

OPTIMASI PERTUMBUHAN ISOLAT BAKTERI TERMOFIL *Bacillus licheniformis* 1A1 PADA PROSES *BIOLEACHING* LOGAM Ni TIDAK TERLARUT MENJADI TERLARUT PADA TANAH TAMBANG

ANNISA MAULIDA ALIMUDDIN

H31115520



**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

OPTIMASI PERTUMBUHAN ISOLAT BAKTERI TERMOFIL *Bacillus licheniformis* 1A1 PADA PROSES BIOLEACHING LOGAM Ni TIDAK TERLARUT MENJADI TERLARUT PADA TANAH TAMBANG

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

Oleh:

ANNISA MAULIDA ALIMUDDIN

H311 15 520



MAKASSAR

2020

Skripsi

OPTIMASI PERTUMBUHAN ISOLAT BAKTERI TERMOFILIK *Bacillus licheniformis* 1A1 PADA PROSES *BIOLEACHING* LOGAM Ni TIDAK TERLARUT MENJADI TERLARUT PADA TANAH TAMBANG

Disusun dan diajukan oleh:

ANNISA MAULIDA ALIMUDDIN

H311 15 520

Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh:

Pembimbing Utama



Dr. Rughayah Arfah, M.Si
NIP. 19611231 198702 2 002

Pembimbing Pertama



Dj. Mawadi, S.Si, M.Si
NIP. 19850628 201012 1 004

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Annisa Maulida Alimuddin
Nomor Mahasiswa : H31115520
Program Studi : Kimia

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 16 November 2020



Annisa Maulida Alimuddin

PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahim,

Puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan segala nikmat dan hidayahnya, serta memudahkan penulis dalam proses penyelesaian skripsi yang berjudul “**Optimasi Pertumbuhan Isolat Bakteri Termofil *Bacillus licheniformis* 1A1 Pada Proses *Bioleaching* Logam Ni Tidak Terlarut Menjadi Terlarut Pada Tanah Tambang**”. Beragam kendala dan tantangan yang dialami penulis, namun berkat doa, bantuan, motivasi, dan dukungan dari berbagai pihak hingga akhirnya skripsi ini dapat diselesaikan.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada orang tua tercinta Ayahanda **Alimuddin M.T** dan Ibunda **Besse Yurika** yang senantiasa menyayangi tanpa syarat, tak henti-hentinya mendoakan dan mendukung setiap langkah penulis. Serta Kakak dan Adik tersayang **Aswar, Surya, Widya, Sofyan, Hafsha dan Aisyah** yang selalu dirindukan, terima kasih untuk selalu ada dalam keadaan apapun, siap sedia untuk membantu, dan selalu menghibur.

Penulis juga mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang tulus kepada Ibu **Dr. Rugaiyah A. Arfah, M.Si** dan Bapak **Dr. Muliadi, S.Si., M.Si** selaku pembimbing yang selama ini telah banyak meluangkan waktu, dengan sabar memberikan ilmu, pemikiran, motivasi, serta bimbingan kepada penulis dalam melaksanakan penelitian maupun proses penyelesaian skripsi ini. Tak lupa pula penulis ucapkan terima kasih kepada Bapak **Prof. Dr. Abd Wahid Wahab, M.Sc.** selaku ketua penguji dan Bapak **Dr. Maming, M.Si** selaku sekertaris penguji yang telah banyak memberikan arahan dan masukan untuk penulis.

Dengan hati yang tulus dan penuh hormat, penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Dekan FMIPA Unhas, **Dr. Eng, Amiruddin, S.Si, M.Si** serta seluruh staf FMIPA Unhas.
2. Bapak Ketua Departemen Kimia, **Dr. Abdul Karim, M.Si** dan seluruh dosen yang telah membimbing dan membagi ilmunya kepada penulis selama menempuh pendidikan serta seluruh staf Departemen Kimia atas bantuannya.
3. Seluruh analis Departemen Kimis FMIPA Unhas terkhusus **Kak Akbar dan Kak Anti** yang selalu sabar mengarahkan dan membantu serta **Kak Fibi** yang tak pernah lelah membantu dalam analisis SSA dan memotivasi penulis.
4. Seluruh kakak-kakak, adik-adik, Warga dan Alumni **HMK FMIPA Unhas** terkhusus Kanda-kanda **Titiasi, dinda Kromofor, Alifatik dan KMFMIPA Unhas** terkhusus **Angkatan 2015** dan **Pengurus BEM Periode 2018/2019** terima kasih atas pelajaran dan pengalaman yang tak terlupakan.
5. Teman-teman Kimia angkatan 2015, saudara-saudariku **Polihedra 2015**, serta teman-teman peneliti Laboratorium Biokimia terima kasih atas kebersamaan dan pengalaman yang mengesankan.
6. Sahabat-sahabat terkasih yang katanya Avanger Hijrah, **Fira, Nopi, Enab, Uti, Cici, Faje, Sinar, Yani, Ida, Wirda, Kholia, Yogie, Putu, Khae, Irwan, dan Gattang**, mereka yang akan paling terindukan, terima kasih atas segala kerepotannya dan semua kenangan indah yang terukir bersama.

7. Teman KKN Kecamatan Mandalle Gelombang 99 Desa Mandalle, **Susi, Inna, Tia, Herdin, Luthfi dan Tisar**. Waktu yang singkat namun menyenangkan, terima kasih atas semua bantuannya.
8. Semua pihak yang membantu penulis dalam penelitian maupun penyelesaian skripsi. Terima kasih yang sebanyak-banyaknya. Semoga Allah SWT membalas kebaikan semua. Aamiin.

Penulis sadar masih terdapat banyak kesalahan serta kekurangan sehingga penulis sangat menerima saran dan kritik dari semua pihak. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pihak yang membaca maupun bagi penimba ilmu pengetahuan.

Penulis

6 Januari 2020

ABSTRAK

Penelitian optimasi pertumbuhan isolat bakteri termofilik *Bacillus licheniformis* 1A1 pada proses *bioleaching* logam Ni tidak terlarut menjadi terlarut pada tanah tambang dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kondisi optimum isolat bakteri termofilik *Bacillus licheniformis* 1A1 dalam menghasilkan logam Ni hasil *bioleaching*. Konsentrasi Ni hasil *bioleaching* diukur menggunakan instrumen spektrofotometer serapan atom (SSA). Variabel yang digunakan yaitu variabel pH 6; 7; 8; dan 9, variabel suhu 40; 45; 50; 55 °C dan waktu inkubasi selama 0 sampai 24 jam dengan selang 3 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar Ni hasil *bioleaching* tertinggi sebesar 2,4606 mg/L pada pH 8, 50 °C, dengan waktu inkubasi optimum selama 24 jam.

Kata kunci: *Bacillus licheniformis*, *bioleaching*, nikel, tanah tambang,

ABSTRACT

Research on optimization of the growth of *Bacillus licheniformis* 1A1 isolates in the bioleaching process of insoluble Ni metals to dissolved metals in mines was carried out to find out the optimum conditions of *Bacillus licheniformis* 1A1 isolates in producing bioleaching Ni metals. Ni concentration of bioleaching results was measured using an atomic absorption spectrophotometer (AAS). The variable used are variable in pH 6; 7; 8; and 9, temperature variable 40; 45; 50; 55 °C and incubation time for 0 to 24 hours with an interval of 3 hours. The results showed that the highest levels of Ni bioleaching results were 2,4606 mg/L at pH 8, 50 °C, with the optimum incubation time for 24 hours.

Keywords: *Bacillus licheniformis*, *bioleaching*, mine soil, nickel

DAFTAR ISI

Halaman

PRAKATA.....	iv
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN.....	xv
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 Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tambang dan Mineral di Indonesia.....	5
2.2 Nikel.....	6
2.2.1 Sifat Kimia dan Fisika Nikel.....	7
2.2.1.2 Sifat Kimia Nikel.....	7
2.2.1.3 Sifat Fisika Nikel.....	7
2.2.2 Kegunaan Nikel.....	8
2.2.3 Aspek Kesehatan Nikel.....	9

2.2.4	Ekstraksi Nikel.....	10
2.3	Bakteri.....	11
2.3.1	Media Pertumbuhan Bakteri	11
2.3.2	Pertumbuhan Bakteri.....	15
2.4	<i>Bioleaching</i>	17
2.4.1	Mekanisme <i>Bioleaching</i>	18
2.4.2	Faktor yang Mempengaruhi Proses <i>Bioleaching</i>	19
2.4.3	Bakteri <i>Leaching</i>	21
2.4.3.1	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	22
2.4.3.2	<i>Escherichia coli</i>	23
2.4.3.3	<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	23
2.4.3.4	<i>Bacillus sp</i>	24
2.5	Bakteri <i>Bacillus licheniformis</i>	25
2.6	<i>Bioleaching</i> Nikel	27
 BAB III METODE PENELITIAN.....		 30
3.1	Bahan Penelitian	30
3.2	Alat Penelitian.....	30
3.3	Waktu dan Tempat Penelitian	30
3.4	Prosedur Penelitian	31
3.4.1	Preparasi Sampel.....	31
3.4.2	Pembuatan Buffer Fosfat 0,2 M.....	31
3.4.2.1	Pembuatan Larutan KH_2PO_4	31
3.4.2.2	Pembuatan Larutan K_2HPO_4	31
3.4.2.3	Pembuatan Buffer Fosfat 0,2 M pH 6.....	31
3.4.2.4	Pembuatan Buffer Fosfat 0,2 M pH 7	32

3.4.2.5	Pembuatan Buffer Fosfat 0,2 M pH 8.....	32
3.4.3	Pembuatan Buffer Borat-Boraks 0,2 M pH 9	32
3.4.4	Pembuatan Medium	32
3.4.4.1	Pembuatan Medium Agar Miring	32
3.4.4.2	Pembuatan Medium Cawan Petri.....	33
3.4.4.3	Pembuatan Medium Inokulum.....	33
3.4.4.4	Pembuatan Medium Produksi	34
3.4.5	Penentuan Kandungan Mineral pada Sampel Tanah Tambang dengan Metode XRF	34
3.4.6	Peremajaan Isolat Bakteri	34
3.4.7	Pertumbuhan Isolat Bakteri <i>Bacillus licheniformis</i> 1A1 pada Medium Cawan Petri	34
3.4.8	Optimasi Pertumbuhan Isolat Bakteri Termofil <i>Bacillus licheniformis</i> 1A1 untuk Ekstraksi Logam Mn Tak Terlarut menjadi Terlarut dengan Proses <i>Bioleaching</i>	35
3.4.8.1	Penentuan pH Optimum.....	35
3.4.8.2	Penentuan Suhu Optimum	36
3.4.8.3	Penentuan Waktu Pertumbuhan Optimum.....	36
3.4.9	Penentuan Konsentrasi Nikel Terlarut Hasil <i>Bioleaching</i> menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom.....	37
3.4.9.1	Pembuatan Larutan Induk Ni(II) 1000 mg/L	37
3.4.9.2	Pembuatan Larutan Ni(II) 100 mg/L	37
3.4.9.3	Pembuatan Deret Standar dan Penentuan Kurva Kalibrasi..	37
3.4.9.4	Penentuan Konsentrasi Nikel Terlarut pada Medium Cair Sebelum Melalui Proses <i>Bioleaching</i> menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)	38
3.4.9.4	Penentuan Konsentrasi Nikel Terlarut pada Medium Cair Setelah Melalui Proses <i>Bioleaching</i> menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)	38
3.4.10	Perhitungan Konsentrasi Logam Nikel Terlarut Hasil <i>Bioleaching</i>	38

