

TA/TL/2021/1364

TUGAS AKHIR

**POTENSI ISOLAT BAKTERI *Arthrobacter aurescens*
DARI DEPOSIT VULKANIK MERAPI SEBAGAI
BIOREMEDIATOR KROMIUM (VI)**

**Diajukan Kepada Universitas Islam Indonesia untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Derajat Sarjana (S1) Teknik Lingkungan**



**ALVITA YULIANITA
17513126**

**PROGRAM STUDI TEKNIK LINGKUNGAN
FAKULTAS TEKNIK SIPIL DAN PERENCANAAN
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2021**

TUGAS AKHIR
POTENSI ISOLAT BAKTERI *Arthrobacter aurescens*
DARI DEPOSIT VULKANIK MERAPI SEBAGAI
BIOREMEDIATOR KROMIUM (VI)

Diajukan Kepada Universitas Islam Indonesia untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Derajat Sarjana (S1) Teknik Lingkungan



ALVITA YULIANITA
17513126

Disetujui,
Dosen Pembimbing:

Fina Binazir Maziya. S.T., M.T
NIK. 165131305
Tanggal:

Annisa Nur Lathifah, S.Si., M.
Biotech, Ph. D NIK. 155130505
Tanggal:

Mengetahui,*
Ketua Prodi Teknik Lingkungan FTSP UII

Eko Siswanto, ST., M.Sc.ES., Ph.D.
NIK. 025100406
Tanggal: 10 Desember 2021

HALAMAN PENGESAHAN*

**POTENSI ISOLAT BAKTERI *Arthrobacter aurescens*
DARI DEPOSIT VULKANIK MERAPI SEBAGAI
BIOREMEDIATOR KROMIUM (VI)**

Telah diterima dan disahkan oleh Tim Penguji


Hari : Rabu
Tanggal : 17 November 2021

Disusun Oleh:

ALVITA YULIANITA
17513126

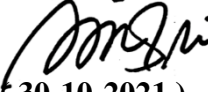
Tim Penguji :

Fina Binazir Maziya, S.T., M.T



(8-11-2021)

Annisa Nur Lathifah, S.Si., M. Biotech, Ph. D



(30-10-2021)

Dr. Joni Aldilla Fajri, S.T., M.Eng



(17-11-2021)

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Karya tulis ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik apapun, baik di Universitas Islam Indonesia maupun di perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini adalah merupakan gagasan, rumusan dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain kecuali arahan Dosen Pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama penulis dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Program *software* komputer yang digunakan dalam penelitian ini sepenuhnya menjadi tanggungjawab saya, bukan tanggungjawab Universitas Islam Indonesia.
5. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik dengan pencabutan gelar yang sudah diperoleh, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi.

Yogyakarta, 14 Oktober 2021

Yang membuat pernyataan,



Alvita Yulianita

NIM: 17513126

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah *subhanahu wa ta'ala* atas segala karunia-Nya sehingga tugas akhir ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan April ini ialah Potensi Isolat Bakteri *Arthrobacter aureescens* dari Deposit Vulkanik Merapi Sebagai Bioremediator Kromium (VI).

Terima kasih penulis ucapkan kepada Ibu Fina Binazir Maziya., S.T., M.T dan Ibu Annisa Nur Lathifah, S.Si., M. Biotech, Ph. D selaku pembimbing 1 dan 2 yang telah membimbing tugas akhir ini dengan sabar, serta Bapak Dr. Joni Aldilla Fajri, S.T., M.Eng selaku penguji yang telah banyak memberi saran. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada orang tua dan keluarga atas doa dan kasih sayang yang selalu diberikan, serta kepada Tim Laboran Laboratorium Teknik Lingkungan FTSP UII, Mas Heri, teman-teman Teknik Lingkungan 2017, dan teman-teman Lenong Uno yang selalu memberi dukungan moral dalam membantu menjalankan penelitian dan pengumpulan data tugas akhir ini.

