan Malik 2011). Beberapa mekanisme pengikatan intra ataupun ekstraseluler yang dilakukan mikroorganisme saat berinteraksi dengan logam berat antara lain biosorpsi logam pada dinding sel, pengikatan logam pada protein, transformasi struktur logam secara enzimatik, hingga presepitasi logam yang dapat menyebabkan logam mengendap dan terakumulasi Gambar 1 (Vaals dan De Lorenzo 2002).



Gambar 1. Mekanisme Interaksi Logam Berat pada Mikroorganisme (Vaals dan De Lorenzo 2002).

Mekanisme interaksi lain yang dapat terjadi antara mikroorganisme dan logam adalah kompleksasi, kelasi, pertukaran ion, reaksi reduksioksidasi, dan lainnya (Ahemad dan Malik, 2011). Kemampuan mikroorganisme untuk berinteraksi dengan logam berat digunakan manusia untuk mengatasi residu toksik di lingkungan tercemar (Prakash dkk., 2013). Kemampuan adaptasi mikroorganisme pada awal proses suksesi di ekosistem tercemar menjadikannya berpotensi sebagai agen bioremediator.

2.6 Biodegradasi

Biodegradasi adalah proses di mana bahan organik dipecah oleh enzim yang dihasilkan oleh organisme hidup. Biodegradasi adalah istilah yang umum digunakan dalam kaitannya dengan ekologi, pengelolaan limbah, dan proses pemulihan lingkungan (bioremediasi). Bahan organik dapat diuraikan dengan cara aerobik atau anaerobik. Istilah yang berkaitan dengan biodegradasi adalah biomineralisasi, di mana bahan organik diubah menjadi mineral. Biodegradasi sering terjadi pada bahan organik, dengan pelakunya adalah mikroorganisme. Beberapa bahan yang dapat didegradasi oleh bakteri adalah senyawa hidrokarbon (misalnya minyak bumi), poliklorinasi bifenil (PCB), hidrokarbon poliaromatik (PAH), farmasi, radionuklida, dan logam.

Tabel.1 Jenis Polutan sebagai Substrat Pertumbuhan Bakteri Agen Pendegradasi (Khastini, 2022) dan (Meenambigai dkk.,2016)

No	Substrat	Jenis Bakteri
1	Hidrokarbon	<i>Bacillus</i> sp., <i>Azotobacter</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Klebsiella</i> sp., <i>Citrobacter</i> sp., <i>Enterobacter</i>
2	Plastik: polistirena/styrofoam	<i>Bacillus</i> sp., <i>Mycrobacterium</i> sp., <i>Staphylococcus</i> sp.
3	Logam berat: Hg	<i>Bacillus</i> sp., <i>Corynebacterium</i> sp., <i>Micrococcus</i> sp., <i>Vibrio</i> sp., <i>Serratia</i> sp., <i>Shigella</i> sp., <i>Enterobacter</i> sp., <i>Pseudomonas maltophilia</i> , <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Morganella morganii</i> , <i>Penicillum chrysogenum</i>
4	Logam berat: Cr	<i>Bacillus</i> sp. dan <i>Azotobacter</i> sp.
5	Logam berat: Zn	<i>Bacillus</i> sp.
6	Logam berat: Cd	<i>Alcaligenes</i> sp, <i>Pseudomonas</i> sp, <i>Moraxella</i> sp
7	Logam berat: Ni	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>P. licheniformis</i>
8	Logam berat : Ag	<i>Streptomyces noursei</i>
9	Logam berat : Au	<i>Aspergillus niger</i> <i>Chlorella pyrenoidosa</i>
10	Logam berat: Co	<i>Sacchromyces cerevisiae</i>
11	Logam berat: Cu	<i>Cardida tropicalis</i> <i>Bacillus licheniformis</i>
12	Logam berat: Fe	<i>Bacillus subtilis</i>
13	Logam berat: Mn	<i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Bacillus subtilis</i>
14	Logam berat: Pb	<i>Penicillum chrysogenum</i>
15	Uranium dan Torium	<i>Sacchromyces cerevisiae</i>
17	Ammonium nitrogen	<i>Bacillus</i> sp., <i>Agrobacterium vitis</i> , <i>Staphylococcus saprophyticus</i> , <i>Bacillus thuringiensis</i> , <i>Bacillus megaterium</i> , dan <i>Micrococcus luteus</i>
18	Selulosa, protein, amilum dan lipid	<i>Cellulomonas</i> sp., <i>Rhodothermus</i> sp., <i>Bacillus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Acinetobacter</i> sp.