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	40
4.1 Mineral yang Terkandung pada Sampel Tanah Tambang dengan menggunakan Metode XRF.....	40
4.2 Optimasi Pertumbuhan Bakteri <i>Bacillus licheniformis</i> 1A1 untuk Ekstraksi Logam Ni tidak Terlarut menjadi Terlarut pada Proses <i>Bioleaching</i> berdasarkan pengaruh pH, Suhu dan Waktu Pertumbuhan.....	40
4.2.1 pH optimum <i>bioleaching</i> logam Ni.....	41
4.2.1 Suhu optimum <i>bioleaching</i> logam Ni.....	46
4.2.3 Waktu pertumbuhan optimum <i>bioleaching</i> logam Ni	48
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	 51
5.1 Kesimpulan	51
5.2 Saran.....	51
 DAFTAR PUSTAKA	 52
LAMPIRAN.....	57

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Karakteristik Logam Nikel Karakteristik Keterangan Nama logam Nikel	9
2. Beberapa hasil penelitian mengenai optimasi pH pada proses <i>bioleaching</i> logam Ni menggunakan bakteri	45
3. Beberapa hasil penelitian mengenai optimasi Suhu pada proses <i>bioleaching</i> logam Ni menggunakan bakteri.....	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Logam Nikel.....	7
2. Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme.....	18
3. Sampel Serbuk Tanah	41
4. Pengaruh pH terhadap pertumbuhan isolat bakteri termofilik <i>Bacillus licheniformis</i> 1A1 (Nilai OD) dan konsentrasi logam Ni (mg/L) dengan kondisi suhu 50 °C dan kecepatan agitasi 150 rpm selama 1 x 24 jam.....	43
5. Pengaruh suhu terhadap pertumbuhan isolat bakteri termofilik <i>Bacillus licheniformis</i> 1A1 (Nilai OD) dan konsentrasi logam Ni (mg/L) dengan kondisi pH optimum (pH 8) dan kecepatan agitasi 150 rpm selama 1x24 jam	48
6. Pengaruh waktu inkubasi terhadap pertumbuhan isolat bakteri <i>Bacillus licheniformis</i> 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.....	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Tahap Penelitian	58
2. Preparasi Sampel	59
3. Skema Optimasi Pertumbuhan Bakteri <i>Bacillus licheniformis</i> untuk Ekstraksi Logam Ni tak Terlarut menjadi Terlarut dengan Proses <i>Bioleaching</i>	60
4. Komposisi <i>Nutrient Agar</i> dan <i>Nutrient Broth</i>	61
5. Hasil data analisis kandungan mineral dalam sampel tanah menggunakan XRF	62
6. Pembuatan Larutan <i>Buffer</i> Fosfat 0,2 M.....	63
7. Larutan <i>Buffer</i> Borat-Boraks	64
8. Pembuatan Larutan Ni	65
9. Data Absorbansi Kurva Standar Larutan Ni untuk Penentuan Kadar Logam Ni	66
10. Nilai OD dan Hasil Kadar Logam Ni pada Optimasi pH Pertumbuhan Bakteri <i>Bacillus licheniformis</i> untuk Ekstraksi Logam Ni Tak Terlarut menjadi Terlarut dengan Proses <i>Bioleaching</i>	67
11. Nilai OD dan Hasil Kadar Logam Ni pada Optimasi Suhu Pertumbuhan Bakteri <i>Bacillus licheniformis</i> untuk Ekstraksi Logam Ni Tak Terlarut menjadi Terlarut dengan Proses <i>Bioleaching</i>	69
12. Nilai OD dan Hasil Kadar Logam Ni pada Optimasi Waktu Pertumbuhan Bakteri <i>Bacillus licheniformis</i> untuk Ekstraksi Logam Ni Tak Terlarut menjadi Terlarut dengan Proses <i>Bioleaching</i>	71
13. Dokumentasi Penelitian	74

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

Simbol/Singkatan	Keterangan
SSA	<i>Spektrofotometri Serapan Atom</i>
XRF	<i>X-RAY Fluorescence</i>
NA	<i>Nutrient Agar</i>
NB	<i>Nutrient Broth</i>
rpm	<i>Rotasi Per Menit</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki kandungan sumber daya mineral yang cukup melimpah sehingga menjadikan Indonesia sebagai negara produsen bahan tambang terbesar di dunia. Prestasi ini menempatkan Indonesia menjadi negara terbesar kelima di dunia sebagai produsen nikel (Satriawan, 2015). Berdasarkan data Pusat Sumber Daya Geologi (2016) yang diacu dalam Haryadi (2017), pada tahun 2015 menunjukkan bahwa Indonesia memiliki potensi sumber daya nikel sebesar 5,65 miliar. Sumber daya dan cadangan nikel yang dimiliki Indonesia tersebut tersebar di beberapa provinsi yaitu Sulawesi, Maluku, Kalimantan dan Papua.

Nikel merupakan logam yang penting dan mempunyai banyak kegunaan. Nikel digunakan untuk produksi baja tahan karat (*stainless steel*) dan baja paduan, produksi paduan non logam (*nonferrous alloy*) dan *superalloy*. Berdasarkan pembentukannya, bijih nikel diklasifikasikan menjadi dua, yaitu sulfida dan laterit. Jenis sulfida terbentuk ribuan meter di bawah permukaan bumi oleh reaksi sulfur dengan batuan yang mengandung nikel. Jenis laterit terbentuk dalam waktu yang lama sebagai hasil pelapukan batuan yang mengandung nikel dan menghasilkan nikel yang terdeposit lagi pada pembentukan oksida atau silikat (Mayangsari dan Agus, 2016).

Metode konvensional untuk mengekstraksi nikel dari bijih nikel laterit dilakukan melalui jalur pirometalurgi dan hidrometalurgi. Proses hidrometalurgi merupakan proses pengolahan mineral yang dilakukan pada suhu yang relatif rendah dengan cara pelindihan menggunakan larutan kimia, sedangkan proses

pirometalurgi merupakan proses pengolahan mineral yang dilakukan pada suhu yang tinggi (Kyle, 2010). Meskipun proses tersebut masih dilakukan oleh seluruh industri pengolah nikel sampai saat ini, kedua proses tersebut masih memiliki dampak negatif terhadap lingkungan, seperti residu larutan kimia pada proses hidrometalurgi yang mencemari lingkungan dan polusi udara yang ditimbulkan pada proses pirometalurgi. Hal ini menyebabkan penelitian mengenai proses pengolahan mineral secara modern banyak dilakukan untuk mengatasi permasalahan yang muncul pada proses pengolahan mineral secara konvensional. Salah satu metode alternatif untuk ekstraksi nikel yang saat ini sedang menjadi perhatian para peneliti dunia adalah *bioleaching* (Tang dkk., 2006).

Bioleaching merupakan suatu proses untuk melepaskan (*remove*) atau mengekstraksi logam dari mineral atau sedimen dengan bantuan organisme hidup (Brandl, 2001). Sementara Bosecker (1987) mengungkapkan bahwa *bioleaching* merupakan suatu proses ekstraksi logam yang dilakukan dengan bantuan bakteri yang mampu mengubah senyawa logam yang tidak dapat larut menjadi senyawa logam sulfat yang dapat larut dalam air melalui reaksi biokimia. Beberapa kelompok bakteri asidifik yang telah digunakan dalam proses *bioleaching* adalah bakteri kelompok mesofil, termofil dan termofil ekstrim (Suzuki, 2001).

Menurut Deveci dkk, (2003) bahwa untuk mengontrol dan memastikan proses *bioleaching* berlangsung sempurna ada beberapa parameter yang perlu diperhatikan dan dioptimasi antara lain pH, suhu, nutrisi dan media pertumbuhan, ukuran partikel dan laju pengadukan. Penelitian yang telah dilakukan oleh Ilyas dkk. (2010) pada proses *bioleaching* ion logam Fe, Cu, Ni, Co dan Zn menggunakan bakteri *Sulfobacillus termosulfidooxidans* pada kondisi pertumbuhan pH 1.8, suhu 47 °C, ukuran partikel 120 µm, agitasi 180 rpm, hasil

persen yang diperoleh dalam *bioleaching* ion logam yaitu sebesar Zn 72 %, Co 68 %, Cu 78 %, Ni 81 % dan Fe 70 %.

Jenis-jenis bakteri asidifik yang telah diaplikasikan untuk memperoleh logam antara lain: *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus caldus*, *Sulfobacillus metallicus*, *A. brierleyi*, *Bacillus sp.* dan *Sulfolobus-like archaea* (Rawling dkk, 2003; Norris dkk, 2000). Bakteri-bakteri tersebut merupakan mikroba yang mempunyai ukuran sel sangat kecil. Bakteri memerlukan nutrisi dan tempat yang cukup untuk tumbuh dan berkembang. (Rizky, 2013). Pertumbuhan pada bakteri dapat didefinisikan sebagai penambahan volume, ukuran, serta penambahan jumlah sel. Pertumbuhan sel bakteri biasanya mengikuti suatu pola pertumbuhan tertentu berupa kurva pertumbuhan (Rofi'i, 2009).

Bakteri-bakteri atau mikroorganisme tersebut juga merupakan salah satu sumber penghasil enzim yang memiliki nilai ekonomis penting dan banyak digunakan dalam industri saat ini, terutama mikroba termofil. Mikroba termofil dapat ditemukan pada kondisi yang ekstrim seperti ekstrim suhu, salinitas, dan pH. Menurut Waluyo (2005), bakteri termofil mampu hidup pada kisaran suhu 40 – 80 °C. Bakteri adalah salah satu mikroba yang mampu bertahan hidup pada suhu tinggi biasanya disebut sebagai bakteri termofil, bakteri tersebut umumnya dapat menghasilkan enzim termofil dan termostabil (Edwards, 1990).

Salah satu contoh bakteri termofil adalah *Bacillus licheniformis*. *Bacillus licheniformis* merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang dengan panjang antara 1.5 um sampai 3 um dan lebar antara 0.6 um sampai 0.8 um (Gordon, 1972). Pada penelitian ini digunakan isolat bakteri termofil *Bacillus licheniformis* 1A1 untuk diuji kemampuannya dalam proses *bioleaching* logam Ni tidak terlarut menjadi tak terlarut dalam tanah tambang.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini, antara lain:

1. apakah isolat bakteri termofil *Bacillus licheniformis* 1A1 berpotensi pada proses *bioleaching* logam nikel tidak terlarut menjadi terlarut dalam tanah tambang ?
2. bagaimana kondisi optimum pertumbuhan isolat bakteri termofil *Bacillus licheniformis* 1A1 untuk menghasilkan logam terlarut maksimum pada proses *bioleaching* ?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Maksud dari penelitian ini adalah untuk melihat potensi dan mengoptimasi pertumbuhan isolat bakteri termofil *Bacillus licheniformis* 1A1 dalam proses *bioleaching*.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini, antara lain:

1. potensi isolat bakteri termofil *Bacillus licheniformis* 1A1 pada proses *bioleaching* logam nikel tidak terlarut menjadi terlarut dalam tanah tambang
2. kondisi optimum pertumbuhan isolat bakteri termofil *Bacillus licheniformis* 1A1 untuk menghasilkan logam terlarut maksimum pada proses *bioleaching*.