Dalam penelitian dan penyusunan laporan ini penulis menyadari masih terdapat kekurangan, oleh karena itu penulis mengharapkan adanya kritik serta saran yang membangun demi kelengkapan penelitian dan penyusunan laporan. Semoga tugas akhir ini bermanfaat.

Yogyakarta, 14 Oktober 2021

Alvita Yulianita



“Halaman ini sengaja dikosongkan”

ABSTRAK

ALVITA YULIANITA. Potensi Isolat Bakteri *Arthrobacter aurescens* dari Deposit Vulkanik Merapi Sebagai Bioremediator Kromium (VI). Dibimbing oleh Fina Binazir Maziya., S.T., M.T dan Annisa Nur Lathifah, S.Si., M. Biotech, Ph. D.

Aktivitas vulkanik banyak menghasilkan material yang mengandung logam berat begitupun dengan ditemukannya mikroorganisme yang juga resisten terhadap logam berat salah satunya adalah logam kromium yang merupakan bahan pencemar berbahaya di alam. Kemampuan mikroorganisme yang dapat beradaptasi dengan kondisi lingkungan terkontaminasi logam berat telah banyak diteliti. Penelitian ini bertujuan menguji kemampuan bakteri *Arthrobacter aurescens* dalam mereduksi kandungan kromium yang diduga memiliki kapabilitas dalam mendegradasi konsentrasi logam berat yang tinggi dengan mereduksi dan detoksifikasi redoks logam aktif seperti kromium. Digunakan metode spektrofotometri UV-Vis untuk mengetahui pertumbuhan bakteri dan selisih konsentrasi kromium (VI) yang tereduksi. Proses degradasi ini sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor yang dapat mendukung sistem kerja metabolisme bakteri dalam mendegradasi kromium (VI) diantaranya tingkat keasaman (pH), suhu, dan nutrisi. Hasil analisis menunjukkan bahwa pada rentang pH 4,9-5,8 dan pada suhu 26,5-27°C bakteri ini dapat mengalami pertumbuhan dan didapatkan pH 5 sebagai kondisi optimumnya dengan persen removal tertinggi mencapai 94% pada kultur dengan konsentrasi 20 ppm selama waktu pengujian dari hari ke-0 hingga hari ke-7. Pertumbuhan bakteri ini berbanding lurus dengan penurunan konsentrasi kromium (VI) di tiap reaktor uji. Mikroorganisme sebaiknya ditumbuhkan pada kondisi khusus agar kondisi pendegradasian menjadi lebih optimum.

Kata kunci: *Arthrobacter aurescens*, Bioremediasi, Kadar Kromium (VI)

ABSTRACT

ALVITA YULIANITA. *Potential of Arthrobacter aurescens Isolate Bacteria from Merapi Volcanic Deposit as Chromium (VI) Bioremediator. Supervised by Fina Binazir Maziya., S.T., M.T and Annisa Nur Lathifah, S.Si., M. Biotech, Ph. D.*

Volcano activity produces a lot of material containing heavy metals by discovery of microorganism that also resistant to heavy metals, one of those which chromium as a dangerous pollutant in nature. The ability of microorganisms that can adapted to contaminates environmental conditions with heavy metals has been widely studied. This study aims to test the ability of the Arthrobacter aurescens bacterium to reduce chromium content which thought have the capability to degrade high concentrations of heavy metals by reducing and detoxifying redox active metals such as chromium. UV-Vis spectrophotometry method was used to determine bacterial growth and the difference of reduction concentration. This degradation process is strongly influenced by several factors that can support the work system of bacterial metabolism in degrading chromium (VI), including acidity level (pH), temperature, and nutrients. The results of the analysis showed that in the pH range of 4.9-5.8 and at a temperature of 26.5-27 °C these bacteria can grow and get pH 5 as the optimum condition with the

highest percent of removal reaching 94% in cultures with a concentration 20 ppm during the test from day 0 to day 7. The growth of these bacteria is directly proportional to decrease concentration of chromium (VI) in each concentration cultures. Microorganism should be grown under the specific conditions to get the optimum conditions of the degradation.