Biodegradasi suatu polutan tergantung pada jenis mikroorganismenya. mikroorganisme terdegradasi dalam beberapa cara (Lemigas, 1995):

1. Akumulasi

Salah satu faktor yang mempengaruhi bioakumulasi atau bioabsorpsi mikroorganisme adalah pH. Hasil penelitian (Suh dkk, 1999) pada Pengaruh pH terhadap akumulasi Pb^{2+} dari limbah industri oleh 18 mikroorganisme, menunjukkan bahwa pH optimal untuk akumulasi Pb^{2+} pada *Saccharomyces cerevisiae* adalah pH 5, sedangkan *Aureobasidium pullulans* berada pada pH 6-7. Proses Akumulasi kedua mikroorganisme tersebut jelas berbeda, karena pada *S. cerevisiae* ion Pb^{2+} dapat menembus ke dalam sel, sedangkan pada *A. pullulans*, akumulasi hanya terjadi pada bahan makromolekul ekstraseluler di sekitar permukaan sel.

2. Biosorpsi

Biosorpsi logam beracun didasarkan pada proses non-enzimatik seperti adsorpsi. Adsorpsi adalah pengikatan nonspesifik ion ke permukaan sel, atau polisakarida ekstraseluler dan protein. Dinding sel bakteri dan lapisannya, dinding jamur, ragi dan alga efektif sebagai biosorben logam (gugus pengikat bermuatan). Ion logam dapat ditransfer melalui biomassa bakteri hidup atau mati. Banyak spesies memiliki kadar kitin yang tinggi di dinding selnya dan polimer Naacetylglucosamine ini merupakan biosorben yang efektif.

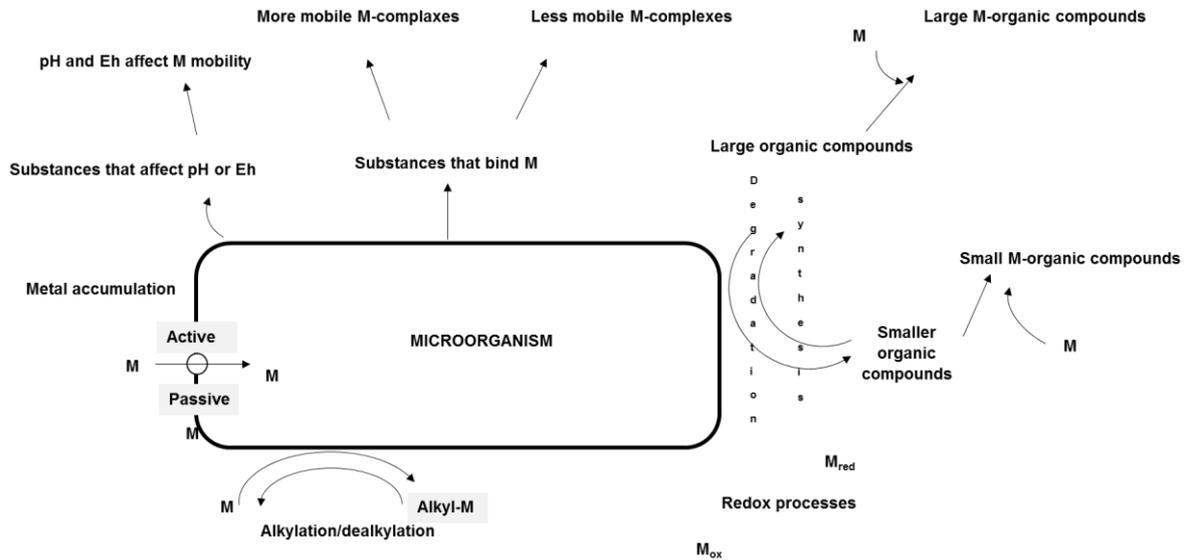
3. Pengendapan

Degradasi fosfat organik oleh mikroba menjadi ortofosfat dapat menyebabkan pengendapan logam melalui pembentukan logam fosfat, terutama pada $pH > 7$, termasuk fosfat intraseluler yang menyebabkan fiksasi logam.