1.4 Manfaat Penelitian

Sebagai sumber informasi bagi civitas akademika tentang potensi bakteri termofil *Bacillus licheniformis* 1A1 sebagai mikroorganisme yang dapat digunakan dalam proses *bioleaching*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tambang dan Mineral di Indonesia

Tambang dan Mineral di Indonesia Menurut UU Nomor 04 Tahun 2009 tentang Pertambangan Mineral dan Batubara, bahwa pertambangan adalah sebagian atau seluruh tahapan kegiatan dalam rangka penelitian, pengelolaan dan pengusahaan mineral atau batubara yang meliputi penyelidikan umum, eksplorasi, studi kelayakan, konstruksi, penambangan, pengolahan dan pemurnian, pengangkutan dan penjualan, serta kegiatan pascatambang. Pertambangan terdiri dari dua macam yaitu pertambangan mineral dan pertambangan batu bara. Pertambangan mineral adalah pertambangan kumpulan mineral yang berupa bijih atau batuan, di luar panas bumi, minyak dan gas bumi, serta air tanah. Adapun pertambangan batubara merupakan pertambangan endapan karbon yang terdapat di dalam bumi, termasuk bitumen padat, gambut, dan batuan aspal.

Menurut UU Nomor 04 Tahun 2009, mineral dan bijih logam banyak ditemukan di dalam kulit bumi. Kulit bumi merupakan lapisan terluar dari bumi yang memiliki ketebalan hingga mencapai 1.200 km, lapisan ini sering disebut sebagai lapisan litosfer. Mineral adalah senyawa anorganik yang terbentuk di alam, yang memiliki sifat fisik dan kimia tertentu serta susunan kristal teratur atau gabungannya yang membentuk batuan, baik dalam bentuk lepas atau padu. Sedangkan bijih merupakan deposit mineral yang mengandung satu atau lebih jenis logam yang dapat diekstrak atau diolah menjadi logam secara ekonomis. Mineral dapat dikategorikan ke dalam beberapa kelas yang disusun berdasarkan komposisi kimia (anion) dari mineral yaitu kelas silikat, karbonat, sulfat, halida,

oksida, fosfat dan sulfida. Sebagian besar dari bijih yang diolah berasal dari kelas oksida dan sulfida.

2.2 Nikel

Nikel adalah logam transisi yang berada pada periode empat dalam sistem periodik unsur. Pada umumnya tingkat oksidasi dari Ni adalah +2. Ni pada tingkat oksidasi +3 hanya sedikit dikenal. Hidrat ion Ni^{2+} berwarna hijau dan garam-garam Ni^{2+} umumnya berwarna hijau dan biru (Heslop dan Robinson, 1960). Logam nikel dapat di lihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Logam nikel (Heslop dan Robinson, 1960).

Nikel merupakan unsur golongan transisi periode empat yang berwarna putih mengkilat seperti perak dan dijadikan sebagai penghantar panas atau listrik yang baik. Selain dalam bentuk senyawa mineral, nikel juga dijumpai sebagai senyawa kompleks, misal heksaamin nikel (II) klorida $[\text{Ni}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_2$ dan heksaamin nikel (II) sulfat $[\text{Ni}(\text{NH}_3)_6]\text{SO}_4$ yang digunakan dalam elektroplating. Nikel (Ni) diisolasi pada tahun 1751 dari suatu bijih yang mengandung nikel dan arsen, oleh seorang ahli kimia Swedia bernama Axel Cronstedt (1722-1765). Bijih nikel tersebut disebutnya dengan kupfernikel (Jerman) dan kemudian nama nikel berasal dari nama tersebut. Nikel juga berfungsi untuk melapisi logam agar tahan karat dan sebagai campuran logam, misal monel. Serbuk nikel biasa digunakan

sebagai katalis dalam reaksi reduksi senyawa hidrokarbon, contohnya proses hidrogenasi lemak pada pembuatan margarin (Rufaida dan Waldjinah, 2012).

2.2.1 Sifat Kimia dan Fisika Nikel

Nikel merupakan logam yang penting dan mempunyai banyak kegunaan. Penggunaan nikel sangat beragam, baik nikel primer (produk nikel yang berasal dari pemrosesan bijih nikel) maupun nikel sekunder (produk nikel yang berasal dari pemrosesan nikel primer). Menurut Rufaida dan Waldjinah (2012), bahwa sifat fisika dan kimia dari nikel adalah sebagai berikut:

2.2.1.1 Sifat Kimia Nikel

Sifat kimia nikel yaitu bereaksi lambat dengan udara pada suhu kamar, apabila dibakar, reaksi berlangsung cepat membentuk oksida (NiO), bereaksi dengan Cl₂ membentuk klorida (NiCl₂), tidak bereaksi dengan basa alkali, bereaksi dengan H₂S menghasilkan endapan hitam, larut dalam jenis asam seperti asam nitrat (HNO₃), ammonia (NH₃), sedikit larut dalam asam klorida (HCl) dan asam sulfat (H₂SO₄), tidak larut dalam air dingin dan air panas serta sangat tahan korosi.

2.2.1.2 Sifat Fisika Nikel

Sifat fisika nikel yaitu titik didih sebesar 2.730 °C dan titik leleh sebesar 1.453 °C, densitasnya sebesar 8,9 g/cm³, konduktor yang baik, kalor peleburan sebesar 14,48 kJ/mol dan kalor penguapan sebesar 377,5 kJ/mol, feromagnetik, yaitu unsur transisi yang dapat ditarik dengan sangat kuat oleh medan magnet.

Selain memiliki sifat kimia dan sifat fisika, logam nikel juga memiliki beberapa karakteristik yang khas. Adapun karakteristik yang dimiliki oleh logam nikel dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Logam Nikel Karakteristik Keterangan Nama logam Nikel (Rufaida dan Waldjinah, 2012)

KARAKTERISTIK	KETERANGAN
Nama Logam	Nikel
Lambang	Ni
Nomor Atom	28
Massa Atom	58,71 g/mol
Warna	Putih keperak-perakan dan mengkilat
Bilangan Oksidasi	+2 dan +3
Konfigurasi Elektron	[Ar] 4s ² 3d ⁸
Golongan	10
Periode	4
Blok	D

Adanya karakteristik yang khas tersebut sehingga dapat dibedakan logam nikel dengan logam-logam lainnya dalam tabel periodik unsur (Rufaidah dan Waldjinah, 2012).

2.2.3 Kegunaan Nikel

Nikel merupakan logam berwarna putih keperakan, memiliki sifat yang apabila digabungkan dengan logam lain dapat membentuk campuran yang disebut paduan. Nikel Institute menyebutkan bahwa Nikel dapat ditemukan pada lebih dari 300.000 produk yang untuk konsumen, industri, militer, transportasi, kedirgantaraan, kelautan, dan aplikasi arsitektur. Industri yang menggunakan Nikel diantaranya adalah industri yang memproduksi ponsel, peralatan makan, perhiasan imitasi, peralatan medis, transportasi, bangunan atau konstruksi, pembangkit listrik. Perpaduan Nikel dengan stainless steel digunakan dalam aplikasi peralatan turbin gas dan pabrik kimia. Perpaduan Nikel dan Besi digunakan dalam elektronik dan rekayasa spesialis, sedangkan paduan tembaga

dan nikel digunakan untuk mata uang dan teknik kelautan. Rekayasa spesialis dari Nikel digunakan pada proses pelapisan logam menggunakan teknik elektroplating dan electroforming (Miarastika dan Azizah, 2015).

2.2.4 Aspek Kesehatan Nikel

Penggunaan Nikel dalam industri dapat memberikan dampak buruk jika tidak diperhatikan dengan baik untuk dosis dan penanganannya. Menurut *Agency for Toxic Substances & Disease Registry*, absorpsi Nikel dapat melalui inhalasi, oral, dan dermal. Gangguan kesehatan yang timbul dapat berupa gangguan sistemik, gangguan imunologi, gangguan neurologis, gangguan reproduksi, gangguan perkembangan, efek karsinogenik, dan kematian) (Miarastika dan Azizah, 2015).

Paparan melalui inhalasi dapat menimbulkan terjadinya kematian, efek sistemiknya dapat menyebabkan gangguan pernapasan, gangguan kardiovaskular, gangguan gastrointestinal, gangguan hematologi, gangguan pada ginjal, efek pada imunologi dan kelenjar limfe, gangguan reproduksi, dan kanker. Paparan melalui jalan oral dapat menyebabkan kematian, efek sistemiknya dapat menyebabkan gangguan kardiovaskular, gangguan gastrointestinal, gangguan hematologi, gangguan otot berupa nyeri, gangguan pada hati, gangguan pada ginjal, gangguan kesehatan kulit dapat berupa dermatitis, gangguan neurologi. Paparan melalui jalan dermal yaitu melalui kulit dapat menyebabkan dermatitis kontak alergi (Miarastika dan Azizah, 2015).

Nikel yang bersifat asam sangat korosif pada kulit serta membran mukasoid (selaput lendir). Kontak dengan Nikel secara langsung dan terus menerus pada kulit yang sensitif dapat menyebabkan korengan (ulkus). Hal ini

dapat dipengaruhi oleh riwayat alergi (Miarastika dan Azizah, 2015). Paparan Nikel berlangsung lebih cepat meskipun dalam dosis rendah sehingga dapat menyebabkan kulit gatal dan luka yang tidak lekas sembuh. Gangguan kesehatan kulit berupa dermatitis kontak, pada paparan langsung kulit terhadap Nikel dapat mengakibatkan dermatitis kontak iritan dan kontak alergi. Prevalensi pada wanita lebih tinggi disebabkan kontak dengan alat-alat yang mengandung nikel, seperti perhiasan, kancing, retsleting dan pengait pada baju, peralatan rumah tangga maupun dari telepon seluler. Sedangkan pada pria, sebagian besar terpapar pada saat bekerja, salah satunya pada pekerjaan pelapisan logam yang menggunakan nikel (Brown dkk., 2005).

2.2.5 Ekstraksi Nikel

Ada dua jalur proses pengolahan laterit untuk memasok kebutuhan nikel dunia, yaitu pirometalurgi dan hidrometalurgi. Adapun diagram alir proses pengolahan laterit yang sudah komersial dengan jalur pirometalurgi dan hidrometalurgi (Prasetiyo, 2006).

Pirometalurgi digunakan untuk mengolah saprolit berkadar nikel tinggi ($Ni \geq 1,8\%$ di Indonesia) untuk memproduksi FeNi seperti produksi PT Aneka Tambang di Pomalaa, Sulawesi Tenggara dan untuk memproduksi Ni-*matte* seperti produksi PT Vale Indonesia di Sorowako, Sulawesi Tenggara. Secara global sebagian besar proses pirometalurgi digunakan untuk memproduksi FeNi. Selanjutnya FeNi digunakan untuk membuat baja tahan karat atau *stainless steel* (SS) (Dalvi, dkk., 2004).