Keywords: *Arthrobacter aurescens*, Bioremediation, Heavy metals chromium (VI)





DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Ruang Lingkup	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Logam Berat Kromium Cr (VI) Sebagai Pencemar	4
2.2 Bioremediator Logam Kromium Cr (VI)	5
2.3 Spektrofotometer UV-Vis	10
BAB III METODE PENELITIAN	14
3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian	14
3.2 Kerangka Penelitian	14
3.3 Studi Literatur	15
3.4 Prosedur Penelitian	15
3.5 Analisis Efisiensi Reduksi Logam Kromium oleh Bakteri	17
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	19
4.1 Pembuatan Kultur	19
4.2 Uji Aklimatisasi Bakteri	20
4.3 Tahap Pengujian Sesungguhnya	24
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	36
5.1 Kesimpulan	36
5.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	44
RIWAYAT HIDUP	70



“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Hirarki Taksonomi dari <i>Arthrobacter</i>	8
Tabel 2. 2 Hasil Penelitian Terdahulu.....	9
Tabel 4. 1 Nilai Absorbansi Kultur di NB	19
Tabel 4. 2 Hasil Selisih Persen Removal Logam Kromium	32





“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR GAMBAR

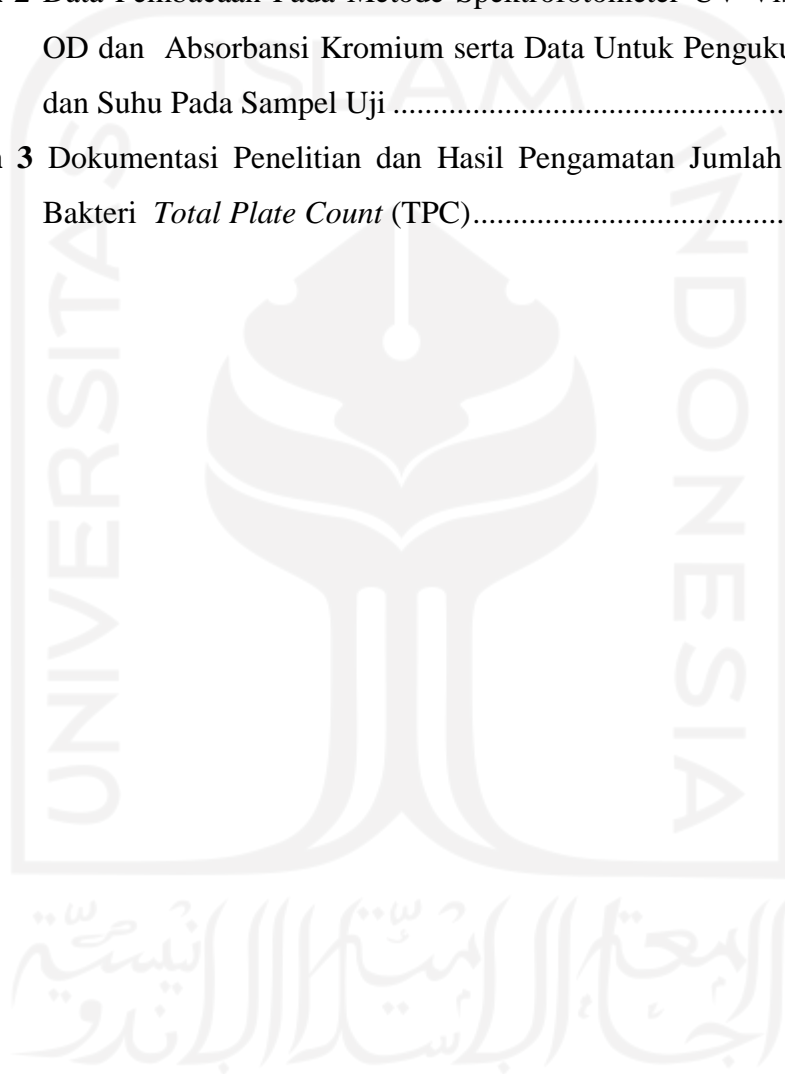
Gambar 4. 1 Kurva Laju Pertumbuhan Bakteri Uji Aklimatisasi (1) Media Minimum dan Kromium (2) Kultur Bakteri BRU 39	20
Gambar 4. 2 Kurva pH Laju Pertumbuhan Bakteri Uji Aklimatisasi (1) Media Minimum dan Kromium (2) Kultur Bakteri BRU 39	22
Gambar 4. 3 Kurva Suhu Laju Pertumbuhan Bakteri Uji Aklimatisasi (1) Media Minimum dan Kromium (2) Kultur Bakteri BRU 39	23
Gambar 4. 4 Kurva Laju Pertumbuhan Bakteri Uji Sesungguhnya (1) Media Minimum dan Kromium (2) Kultur Bakteri BRU 39	25
Gambar 4. 5 Kurva pH Laju Pertumbuhan Bakteri Uji Sesungguhnya (1) Media Minimum dan Kromium (2) Kultur Bakteri BRU 39	26
Gambar 4. 6 Kurva Suhu Laju Pertumbuhan Bakteri Uji Sesungguhnya (1) Media Minimum dan Kromium (2) Kultur Bakteri BRU 39	27
Gambar 4. 7 Perbandingan Hasil Jumlah Koloni Hari Ke-0 dan Hari Ke-7 Pada Tahap Aklimatisasi.....	29
Gambar 4. 8 Perbandingan Hasil Jumlah Koloni Hari Ke-0 dan Hari Ke-7 Pada Tahap Uji Sesungguhnya	29
Gambar 4. 9 Kurva Kalibrasi Deret Standar Kromium Heksavalen	32
Gambar 4. 10 Kurva Persen Removal Konsentrasi Kromium Heksavalen.....	33