(Rufus dkk, 2001) melaporkan bahwa tingginya kontribusi besi dan fosforus dalam tanah juga dapat memperbaiki ekologi tanah dan limbah tercemar seng, cadmium dan timbal ketika pH tanah ditingkatkan dengan penambahan kapur. Aplikasi kapur, CaCO_3 , CaO dan CaOH , saat ini digunakan untuk mengolah tanah masam yang terkontaminasi logam berat (Winking dan Dollhopf, 2000).

Akumulasi logam berat di dalam sel bakteri terjadi oleh adanya ikatan protein dalam sel dengan logam berat. Protein ini disebut metallothionein, yang berperan dalam melakukan *metal-binding* atau pengekapan logam di dalam sel (Thompson dan Watling, 1987). Hal inilah yang menyebabkan bakteri dapat resistan terhadap logam berat (Fahruddin dkk, 2019).

Ledin dan Pedersen (1996) juga menegaskan mengenai pentingnya peranan mikroorganisme di lingkungan terkontaminasi (limbah) dengan konsentrasi logam berat tinggi. Prinsip kerja mikroorganisme dapat mempengaruhi mobilisasi atau immobilisasi logam. Kehadiran mikroorganisme dapat mempengaruhi penyebaran logam dengan cara yang berbeda. Kehidupan mikroorganisme bebas merupakan partikel mobile yang memiliki kemampuan tertinggi dalam menyerap logam. Bila mayoritas dari mikroorganisme berada dalam biofilms pada permukaan, maka pergerakan logam menjadi berkurang, karena beberapa mikroorganisme dapat menyebabkan logam-logam mengendap, seperti sulfida.



Gambar 2. Prinsip mikroorganisme dalam mempengaruhi mobilitas logam (Ledin & Pedersen, 1996)

Ledin dan Pedersen (1996) menegaskan pentingnya peranan mikroorganisme di lingkungan terkontaminasi (limbah) dengan konsentrasi logam berat tinggi (Gambar 2). Prinsip kerja mikroorganisme dapat mempengaruhi mobilisasi atau immobilisasi logam. Kehadiran mikroorganisme dapat mempengaruhi penyebaran logam dengan cara yang berbeda. Kehidupan mikroorganisme bebas merupakan partikel mobile yang memiliki kemampuan tertinggi dalam menjerap logam. Bila mayoritas dari mikroorganisme bertumbuh dalam biofilms pada permukaan, maka pergerakan logam menjadi berkurang, karena beberapa mikroorganisme dapat menyebabkan logam-logam mengendap, seperti sulfida.

Mikroorganisme dapat berinteraksi dengan logam berat melalui banyak mekanisme, beberapa di antaranya dapat digunakan sebagai dasar untuk strategi bioremediasi potensial. Mekanisme dimana mikroorganisme bekerja pada logam berat termasuk biosorpsi (penyerapan logam ke permukaan sel oleh mekanisme fisikokimia), bioleaching (mobilisasi logam berat melalui ekskresi asam organik

atau reaksi metilasi), biomineralisasi (imobilisasi logam berat melalui pembentukan sulfida yang tidak larut atau kompleks polimerik), akumulasi intraseluler dan transformasi enzim yang dikatalisis (Lloyd, 2002). Hasil penelitian menunjukkan bahwa setiap mikroorganisme memiliki kemampuan ketahanan terhadap logam berat yang berbeda-beda. (Pereira dkk 2009) menjelaskan bahwa mikroorganisme dapat bertahan pada konsentrasi logam berat yang tinggi tergantung pada aktivitas bakteri tersebut mampu menghilangkan efek beracun dari logam berat pada daerah yang terkontaminasi.

2. 7 Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)

Salah satu metode analisis kimia, baik untuk analisis kuantitatif maupun untuk analisis kualitatif adalah analisis dengan menggunakan alat instrumentasi photometer (Sari, 2010). Spektroskopi serapan atom didasarkan pada serapan oleh atom pada keadaan dasar suatu unsur dalam sampel yang diatomisasi dalam api atau tungku grafit (Arora, 2014).