Hidrometalurgi digunakan untuk mengolah laterit kadar rendah yang terdiri dari limonit dan saprolit kadar rendah dengan kandungan $Ni < 1,8\%$

(di Indonesia). Pada umumnya proses *Caron* digunakan untuk mengolah serpentin (saproilit kadar rendah) guna memproduksi NiO (*nickel oxide*). Sedangkan proses HPAL/PAL untuk mengolah limonit guna memproduksi NiS (*nickel sulfide*). Di Indonesia belum ada pabrik pengolahan laterit kadar rendah menggunakan teknologi hidrometalurgi, baru hanya sebatas ijin dari pemerintah kepada pihak asing. PT Pasific Nikel USA mendapat ijin untuk mengolah laterit pada tahun 1969 (Stewart, 2012).

2.3 Bakteri

Bakteri adalah salah satu golongan organisme prokariotik (tidak memiliki selubung inti). Bakteri sebagai makhluk hidup tentu memiliki informasi genetik berupa DNA, tapi tidak terlokalisasi dalam tempat khusus (nukleus) dan tidak ada membran inti. Bentuk DNA bakteri adalah sirkuler, panjang dan biasa disebut nukleoi. Pada DNA bakteri tidak mempunyai intron dan hanya tersusun atas akson saja. Bakteri juga memiliki DNA ekstrakromosomal yang tergabung menjadi plasmid yang berbentuk kecil dan sirkuler (Jawetz dkk., 2005).

2.3.1 Media Pertumbuhan Bakteri

Media merupakan nutrien yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan secara *in vitro*. Pemilihan media yang akan digunakan disesuaikan sifat penelitian atau pemeriksaan. Secara kualitatif fungsi dari media adalah untuk isolasi dan identifikasi mikroorganisme, sedangkan secara kuantitatif digunakan untuk perbanyakan dan perhitungan jumlah mikroorganisme. Media digolongkan menjadi 3 golongan yaitu media berdasarkan konsistensinya, media berdasarkan bahan penyusunnya dan media berdasarkan sifat dan fungsinya. Menurut golongan media yang berdasarkan sifat dan fungsinya, media terbagi lagi menjadi

beberapa kelompok antara lain media transport, media diperkaya, media selektif (*selective and differential media*), media pengujian, media perhitungan jumlah, (*universal media*) atau media umum (Harti, 2014).

Menurut Rizky (2013), media berdasarkan komposisinya ada 2 macam yaitu:

1. media alami yaitu media yang terdiri dari bahan-bahan alami contohnya ekstrak kentang, sari wortel.
2. media sintetis (*chemically defined media*) yaitu media yang terdiri dari bahan-bahan yang telah diketahui komposisinya.

Sedangkan media berdasarkan konsistensinya ada 3 macam yaitu :

1. media padat (*solid media*), media yang mengandung agar-agar 1,5 - 2%, biasanya dalam bentuk plate agar (lempeng agar) atau *lant agar* atau agar miring (Brooks dkk., 2008).
2. media semi padat (*semi solid media*), media yang mengandung agar-agar 0,6 - 0,75%, contohnya media SIM (*Sulfide Indole Motility*) untuk pengamatan motilitas bakteri (Brooks dkk., 2008).
3. media cair (*liquid media*), media yang tidak mengandung bahan pematat, contohnya *Nutrient Broth* (Brooks dkk., 2008).

Nutrisi dalam suatu media seharusnya mengandung unsur - unsur yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroorganisme antara lain:

1. Air

Air merupakan komponen utama di dalam sel mikroba dan medium. Fungsi air sebagai sumber energi berupa substrat yang dapat dioksidasi, sebagai sumber oksigen untuk bahan organik sel pada respirasi, selain itu air berfungsi sebagai pelarut dan alat pengangkut dalam metabolisme (Brooks dkk., 2008).

2. Sumber Karbon

Banyak bakteri yang membutuhkan karbon dioksida sebagai sumber karbonnya. Semua bakteri yang membutuhkan karbon dari senyawa anorganik disebut *autotrof*. Bila mereka memperoleh energi dari cahaya maka disebut *fotoautotrof* dan bila mereka memperoleh energinya dengan cara mengoksidasi senyawa kimiawi maka disebut *kemoautotrof*. Ada pula bakteri yang tidak menggunakan karbon dioksida sebagai sumber karbon satusatunya namun membutuhkan senyawa organik sebagai sumber karbonnya, bakteri semacam ini disebut *heterotrof* (Pelczar dan Chan, 2010).

3. Sumber Nitrogen

Nitrogen adalah salah satu unsur yang diperlukan oleh semua jasad hidup untuk sintesis protein asam nukleat dan senyawa-senyawa lain yang mengandung nitrogen. Nitrogen sangat dibutuhkan dalam pertumbuhan, karena nitrogen tersebut terkandung di dalam protein dan asam nukleat. Dalam hal memperoleh nitrogen setiap organisme berbeda-beda, ada yang dengan cara menggunakan gas nitrogen dari udara dan ada juga yang menggunakan sumber nitrogen anorganik, seperti garam-garam ammonium. Tapi ada juga yang menggunakan sumber nitrogen organik, seperti glutamik dan asparagin (Brooks dkk., 2008).

4. Sumber Belerang

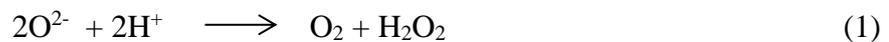
Belerang adalah komponen dari banyak substansi organik sel. Belerang membentuk bagian struktur beberapa koenzim dan ditemukan dalam rantai samping sistein dan metonin pada protein. Belerang dalam bentuk asalnya tidak dapat digunakan oleh tumbuhan atau hewan (Jawetz dkk., 2005).

5. Sumber Phospor

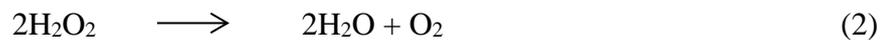
Fosfat (PO_4^{3-}) dibutuhkan sebagai komponen ATP, asam nukleat dan sejumlah koenzim seperti NAD, NADP dan flavin. Selain itu, banyak metabolit, lipid (fosfolipid, lipid A), komponen dinding sel (*teichoic acid*), beberapa polisakarida kapsul dan beberapa protein adalah bergugus fosfat (Jawetz dkk., 2005).

6. Sumber Oksigen

Sebagian besar mikroorganisme bersifat aerob obligat, secara khusus memerlukan oksigen sebagai penerima hidrogen, beberapa bersifat fakultatif yang sanggup hidup secara *aerob* atau *anaerob*, dan beberapa lagi bersifat anaerob obligat yang memerlukan zat bukan oksigen sebagai penerima hidrogen dan sangat peka terhadap hambatan oleh oksigen. Toksisitas O_2 merupakan hasil reduksi oleh enzim dalam sel (misalnya flavoprotein) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) atau reduksi ion ferro menjadi radikal bebas yang lebih beracun lagi. Bakteri-bakteri aerob dan anaerob terbebas dari zat-zat ini karena adanya superoksida dismutase yaitu enzim yang mengkatalisis reaksi (Jawetz dkk., 2005).



Dan adanya katalase, enzim yang mengkatalisis reaksi



7. Sumber Mineral

Bakteri membutuhkan mineral misalnya natrium, kalium, kalsium, magnesium, mangan, besi, seng, tembaga, dan kobalt untuk pertumbuhan yang normal, namun jumlah yang dibutuhkan hanya sedikit dan diukur dalam ppm (*parts per million*) (Pelczar dan Chan, 2010).

8. Faktor Pertumbuhan

Faktor pertumbuhan adalah suatu senyawa organik yang harus dimiliki sel agar dapat tumbuh, tetapi sel tersebut tidak mampu mensintesisnya. Senyawa penting yang dibutuhkan bakteri disintesis melalui serangkaian reaksi enzimatik, masing-masing enzim diproduksi dibawah kontrol gen spesifik. Bila bakteri mengalami mutasi gen yang menyebabkan kegagalan fungsi salah satu enzim maka rantai akan rusak dan produk akhir tidak lagi dihasilkan. Untuk itu bakteri tersebut memperoleh senyawa yang dibutuhkan tadi dari lingkungan. Senyawa tersebut telah menjadi faktor pertumbuhan bagi bakteri (Brooks dkk., 2008).

2.3.2 Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan dapat didefinisikan sebagai penambahan jumlah atau volume serta ukuran sel. Pada organisme prokariot seperti bakteri, pertumbuhan merupakan penambahan volume dan ukuran sel dan juga sebagai penambahan jumlah sel. Pertumbuhan sel bakteri biasanya mengikuti suatu pola pertumbuhan tertentu berupa kurva pertumbuhan. Menurut Rofi'i (2009), kurva pertumbuhan bakteri dapat dipisahkan menjadi empat fase yaitu:

1. Fase Adaptasi (*Lag Phase*)

Kurun waktu ini merupakan penyesuaian bakteri dalam lingkungan yang baru. Pada fase ini tidak ada penambahan jumlah sel, melainkan peningkatan ukuran sel. Waktu yang dibutuhkan fase adaptasi ini tergantung kondisi lingkungan mikroorganisme tersebut sebelum diinokulasikan, jumlah inokulum serta kondisi media dan kondisi inkubasi

yang digunakan untuk pertumbuhan. Menurut Rahayu (2014) fase adaptasi terjadi pada jam ke-12 hingga jam ke-24. Selama waktu tersebut bakteri mulai menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru, sehingga sel belum membelah.

2. Fase Logaritmik (*Log Phase*) atau Fase Eksponensial

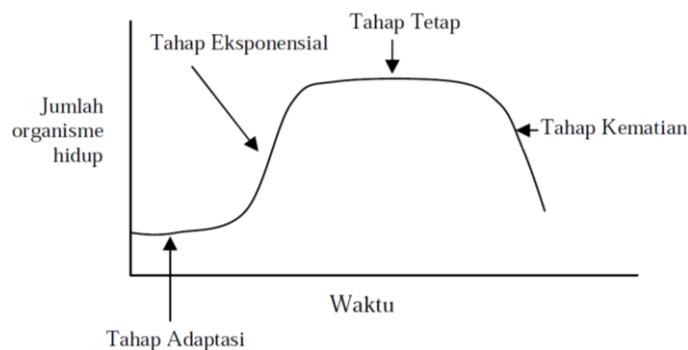
Pada fase ini sel memperbanyak diri secara cepat untuk beberapa jam atau bahkan beberapa hari. Pada kondisi pertumbuhan yang optimum, sel membelah dalam jumlah yang luar biasa dalam waktu yang singkat. Laju pertumbuhan selama fase logaritmik ini ditentukan oleh beberapa faktor seperti suhu inkubasi, aktivitas air dan pH media penanaman. Menurut Rahayu (2014) fase eksponensial terjadi pada jam ke-24 hingga jam ke-36. Pada fase eksponensial sel-sel bakteri sangat aktif membelah dan metabolisme sel berlangsung cepat. Pertumbuhan optimal sel bakteri berada pada fase eksponensial.

3. Fase Pertumbuhan Statis (*Stationary Phase*)

Dalam fase ini kecepatan tumbuh dan kecepatan mati adalah sama, sehingga jumlah sel akan konstan. Jumlah populasi akan berhenti tumbuh karena suatu hal, atau kombinasi dari beberapa penyebab seperti zat makanan penting dalam media yang dibutuhkan untuk pertumbuhan telah habis, perubahan pH akibat metabolisme sel akan menghambat pertumbuhan, bahan beracun yang dihasilkan oleh metabolisme sel, dan kekurangan oksigen bagi organisme aerobik. Menurut Rahayu (2014) Pertumbuhan bakteri mulai melambat ketika memasuki fase stasioner, yaitu mulai pada jam ke-48.