“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 SNI 6989.71 : 2009 tentang Air dan air limbah- Bagian 71 : Cara uji krom heksavalen (Cr-VI) dalam contoh uji secara spektrofotometri.....	44
Lampiran 2 Data Pembacaan Pada Metode Spektrofotometer UV-Vis Untuk OD dan Absorbansi Kromium serta Data Untuk Pengukuran pH dan Suhu Pada Sampel Uji	52
Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian dan Hasil Pengamatan Jumlah Koloni Bakteri <i>Total Plate Count</i> (TPC).....	55



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kehadiran polutan berupa logam berat merupakan ancaman bagi keberlangsungan suatu ekosistem dilingkungan karena memiliki toksisitas yang tinggi dan non-biodegradibilitas. Logam berat dapat berasal dari fenomena alam seperti aktivitas vulkanik serta pelapukan mineral batuan maupun aktivitas antropogenik (kegiatan manusia) seperti industri ataupun pertambangan. Logam berat memiliki sifat toksisitas pada lingkungan dengan adanya dampak bioakumulasi pada makhluk hidup. (Lubis, 2019). Vulkanisme merupakan proses utama dalam pembentukan tanah, bakteri perintis dan/atau *archaea* sebagai koloni awal di lingkungan baru tersebut. Dalam literatur yang dibuat oleh (Hernandez *et al.*, 2020) yaitu melakukan identifikasi komunitas mikroba yang terlibat dalam pembentukan tanah dengan mengekstrak DNA dari sample tanah gunung berapi Llaima di Chili. Keanekaragaman mikroba meningkat dengan bertambahnya umur tanah yaitu untuk komunitas *archaeal*, *Thaumarchaeota* yang terdeteksi dalam jumlah yang sama disemua tanah, dan *Euryarchaeota* yang jarang ditemukan pada tanah yang berumur lebih tua. Pada sampel endapan vulkanik gunung Merapi yang berusia tiga tahun setelah letusan pada tahun 2010 ditemukan genus *betaproteobacterial* dengan representatif bakteri yang beragam (Lathifah *et al.*, 2019).