Teknik SSA menjadi alat yang canggih dalam analisis, ini disebabkan di antaranya oleh kecepatan analisisnya, ketelitiannya sampai tingkat runtu, tidak memerlukan pemisahan pendahuluan. Kelebihan kedua adalah kemungkinannya untuk menentukan konsentrasi semua unsur pada konsentrasi runtu. Ketiga, sebelum pengukuran tidak selalu perlu memisahkan unsur yang ditentukan karena kemungkinan penentuan satu unsur dengan kehadiran unsur lain dapat dilakukan asalkan katoda berongga yang diperlukan tersedia (Khopkar, 1990).

Alat spektrophotometer yang secara khusus mengukur konsentrasi bahan kimia berupa atom bukan senyawa disebut spektrophotometer nyala (*flame spectrophotometer*) yang memakai obyek nyala api pembakar. Berdasarkan

metodenya (emisi atau absorpsi), dikenal dua jenis spektrophotometer nyala yaitu Spektrophotometer Emisi Nyala disingkat SEN dan Spektrophotometer Serapan Atom disingkat SSA (Atomic AbsorbtionSpectroscopy, AAS).



Gambar 3. Alat Instrumentasi AAS (Sari, 2010).

Menurut Sumardi (1996) Metoda SSA mempunyai segi-segi yang baik sebagai berikut:

1. Spesifik.
2. Batas deteksi yang rendah.
3. Dari larutan yang sama, beberapa unsur yang dapat diukur.
4. Pengukuran dapat langsung dilakukan terhadap larutan.
5. Output data (Absorbansi) dapat dibaca langsung.
6. Cukup ekonomis.
7. Dapat diaplikasikan kepada banyak jenis unsur.
8. Batas kadar-kadar yang dapat ditentukan adalah amat luas

Sistem instrumentasi dasar dari SSA digambarkan pada Gambar 4 di bawah ini (Djunaidi, 2018):

Gambar 4. Sistem Instrumentasi dasar dari SSA (Djunaidi, 2018):

- a. Sumber radiasi yang paling banyak digunakan pada SSA adalah lampu katoda cekung (hollow cathode lamp). Lampu katoda cekung terdiri dari anoda dan katoda dimana kedua elektroda tersebut berada dalam tabung gelas yang diisi dengan gas Neon (Ne) atau Argon (Ar)
- b. chopper, digunakan untuk membedakan radiasi yang berasal dari sumber radiasi, dan radiasi yang berasal dari nyala api,
- c. atomisator/pembakar, berfungsi untuk mengatomisasi logam-logam sehingga dapat menyerap energi radiasi yang diberikan,
- d. Monokromator, dalam sistem SSA berfungsi untuk memisahkan radiasi dari lampu katoda yang telah melalui pembakar dengan radiasi-radiasi lain yang dihasilkan oleh pembakar sehingga yang masuk ke dalam detektor,
- e. Detektor, berfungsi mengubah sinyal radiasi menjadi radiasi listrik,
- f. Amplifier (penguat), berfungsi sebagai penguat sinyal listrik yang dihasilkan oleh detektor,
- g. Recorder, berfungsi sebagai pengubah sinyal listrik menjadi tampilan data.

Metode yang digunakan untuk penentuan kadar logam-logam tersebut adalah dengan metode AAS (Raimon, 1993). Salah satu syarat analisis logam dengan menggunakan AAS adalah sampel harus berupa larutan, maka sebelum kadar logam dalam sampel dianalisis dilakukan destruksi terlebih dahulu untuk menghilangkan/memisahkan kandungan ion lain, dengan perlakuan awal diharapkan kesalahan pada saat analisis dapat ditekan seminimal mungkin (Murtini dkk., 2017). Destruksi merupakan suatu perlakuan untuk melarutkan atau

mengubah sampel menjadi bentuk materi yang dapat diukur sehingga kandungan unsur-unsur didalamnya dapat dianalisis.

Pada dasarnya ada dua jenis pendestruksian yang biasa dilakukan yaitu destruksi basah dengan menggunakan pereaksi asam untuk mendekomposisi sampel dan destruksi kering dengan menggunakan pemanasan atau penghancuran dengan menggunakan suhu yang sangat tinggi. Menurut Raimon (1993) dalam suatu proses destruksi pelarut-pelarut yang dapat digunakan antara lain asam nitrat, asam sulfat, asam perklorat dan asam klorida. Kesemua pelarut tersebut dapat digunakan baik itu tunggal maupun campuran. Setelah proses destruksi diharapkan yang tertinggal hanya logam-logam saja dalam bentuk ion.