4. Fase Kematian (*Death Phase*)

Fase ini merupakan kebalikan dari fase logaritmik pertumbuhan. Jumlah sel menurun terus sampai didapatkan jumlah sel yang konstan untuk beberapa waktu. Kematian dapat diakibatkan oleh beberapa penyebab seperti sel kehabisan energi (organisme menghabiskan energi cadangannya dan kelaparan), perubahan pH dalam media penanaman merusak sel organisme dan menyebabkan kematian sel, dan akumulasi bahan beracun hasil proses metabolisme. Menurut Rahayu (2014), jumlah sel yang mati semakin meningkat sampai terjadi suatu keadaan dimana jumlah sel yang hidup sama dengan jumlah sel yang mati. Fase kematian terjadi pada jam ke-72. Beberapa fase tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme (Rofi'i, 2009).

2.4 Bioleaching

Bioleaching adalah suatu proses pelarutan/pelepasan logam atau pengambilan (ekstraksi) logam dari sedimen (limbah) atau bijih logam menjadi bentuk yang larut dengan menggunakan bantuan mikroorganisme. Pada metode bioleaching tidak mempersoalkan tentang pelarut yang digunakan, jadi boleh menggunakan pelarut yang tidak selektif terhadap logam tertentu. Faktor penting

yang dapat mempengaruhi kualitas dan kuantitas bioleaching logam dari limbah padat (sedimen) atau bijih logam adalah jenis limbah padat yang akan diolah, ukuran partikel bijih, persen padatan, laju pengadukan yang paling optimal, pemilihan jenis mikroorganisme, waktu ekstraksi, persen ekstraksi, serta pH medium dan temperatur (Kurniawan dkk., 2009).

Jenis padatan logam yang saat digunakan untuk aplikasi *bioleaching* dapat berupa bijih dengan kandungan logam yang rendah yang mengandung logam, seperti: emas, timbal, seng, nikel, tembaga, krom dan sebagainya. Pemilihan mikroorganisme yang akan digunakan harus memiliki selektifitas terhadap logam-logam tertentu. Mikroorganisme yang umumnya digunakan dalam proses bioleaching bisa dari golongan bakteri dan fungi. Golongan bakteri seperti *Thiobacillus ferrooxidans*, *Thiobacillus thiooxidans*, *Escherichia coli* dan sebagainya, sedang golongan fungi seperti *Aspergillus niger*, dan *Penicillium simplicissium* (Kurniawan dkk., 2018).

2.4.1 Mekanisme *Bioleaching*

Proses metabolisme bakteri, bakteri mampu memobilisasi dan melakukan *leaching* logam berat melalui pembentukan asam organik dan anorganik, oksidasi dan reduksi, ekskresi agen kompleks. Pada proses *bioleaching* ini dihasilkan asam sulfat dan besi sulfat. Selanjutnya asam sulfat yang dihasilkan akan menyerang batuan disekelilingnya dan melepaskan atau melarutkan (*leaching*) mineral logam (Brandl, 2001).

Selama *bioleaching* berlangsung pertumbuhan mikroorganisme untuk memperbanyak diri tidak terlalu besar, karena mikroorganisme ini akan lebih berkonsentrasi pada aktivitas metabolismenya dengan mengonsumsi makanan.

Aktivitas metabolisme yang dilakukan mikroorganisme yaitu glikolisis. Dalam hal ini glukosa sebagai sumber karbon berasal dari medium nutrisi mikroorganisme yang ikut diumpangkan bersama mikroorganisme. Dengan pertimbangan bahwa bioleaching akan dilangsungkan dalam waktu yang cukup lama, maka dibutuhkan nutrisi yang cukup untuk menunjang aktivitas metabolisme mikroorganisme untuk menghasilkan asam organik secara kontinyu (Kurniawan dkk, 2018).

Aktivitas glikolisis yang terjadi berlangsung pada suasana aerobik. Asam piruvat yang dihasilkan dari aktivitas tersebut selanjutnya dikonversi oleh mikroorganisme dari nutrisi menjadi senyawa asam organik, seperti asam asetat dan asam sitrat. Asam organik yang dihasilkan berperan sebagai agen *leaching* yang melarutkan solut logam menuju fasa cair. 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. Waktu *bioleaching* sangat berpengaruh terhadap perolehan logam dalam rafinat. Perolehan logam akan maksimal ketika tercapai kondisi kesetimbangan yaitu ketika tidak terjadi lagi pelarutan logam ke dalam rafinat. Pada umumnya proses pelarutan dipengaruhi oleh temperatur, dimana semakin tinggi temperatur maka pelarutan solut dari padatan ke dalam fasa cair (rafinat) juga akan semakin besar, maka pada proses *bioleaching* temperatur juga berpengaruh (Kurniawan dkk, 2009).

Mekanisme lain dari *bioleaching* adalah melalui pelekatan tidak langsung oleh ligan organik yang dihasilkan bakteri dan membentuk suatu kompleks logam yang larut. Ligan organik yang dihasilkan bakteri ini berupa senyawa asam sitrat atau asam oksalat pada pH netral, di mana ligan ini akan membentuk ikatan yang

kuat dengan ion logam sehingga logam tersebut dapat diekstrak dari mineral (Ehrlich, 1992). Disamping itu bakteri dapat memproduksi asam laktat, asam asetat, asam suksinat, asam piruvat, dan asam format yang menyebabkan asidolisis. Produk organik lain yang dihasilkan bakteri pada suasana alkalis antara lain asam amino atau peptida yang juga efektif sebagai ligan untuk melarutkan logam.

2.4.2 Faktor yang Mempengaruhi Proses *Bioleaching*

Faktor yang mempengaruhi efektifitas *bioleaching* limbah logam antara lain pH, suhu, keberadaan logam lain dalam larutan (jenis limbah), konsentrasi logam berat, waktu kontak bakteri, ukuran partikel (luas permukaan partikel) yang di *leaching*, serta kemampuan bakteri beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang ada (Atlas dan Bartha, 1993). Menurut Chen dan Wilson (1997) dan Kong dkk., (1995), bahwa perbedaan pH di dalam air yang tercemar seringkali mempengaruhi proses pembersihan logam berat. pH merupakan salah satu faktor yang berpengaruh pada proses pembentukan spesies logam dan atau gerakan logam berat di dalam air.

Jenis limbah dan konsentrasi logam berat dapat mempengaruhi bakteri di dalam proses *bioleaching* logam. Tingginya kadar logam berat mengakibatkan pertumbuhan bakteri terganggu bahkan menyebabkan matinya sejumlah bakteri yang tidak tahan terhadap logam tersebut. Hal ini disebabkan karena setiap bakteri memiliki toleransi yang berbeda terhadap logam berat. Selain itu proses *leaching* dipengaruhi oleh waktu kontak bakteri dalam medium dengan permukaan partikel. Menurut Seidel dkk (2001), bahwa pelekatan bakteri pada permukaan partikel dipengaruhi waktu, dimana makin lama waktu kontak bakteri dalam medium

makin banyak bakteri yang melekat pada permukaan partikel dan makin banyak bakteri yang dapat melakukan aktivitas leachingnya.

Jenis bakteri juga berpengaruh pada pelepasan atau *leaching* logam, dengan kata lain bahwa *bioleaching* logam berat oleh setiap jenis bakteri berbeda. Perbedaan ini diakibatkan oleh produk metabolik yang dihasilkan selama proses berlangsung. Secara garis besar dapat dikatakan bahwa proses *leaching* logam berat oleh bakteri bergantung pada beberapa faktor yaitu; jenis dan komposisi logam berat dalam limbah, kemampuan bakteri untuk melakukan *leaching*, dan faktor lingkungan yang mempengaruhi aktivitas bakteri (Isa dan Yuliana, 2014).

2.4.3 Bakteri *Leaching*

Bakteri dapat dimanfaatkan untuk menghilangkan atau mengekstrak logam dari lingkungan (tanah, air dan sedimen) yang terkontaminasi logam melalui mekanisme perubahan sifat kimia dari struktur pembentuk senyawa sebagai bioakumulasi, biotransformasi dan bioremediasi. Melalui mekanisme tersebut bakteri dapat menurunkan atau menghilangkan sifat toksik dari bahan pencemar (detoksifikasi). Demikian pula melalui mekanisme *bioleaching*, bakteri dapat menghasilkan produk berupa asam organik atau anorganik dan ligan yang mampu memobilisasi logam sehingga logam dalam sedimen limbah dapat dikeluarkan (Lloyd, 2002 dalam Isa dan Yuliana, 2004). Di lain pihak proses *bioleaching* pada limbah logam berat dapat menyebabkan toksisitas terhadap lingkungan, karena pada proses ini dihasilkan logam yang larut dalam bentuk ion yang lebih bersifat toksik (Atlas dan Bartha, 1993).

Menurut Isa dan Yuliana (2014), beberapa bakteri yang dapat melakukan *leaching* antara lain *Pseudomonas fluorescens*, *E. coli*, *Bacillus sp* dan *T. ferrooxidans*.

2.4.3.1 *Pseudomonas fluorescens*

Bakteri *Pseudomonas fluorescens* dapat diklasifikasikan ke dalam kelas Schazomycetes, ordo Pseudomonadales, family Pseudomonadaceae, genus *Pseudomonas*, spesies *P. fluorescens*. Bakteri *P. fluorescens* merupakan bakteri sel tunggal, gram negatif berbentuk batang lurus atau melengkung, mempunyai ukuran 0,5-1,0 μm x 1,5-5 μm , dapat bergerak karena flagela atau motil, tidak membentuk spora dan tumbuh secara aerob. Bakteri ini dapat menggunakan H_2 atau CO_2 sebagai sumber energi, terdapat di tanah, air limbah, dan mampu mengolah sejumlah substrat organik, umumnya banyak berperan dalam proses biotransformasi misalnya dalam mendegradasi minyak.

Bakteri *Pseudomonas fluorescens* resisten tertiadap logam berat seperti Pb, Cd dan Cr, mampu menurunkan toksisitas Cr^{6+} menjadi Cr^{3+} yang kurang toksik. Bakteri ini menghasilkan produk metabolit seperti asam organik dan metabolit lain seperti H_2S dan ligan yang dapat menghilangkan (*remove*) ion-ion logam berat dari larutan dan atau merubah menjadi spesies yang kurang toksik, bakteri tersebut juga telan bertiasil digunakan dalam meremediasi ion kadmium dalam larutan (Lederberg, 1992 dalam Isa dan Yuliana 2014). Malekzadeh dkk., (1996) mengisolasi bakteri *P. fluorescens* dari limbah elektroplating dan bakteri tersebut mampu mengikat kation logam uranium, tembaga, timbal dan ion-ion lain dari limbah tercemar logam berat.