Kromium merupakan salah satu jenis logam berat yang berbahaya bagi keberlangsungan makhluk hidup karena bersifat karsinogenik. Berdasarkan masalah tersebut pemerintah mengeluarkan regulasi yang tertulis dalam PermenLH No. 5 Tahun 2014 mengenai baku mutu air limbah dengan kadar kromium paling tinggi dilingkungan yang diperbolehkan sebesar 0,06 – 0,6 mg/L bergantung pada jenis usaha dan/atau kegiatan yang dilakukan. Dalam mereduksi logam berat yang ada dilingkungan dapat dilakukan dengan beberapa metode seperti *ion exchange*, *reverse osmosis*, karbon aktif, absorpsi, *kaolinite*, *flyash* dan menggunakan peran agen hayati spesifik pereduksi logam berat. Teknik bioremediasi dinilai lebih efektif dan relatif murah serta tidak menimbulkan banyak efek samping dalam proses reduksinya. Teknik ini memilih keberadaan jenis mikroba yang resisten dan toleran dengan ditunjukkan melalui kemampuannya dalam mendetoksifikasi sebagai respon agen remediator

terhadap eksistensi logam berat di lingkungan tercemar yang akan diremediasi. Pendekatan bioteknologi ini secara teknis serta ekonomis sangat menguntungkan untuk peluang dimasa depan. (Akhmad *et al.*, 2011).

Berbagai studi terkait pereduksi logam kromium telah dilakukan oleh para peneliti yaitu dengan menggunakan bakteri *Arthrobacter sp.* yang memiliki kapabilitas dalam mendegradasi konsentrasi logam berat yang tinggi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan (Patra *et al.*, 2010) didapatkan tiga isolat bakteri Gram positif yang teridentifikasi dengan pengurutan gen 16S rRNA sebagai *Arthrobacter aurescens strain*, *Rhodococcus erythropolis strain*, dan *Bacillus atrophaeus* berasal dari area yang terkontaminasi kromium dan kontaminasi solar memiliki kemampuan untuk mereduksi secara cepat Cr (VI) menjadi Cr (III) ketika ditumbuhkan pada suplemen minimum media yang dilengkapi kandungan glukosa sebagai sumber karbon utamanya. (Dey *et al.*, 2018) melakukan penelitian mengenai pengaruh ion logam terhadap pembentukan biofilm oleh *Arthrobacter sp.* dan efisiensi penghilangan logam Cr (VI). Studi ini mengeksplorasi pembentukan biofilm yang resisten terhadap kromat. Pembentukan biofilm pada isolat bakteri yang merupakan *peptone yeast* ekstrak kompleks dengan medium glukosa dan dipengaruhi secara positif oleh Cr (VI) ini menunjukkan perkembangan biofilm didalam pengaruh logam berat Cr (VI). Eksperimen juga dilakukan untuk dapat menggunakan kembali dan mendaur ulang kembali biofilm untuk melihat efisiensinya dalam menurunkan kadar Cr (VI) dari limbah yang terkontaminasi logam berat. adar Cr (VI) dari limbah yang terkontaminasi logam berat.