2.4.3.2 *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* dapat diklasifikasikan ke dalam divisi Schizophyta kelas Schazomycetes, ordo Eubacteriales, Genus *Escherichia*, Spesies *E. coli*. Bakteri *E. coli* merupakan bakteri yang berbentuk batang lurus mempunyai ukuran 1,1-1,5 x 2-6 μm , bersifat gram negatif, tidak berkapsul dan dapat bergerak aktif (motil), dapat memfermentasikan berbagai macam karbohidrat menjadi asam dan gas. Bakteri ini pada suasana anaerob terjadi fermentasi dan pada aerob terjadi siklus asam karboksilat dan transport elektron untuk pembentukan energi. *E. coli* dapat memproduksi 2 macam enterotoksin, yaitu enterotoksin tidak tahan panas (*heat labile enterotoxin*) yang bersifat sebagai antigen dan mekanisme kerjanya merangsang keluarnya enzim adenilat siklase yang terdapat di dalam sel epitel mikosa usus halus yang menyebabkan peningkatan aktivitas enzim tersebut dan terjadinya peningkatan permeabilitas sel epitel usus sehingga terjadi akumulasi cairan di dalam usus dan berakhir dengan diare (Isa dan Yuliana, 2014).

Bakteri *Escherichia coli* dalam aktivitas metabolitnya menghasilkan produk asam organik, pigmen, ligan dan H_2S yang dapat menghilangkan (remove) ion-ion logam berat dari larutan dan merubah menjadi spesies yang kurang toksik. Bakteri ini telah terbukti mampu menghilangkan Hg^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} dari limbah, tanah dan sedimen atau larutan yang tercemar logam berat tersebut (Chen dan Wilson, 1997).

2.4.3.3 *Thiobacillus ferrooxidans*

Bakteri *Thiobacillus ferrooxidans* dapat digolongkan ke dalam bakteri kemotrofik gram negatif, sel-selnya kecil berbentuk batang mempunyai ukuran

0,5 μm x 1-4 μm , dapat bergerak, autotrof fakultatif, aerob. Bakteri ini mampu mendapatkan energi yang berasal dari oksidasi satu atau lebih senyawa sulfur tereduksi seperti sulfida, tiosulfat atau dari oksidasi besi ferro (Fe^{2+}) menjadi feri (Fe^{3+}). Produk akhir dari bakteri ini menghasilkan senyawa sulfat dari senyawa sulfur yang dioksidasi. Temperatur optimum sekitar 28 - 30 $^{\circ}\text{C}$, pH untuk pertumbuhan 1,4 - 6,0 dengan pH optimum 2,5 - 5,8. Bakteri ini dijumpai pada lumpur, air laut, air tanah, tanah, limbah, daerah perairan asam dari tambang biji logam yang mengandung sulfida logam, seperti FeS , PbS , serta dapat merubah biji logam sulfida dan unsur belerang menjadi sulfat logam berat yang dapat larut dalam air. Bakteri *T. ferrooxidans* dalam metabolismenya menghasilkan asam organik, anorganik dan ligan, berhasil digunakan untuk meremediasi logam tembaga (Cu), nikel (Ni) dan mengekstak emas (Au) dan krom (Cr) yang tercemar logam (Isa dan Yuliana, 2014).

2.4.3.4 *Bacillus sp*

Bakteri *Bacillus sp* dapat diklasifikasikan ke dalam genus *Bacillus* spesies *Bacillus sp*. Bakteri *Bacillus sp* dapat di golongan ke dalam bakteri sel berbentuk batang mempunyai ukuran 0,3 - 2,2 μm x 1,27 - 7,0 μm , dapat bergerak (motil), membentuk endospora, tidak lebih dari satu dalam satu sel sporangium, gram positif, aerobik dan anaerobik fakultatif, dan umumnya dijumpai di tanah (Isa dan Yuliana, 2014).

Bakteri *Bacillus sp* sangat toleran terhadap toksisitas logam berat serta mampu menghilangkan logam berat dari lingkungan yang tercemar dan kemampuan menyerap logam berat tinggi. Bakteri ini biasanya ditemui pada tanah yang tercemar logam berat dan resisten terhadap Pb dan Cr serta dapat mereduksi

Cr^{6+} menjadi Cr^{3+} yang kurang toksik, dapat mengekstrak logam berat dari biji logam dan dalam aktivitas metabolitnya menghasilkan produk asam-asam organik (Yilmaz, 2003).

2.5 Bakteri *Bacillus licheniformis*

Bakteri adalah salah satu golongan organisme prokariotik (tidak memiliki selubung inti). Bakteri sebagai makhluk hidup tentu memiliki informasi genetik berupa DNA, tapi tidak terlokalisasi dalam tempat khusus (nukleus) dan tidak ada membran inti. Bakteri dapat dikelompokkan menjadi mesofil ($13 - 42\text{ }^{\circ}\text{C}$) dan termofil ($45 - 100\text{ }^{\circ}\text{C}$). Kelompok mikroba termofil terbagi menjadi fakultatif dan obligat ($45 - 65\text{ }^{\circ}\text{C}$), ekstrim termofil ($65 - 85\text{ }^{\circ}\text{C}$) dan hipertermofil adalah mikroba yang mampu hidup pada kisaran suhu $85 - 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Edwards, 1990). Sedangkan menurut Waluyo (2005) suhu pertumbuhan bakteri termofil pada kisaran $40 - 80\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan suhu optimumnya sekitar $55 - 65\text{ }^{\circ}\text{C}$. Mikroba termofil merupakan mikroba yang (Sianturi, 2008).

Mikroorganisme termofilik memiliki kemampuan bertahan hidup pada suhu tinggi karena adanya enzim termostabil (Pratita dan Putra, 2012). Selain itu, protein yang terdapat pada sel mikroorganisme termofilik memiliki ikatan hidrofobik dan ikatan ionik yang sangat kuat. Komposisi membran sel pada bakteri termofilik tersusun oleh asam lemak jenuh sehingga dapat bersifat stabil pada suhu tinggi (Lasa dan Berenguer, 1993).

Menurut Arfah (2016), mikroba termofil mampu bertahan hidup dan berkembang biak pada suhu tinggi disebabkan adanya kandungan enzim dan proteinnya sangat stabil terhadap panas, sehingga dapat berfungsi secara optimal pada suhu tinggi. Jika dibandingkan dengan mikroba mesofil, enzim termofil berbeda sedikit dengan mesofil, karena dalam enzim termofil ada penggantian

asam amino penting pada suatu lokasi atau lebih di dalamnya sehingga membuat enzim tersebut berlipat sedemikian rupa yang akhirnya dapat mencegah terjadinya denaturasi karena panas. Penyebab lainnya ialah mesin pensintesis protein (ribosom dan konstituen lainnya) stabil terhadap panas dan membran lipid sel mikroba termofil kaya akan asam lemak tak jenuh sehingga dapat membentuk ikatan hidrofobik yang jauh lebih kuat, dan menyebabkan mikroba tersebut tahan terhadap panas.

Bakteri termofilik dapat dimanfaatkan dalam bidang bioteknologi karena memiliki efisiensi dalam keadaan suhu tinggi. Semakin tinggi temperatur maka semakin tinggi pula laju difusi. Selain itu, enzim pada bakteri termofilik juga mampu mengkatalisis reaksi biokimia pada suhu tinggi dan umumnya lebih stabil dari bakteri mesofilik. Enzim yang terdapat pada bakteri termofilik juga dapat dimanfaatkan pada industri antara lain enzim amilase, selulase, xilanase, kitinase, dan protease (Pratita dan Putra, 2012).

Mikroorganisme termofilik tumbuh baik pada lingkungan dengan temperatur tinggi, seperti daerah gunung berapi dan sumber air panas. Mikroorganisme termofilik menjadi pilihan yang baik sebagai sumber enzim termostabil dibandingkan yang berasal dari hewan dan tumbuhan. Hal ini dikarenakan mikroorganisme dapat diproduksi dalam jumlah yang besar dan prosedur pemisahan yang relatif sederhana (Yuanita dan Wikandari, 2014).

Bakteri dari genus *Bacillus* adalah bakteri yang bersifat aerobik atau anaerobik fakultatif, berbentuk batang dan mempunyai endospora refraktil. Dibandingkan dengan sel vegetatifnya, endospora lebih tahan terhadap panas, keadaan kering, desinfektan dan bahan destruktif lainnya, dan mungkin tetap hidup selama beberapa abad. *Bacillus licheniformis* termasuk dalam divisi

Protophyta, kelas Schizomycetes, ordo Eubacteriales, famili Bacillaceae dan genus Bacillus (Clifton, 1958). *B. licheniformis* dikenal sebagai spesies dari spektrum *B. subtilis*. Yang termasuk dalam spektrum ini adalah *B. subtilis*, *B. licheniformis* dan *B. pumilus*. Terjadinya pengelompokan ini adalah karena ketiga spesies ini mempunyai bentuk morfologis yang mirip dan beberapa sifat fisiologis yang juga mirip (Gordon, 1972). *Bacillus licheniformis* ini dapat digolongkan sebagai bakteri termofil. Bakteri termofil berkisar antara 45 - 65 °C (Soeka dkk., 2011).

Bacillus licheniformis merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang dengan panjang antara 1.5 um sampai 3 um dan lebar antara 0.6 um sampai 0.8 um. Spora dari bakteri ini berbentuk silindris atau elips dan terdapat pada sentral atau parasentral dari sel penghasil spora. *Bacillus licheniformis*, merupakan spesies bakteri yang mampu menghasilkan enzim protease dan enzim amilase dalam jumlah tinggi (Gordon, 1972 dan Reddy dkk., 2003). *B. licheniformis* bersifat motil dan memberikan hasil positif pada uji katalase dan uji Voyeus-Proskauer. Bakteri ini masih dapat tumbuh pada suhu 50 °C serta dalam larutan NaCl 7% (Gordon, 1972).

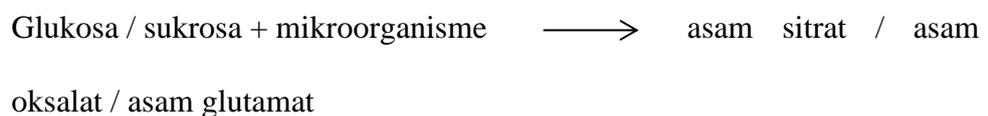
2.6 Bioleaching Nikel

Di Indonesia proses ekstraksi nikel dengan *bioleaching* masih belum diaplikasikan, teknologi *bioleaching* di Indonesia baru diaplikasikan untuk ekstraksi besi dari *pyrite*, emas, dan tembaga. Berdasarkan pertimbangan dari beberapa keuntungan yang dapat diberikan dengan penerapan teknologi ini dan melihat potensi nikel di Indonesia maka teknologi *bioleaching* dalam pengolahan nikel layak untuk dikembangkan (Astuti, 2011).

Pada proses *bioleaching*, mikroorganisme berperan untuk membantu difusi *solute* (logam) kedalam pelarut sehingga tidak diperlukan lagi pelarut selektif. Pemilihan mikroorganisme yang akan digunakan harus tepat karena mikroorganisme tersebut memiliki selektivitas terhadap logam-logam tertentu sedangkan lamanya waktu *bioleaching* berpengaruh kepada pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme yang digunakan dalam proses *bioleaching*. Selain itu, lamanya waktu *bioleaching* juga berpengaruh kepada laju perpindahan *solute*. Semakin lama waktu *bioleaching*, laju perpindahan *solute* semakin besar tetapi saat mencapai waktu optimum perpindahan *solute* ke dalam pelarut akan terhenti karena telah tercapai kesetimbangan pada sistem (Kurniawan dkk., 2018).

Menurut Kurniawan dkk, (2018), proses *bioleaching* pada nikel berlangsung melalui mekanisme dan reaksi sebagai berikut:

1. Produksi asam



2. Ekstraksi

Reaksi-reaksi yang terjadi mengikuti persamaan 1 dan 2 :



Pembentukan logam kompleks dengan asam organik



3. Pengendapan oleh asam oksalat mengikuti persamaan 3 :



Selama proses *bioleaching* berlangsung, pertumbuhan mikroorganisme untuk memperbanyak diri tidak terlalu besar karena mikroorganisme ini akan lebih

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 spektrometri 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, dihomogenkan 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 dihomogenkan 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).

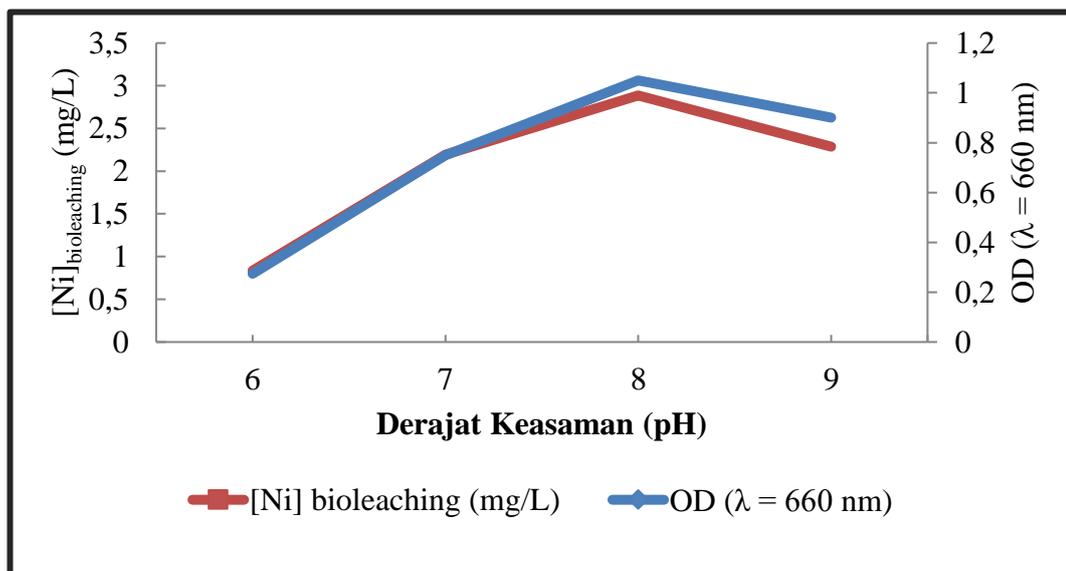
4.2 Optimasi Pertumbuhan Bakteri *Bacillus licheniformis* untuk Ekstraksi Logam Ni tidak Terlarut menjadi Terlarut pada Proses *Bioleaching* berdasarkan pengaruh pH, Suhu dan Waktu pertumbuhan.

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] ^{bioleaching}	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

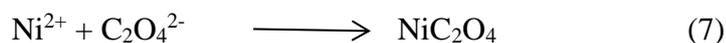
(*nutrient broth*) yang ikut diumpangkan bersama isolat bakteri *Bacillus licheniformis* (Kurniawan dkk, 2010).

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.

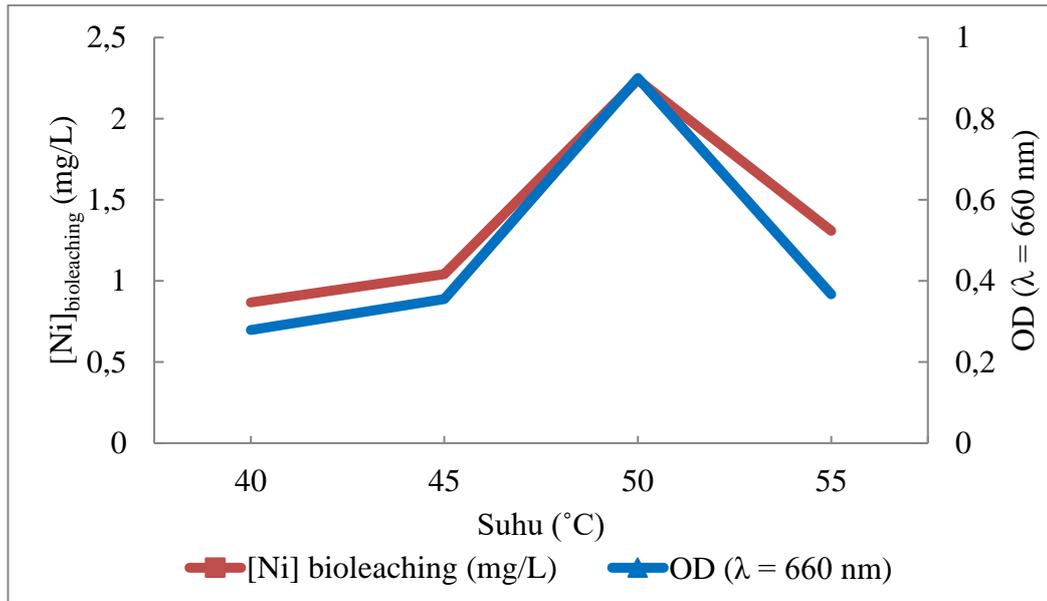


Ion Ni^{2+} kemudian berikatan dengan ion oksalat membentuk senyawa nikel (II) oksalat yang memiliki sifat mudah larut. Persamaan reaksinya dapat dilihat pada persamaan 7:



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 spektroskopik 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

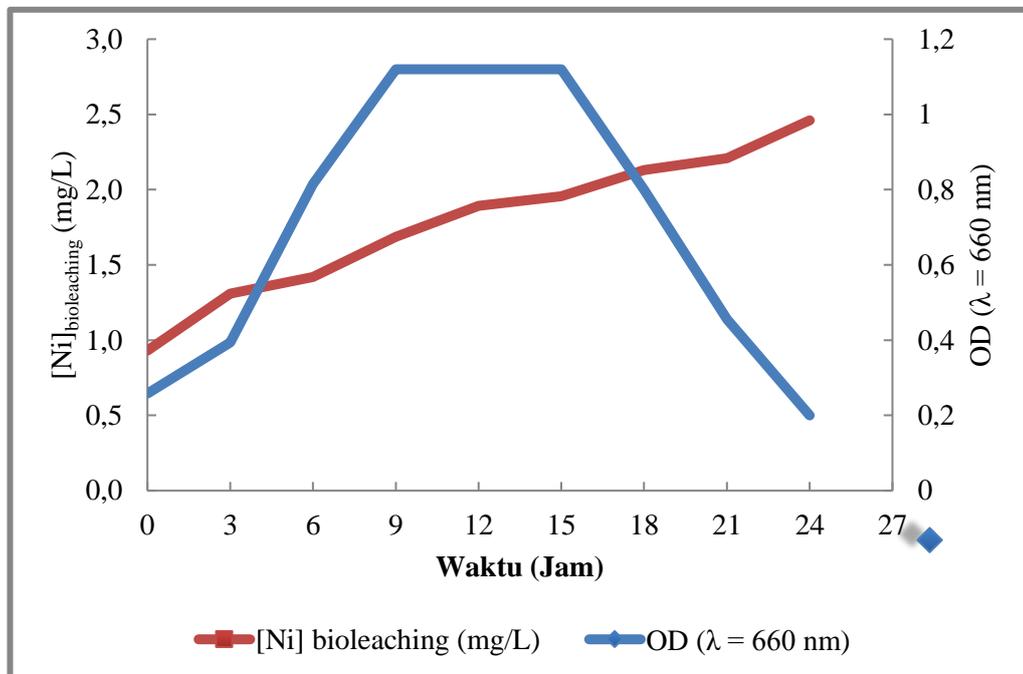
No	Bakteri / Jamur	Sampel	pH	Kadar [Ni] _{bioleaching}	Sumber
1.	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Mineral Nikel Oksida	37 °C	4.26 mg/L	Kurniawan (2018)
2.	<i>Aspergillus niger</i>	Mineral Nikel Oksida	37 °C	3,41 mg/L	Kurniawan (2018)
3.	Isolat <i>Bacillus licheniformis</i> 1A1	Tanah Pertambangan	50 °C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

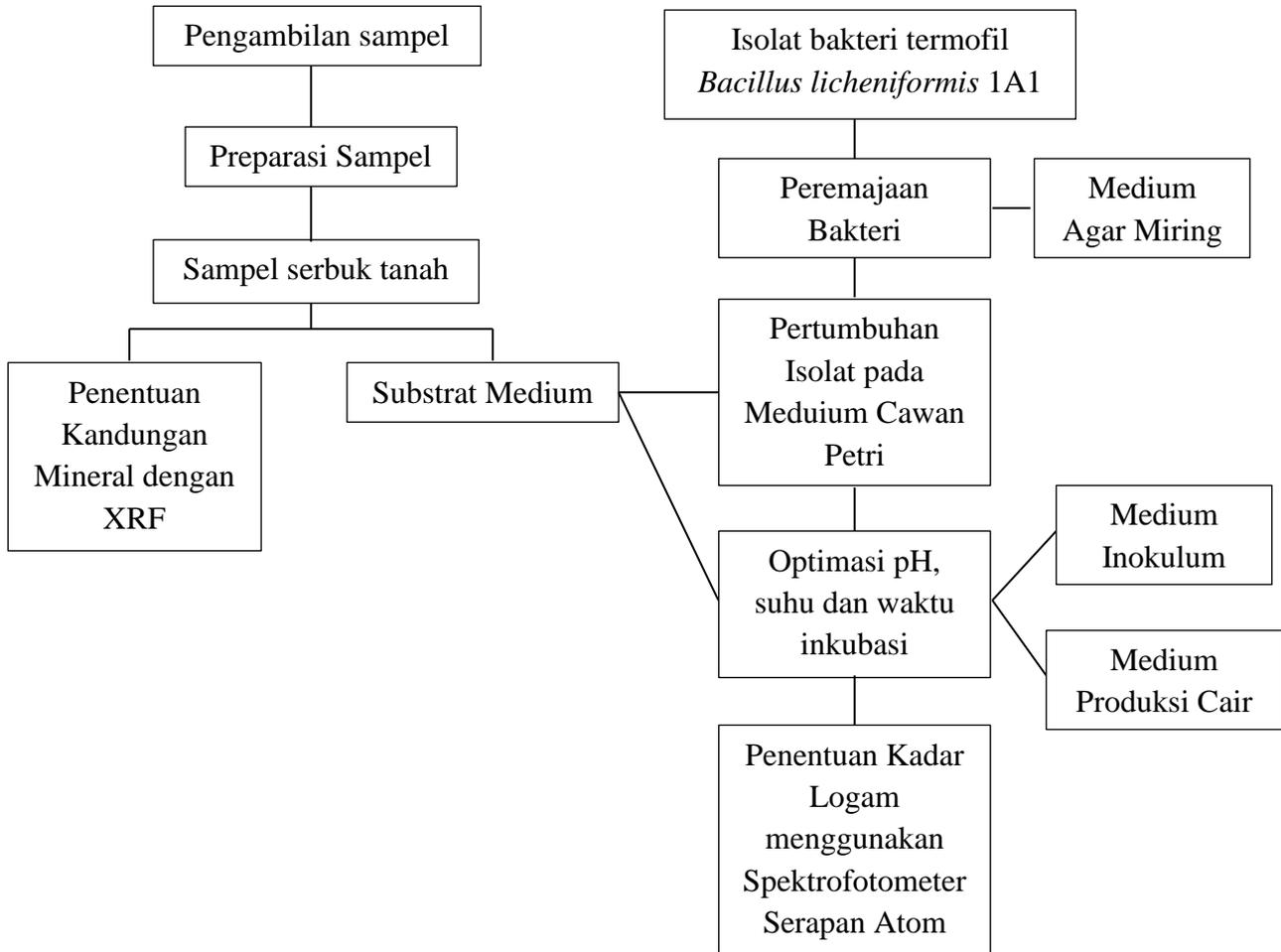
Norris, P.R., Burthon, N.P., Foulis, N.M., 2000, Acidophiles in Bioreactor Mineral Processing, *Extremophiles*, **4**: 71-76.