Permasalahan logam berat yang semakin marak dapat memberikan dampak berbahaya bagi berlangsungnya kehidupan yang diakibatkan oleh kegiatan antropogenik. Meninjau permasalahan tersebut, berbagai informasi yang telah dijelaskan dari beberapa studi diatas dapat dijadikan referensi penting untuk dilakukan kajian yang lebih komprehensif terkait dengan peran mikroba khususnya dari jenis *Arthrobacter sp.* yang memiliki karakteristik unggul mampu bertahan pada kondisi minim nutrisi karbon dan nitrogen (Lathifah *et al.*, 2019). Bioteknologi remediasi juga memiliki nilai yang ekonomis dan efektif dalam aspek memperbaiki kondisi lingkungan saat ini serta dapat menjadi peluang terhadap perkembangan teknologi bioremediasi di masa yang akan datang.

1.2 Perumusan Masalah

1. Seberapa besar kemampuan bakteri *Arthrobacter aurescens* dalam mereduksi kandungan kromium pada sampel uji parameter logam berat kromium heksavalen?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menguji besar kemampuan bakteri *Arthrobacter aurescens* dalam mereduksi kandungan kromium pada sampel uji parameter logam berat kromium heksavalen.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Dapat memberikan informasi serta opsi kepada masyarakat dalam hal penanganan logam berat kromium dilingkungan dengan potensi mikroba dari isolat deposit vulkanik merapi.
2. Penelitian ini dapat dijadikan referensi pendukung untuk penelitian yang akan datang mengenai kemampuan bioteknologi dalam mereduksi logam berat khususnya *Arthrobacter sp.*
3. Menambah wawasan serta pengaplikasian ilmu yang didapat selama diperkuliahan.
4. Menjadi peluang untuk melanjutkan studi lebih lanjut dan berkolaborasi dalam penanganan permasalahan dilingkungan.

1.5 Ruang Lingkup

1. Jenis logam berat yang akan dianalisis adalah kromium (Cr) pada umumnya.
2. Penelitian dilakukan dalam skala laboratorium.
3. Biomassa mikrobakteri yang digunakan yaitu isolat bakteri *Arthrobacter aurescens*.
4. Sumber kromium yang digunakan yaitu berasal dari $K_2Cr_2O_7$ dengan variasi konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm.
5. Dilakukan pengukuran terhadap faktor yang mempengaruhi proses reduksi yaitu pH dan suhu serta mengamati laju pertumbuhan bakteri pada sampel uji.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Logam Berat Kromium Cr (VI) Sebagai Pencemar

Logam berat memiliki unsur logam dengan berat molekul yang tinggi dan berat jenis $>5 \text{ g/cm}^3$. Dalam kadar yang rendah logam berat sebenarnya sudah memiliki sifat toksik pada tumbuhan, hewan dan manusia. Keberadaan logam berat dilingkungan dapat disebabkan dari peristiwa alami alam maupun kegiatan manusia. Adanya aktivitas vulkanik sehingga material batuan tersingkap ke permukaan bumi dan mengalami pelapukan akibat faktor alam yang pada akhirnya akan terbawa oleh aliran air alami hingga keberadaan logam berat ini berada di air permukaan maupun dalam tanah. Selanjutnya dari aktivitas pertanian seperti penggunaan pupuk atau digunakan untuk *soil conditioner* dalam upaya mempercepat pemulihan tanah, maupun dari pembuangan sisa aktivitas industri (Rusyda, 2014).

Salah satu jenis logam berat yang banyak sekali ditemukan dalam pencemaran air maupun tanah dan yang memiliki toksisitas cukup tinggi yaitu kromium. Kromium (Cr) merupakan salah satu logam berat yang dapat mencemari alam dan berbahaya bagi lingkungan. Keberadaan logam berat ini dapat dilihat dari buangan air limbah kegiatan perindustrian yang biasanya dapat digunakan sebagai pelapis elektrolit pada proses pemolesan untuk mendapatkan hasil yang mengkilat yaitu pada industri *electroplating*, selain itu biasa digunakan juga pada industri penyamakan kulit, pabrik cat, industri tekstil, limbah batik, maupun digunakan pada ketel dipengeboran kilang minyak (Nahadi *et al.*, 2005). Logam ini juga dimanfaatkan pada industri yang menggunakan sistem uap panas (*boiler*) sebagai pencegah korosi pada dinding *boiler* dibagian dalam (Sumarni, 2009).

Logam kromium memiliki nomor atom 24 dan nomor massa 51,996, terletak pada periode 4 dan golongan IVB. Memiliki sifat fisik berwarna putih, berkristal keras dan biasa digunakan untuk pencegahan korosi. Kromium trivalen memiliki energi potensi yang kecil sehingga tidak termasuk kategori sebagai oksidator yang kuat. Disamping itu kromium heksavalen merupakan oksidator kuat dan tidak stabil dibandingkan dengan kromium trivalen (Khoir, 2018). Menurut *The Health Risk Index* (HRI), logam berbahaya dengan index >1 secara berturut-turut dari yang terbesar adalah Cr diikuti

logam Zn, Ni, Cd, Mn, Pb, Cu dan Fe (Ahmad, 2018). Logam kromium di alam tidak ditemukan secara kromium murni tetapi dalam bentuk senyawa padat atau mineral unsur lain (Rusyda, 2014).

Kromium di lingkungan dapat ditemukan dalam beberapa bentuk umum yaitu kromium (0), kromium trivalen (Cr III), dan kromium heksavalen (Cr VI) dimana jenis kromium ini bersifat lebih toksik dibandingkan dengan Cr (III) jika terpapar melebihi ambang batas yang dibutuhkan oleh tubuh ($>2\mu\text{g}/\text{m}^3$) dalam waktu yang cukup lama akan membahayakan apabila masuk ke dalam sistem metabolisme makhluk hidup seperti kanker, gangguan pencernaan, kerusakan pada hati dan ginjal serta dapat menyebabkan kematian (Arsyadi *et al.*, 2015). Menurut Rusyda, 2014 yang menjadi penyebab utama logam kromium memiliki toksisitas yaitu berdasarkan daya larutnya dan sifatnya sebagai oksidator kuat sehingga mudah untuk menembus membran sel dan tereduksi di dalamnya. Keperluan air bersih untuk aktivitas sehari-hari seperti mandi cuci kakus ataupun untuk minum dan memasak masyarakat masih banyak yang menggunakan air sumur sebagai sumber utamanya. Apabila terjadi pencemaran logam berat kromium Cr (VI) terhadap sumber air sumur, logam kromium dapat mengendap pada tanah dan terserap oleh tanaman dan ternak. Hal ini akan menyebabkan bioakumulasi pada manusia jika tanaman dan ternak pada daerah tercemar tersebut dikonsumsi terus menerus dan dapat menyebabkan timbulnya penyakit kanker karena cemaran logam berat kromium bersifat karsinogenik (Andini, 2017).

Pencemaran logam yang tidak terkontrol berpeluang dalam terakumulasinya logam berat pada lingkungan secara bioakumulasi maupun biomagnifikasi terhadap makhluk hidup. Berdasarkan keterangan ini, maka perlu adanya upaya dalam pencegahan maupun penanggulangan pencemaran logam berat kromium pada lingkungan. Melakukan pengurangan tingkat toksisitas logam berat kromium heksavalen tersebut diantaranya dengan mengubahnya menjadi logam kromium trivalent (III) yang lebih sederhana untuk didegradasi dan memiliki nilai toksisitas yang jauh lebih rendah.