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.

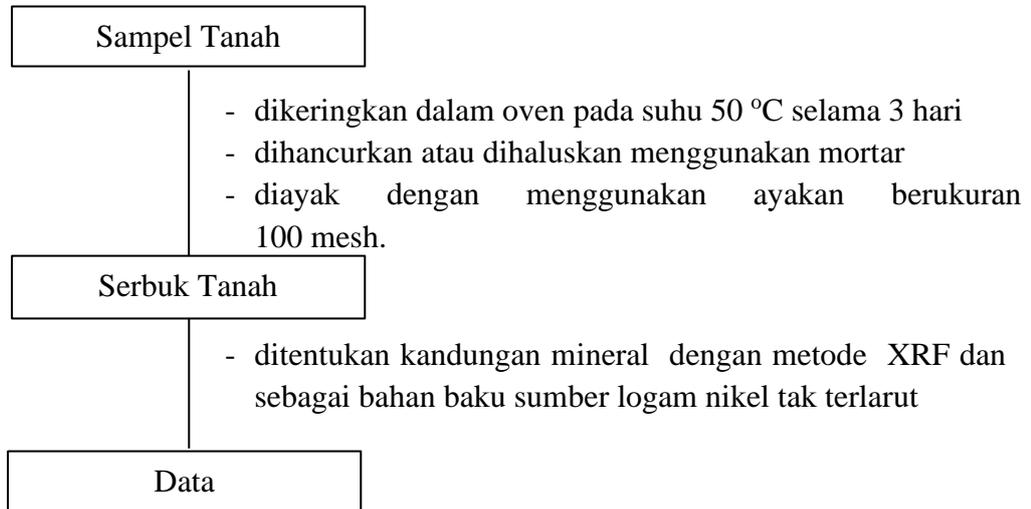
- Shao, X. 2018. *Spectrophotometric Determination of Ni in Real Samples from Polyethylen Lined Tubing for Petroleum and Natural Gas Industries*. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. IOP Publishing.
- Sianturi, D. C., 2008, *Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Termofil Kasar dari 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

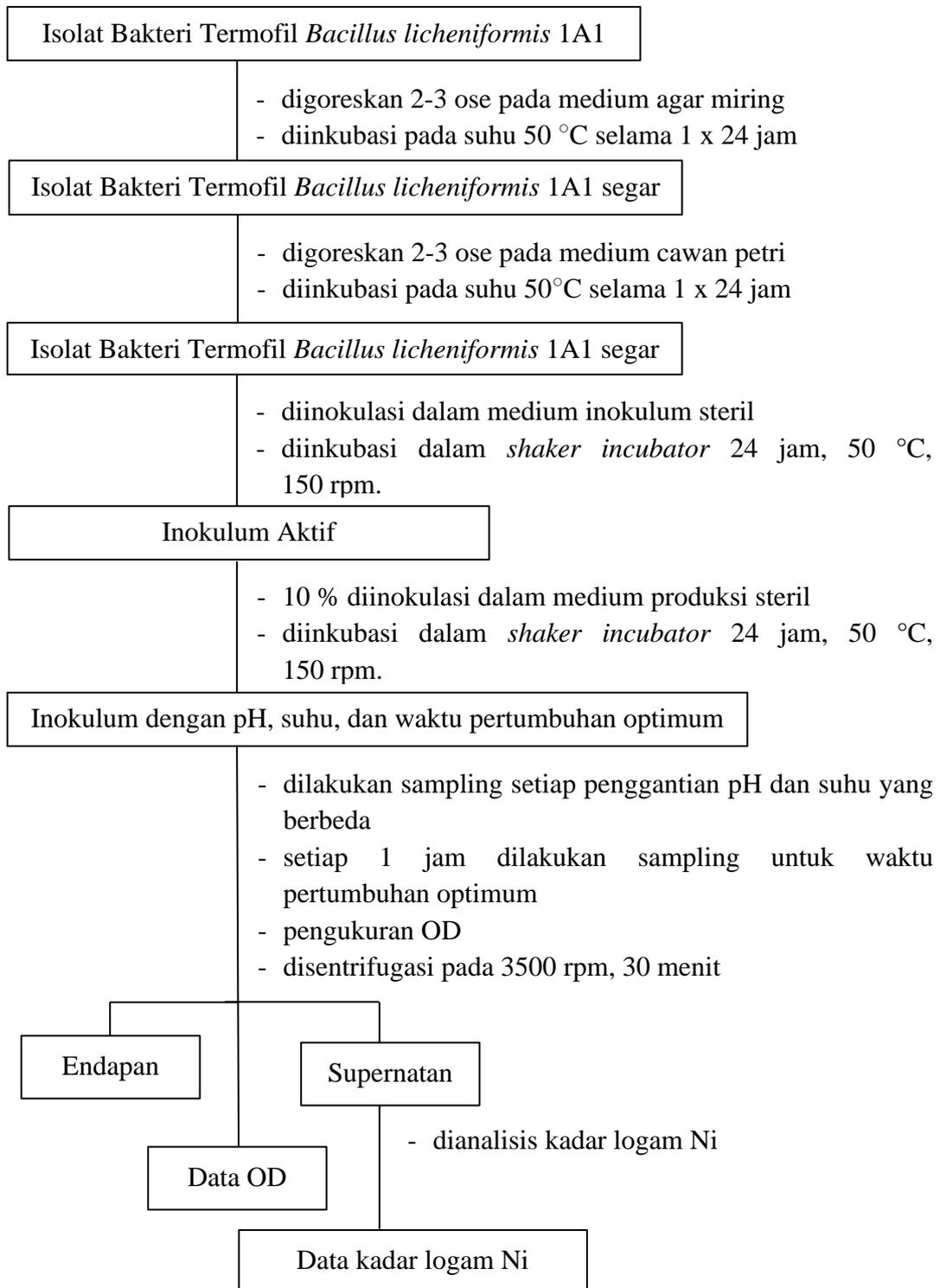


Lampiran 2. Skema Preparasi Sampel Tanah

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

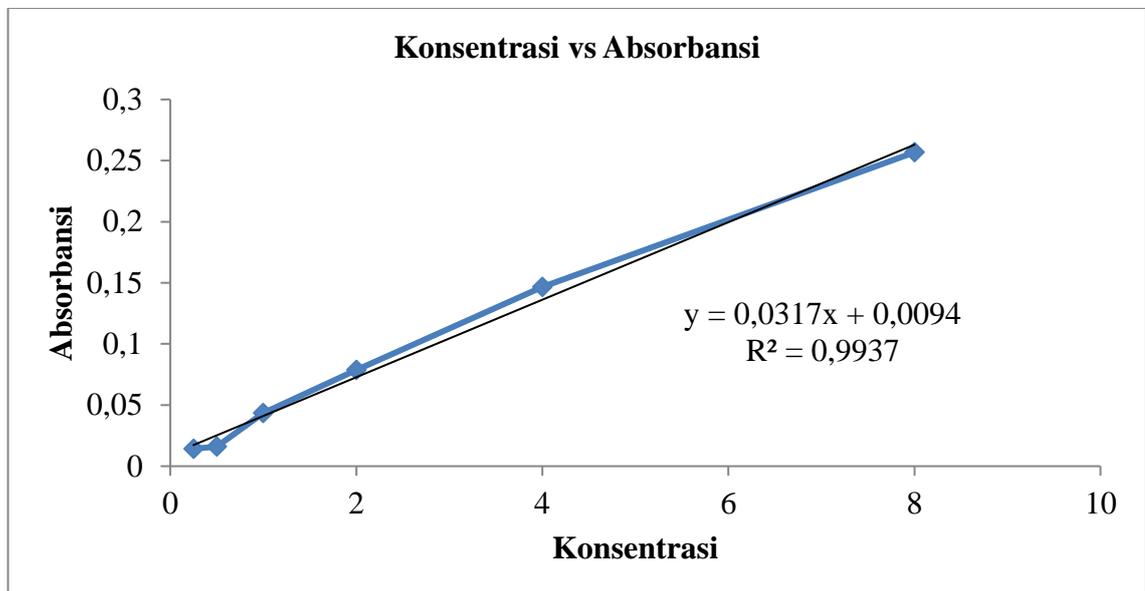
$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

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

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

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

$$y = 0,0317x$$

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

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

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

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

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

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

$$= 0,1640. 5$$

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

2. Konsentrasi Ni pada Medium Produksi pH 6

$$y = 0,0317x$$

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

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

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

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

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

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

$$= 0,3312. 5$$

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

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

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

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

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

$$y = 0,0317x$$

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

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

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

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

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

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

2. Konsentrasi Ni pada Medium Produksi Suhu 40 °C

$$y = 0,0317x$$

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

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

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

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

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

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

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

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

$$y = 0,0317x$$

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

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

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

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

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

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

2. Konsentrasi Ni pada Medium Produksi Suhu 0 jam

$$y = 0,0317x$$

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

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

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

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

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

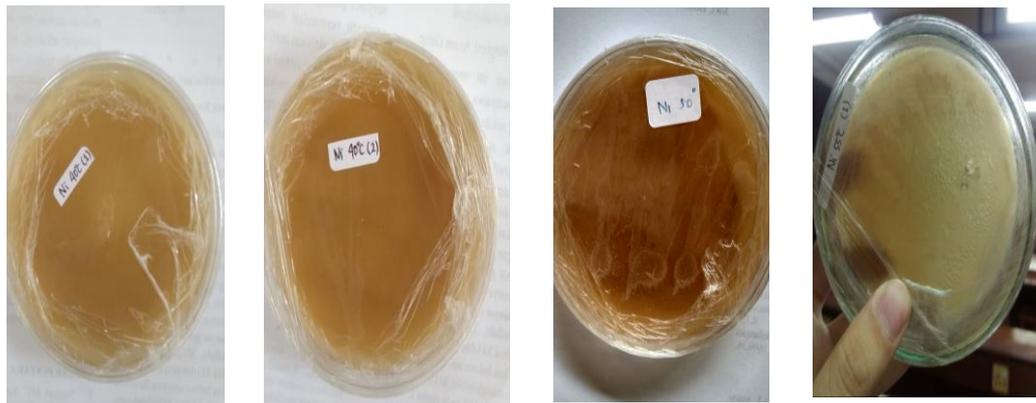
$$\begin{aligned} [\text{Ni}]_{\text{Med.Awal Suhu 0 jam}} &= x.FP \\ &= 0,3312 \cdot 5 \\ &= 1,6562 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

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

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