2.2 Bioremediator Logam Kromium Cr (VI)

Bakteri gram positif memiliki karakteristik dinding sel peptidoglikan yang tebal sekitar 15-80 nm monolayer, bersifat lebih rentan terhadap penisilin, komposisi yang dibutuhkan lebih kompleks, resisten terhadap gangguan fisik, resisten terhadap alkali 1%

KOH larut, dan dapat membentuk ekotoksin endotoksin. Pada proses pewarnaan gram bakteri jenis ini cenderung mempertahankan warna zat metil ungu. Hal ini dapat terjadi karena menyempitnya pori-pori pada dinding sel setelah pewarnaan kristal violet dan terjadi proses perusakan warna atau penghilangan kepekatan warna (dekolorisasi) oleh alkohol sehingga dinding pada sel bakteri gram positif ini dapat tetap menahan warna ungu yang nantinya akan terbaca pada mikroskop dengan ciri bakteri yang memiliki warna ungu (Rusyda, 2014).

Genus *Arthrobacter* termasuk mikroorganisme yang dapat hidup di tanah, gua bawah tanah, laut, gletser, limbah, permukaan udara dari tumbuhan, sayuran, ikan maupun berbagai jenis spesies hewan. *Arthrobacter* dapat ditemukan di alam dengan mudah karena mereka mudah mencemari makanan mentah, produk susu dan olahannya, daging, dan produk ikan. Di lingkungan bakteri ini sering dikenal sebagai bakteri yang paling banyak memiliki keserbagunaan. Beberapa spesies yang memiliki sifat psikrofilik dan sebagian lainnya bersifat psikrotrofik menggunakan berbagai substrat organik sebagai sumber utama karbon dan energinya. Bakteri ini juga berperan dalam pembusukan makanan dan beberapa dianggap sebagai mikroorganisme patogen. Memiliki karakteristik morfologi dan fisiologi dengan siklus pertumbuhan batang kokus yaitu pada fase log berbentuk batang, dan menjadi lebih pendek pada fase stationer menyerupai bentuk kokus besar. Pada kultur yang sudah lama sel memiliki kokus sepenuhnya tetapi yang sering terlihat yaitu jenis campuran antara batang dan kokus. Sebagian besar *Arthrobacter* adalah bakteri mesofilik dengan temperature optimum yaitu 20-30 °C, namun beberapa merupakan jenis psikrofilik dan psikrotrofik dan dapat tumbuh pada suhu 4-6 °C atau bahkan mendekati 0 °C. Strain *Arthrobacter* secara umum terutama yang berasal dari tanah tidak memiliki kebutuhan nutrisi tertentu sehingga dapat memanfaatkan glukosa, sakarosa, gliserol, asetat, dan sitrat, dimana berdasarkan demonstrasi studi lain bakteri ini juga dapat memanfaatkan lebih dari 90 sumber karbon yang berbeda. Semua strain *Arthrobacter* tidak tahan asam dan tidak dapat membentuk spora. Hail tersebut dikarenakan substrat asam dapat menghambat pertumbuhan dan termasuk faktor selektifnya. Kultur bakteri ini dapat diawetkan dalam agar ekstrak tanah atau dalam *plate count agar* selama lebih dari 2 bulan pada suhu 20 °C atau dapat dibekukan di media kaca pada suhu -70 °C untuk pengawetan beberapa tahun (Comi *et al.*, 2011).

Kemampuan bakteri dalam mendetoksifikasi logam berat dapat menjadi dasar untuk pencegahan dan penanganan lingkungan akibat pencemaran logam berat. Biosorpsi dilakukan dengan menghilangkan kandungan logam dari suatu larutan dengan memanfaatkan peran biologis. Menurut Arsyadi *et al.*, (2015), mekanisme proses bioakumulasi juga dapat terjadi pada sel seperti bakteri, yang dalam waktu bersamaan sel juga melakukan adsorpsi dengan penyerapan selektif untuk kebutuhan nutrisi dan mineral esensial tetapi juga dapat mengabsorb kandungan-kandungan berbahaya. Terakumulasinya kandungan racun dari lingkungan akan terkumpul hingga mencapai batas toleransi didalam sel. Hal ini dikarenakan bioakumulasi menggunakan prinsip sistem transpor aktif kation dan ikatan permukaan melalui pengambilan kation logam secara aktif dengan menggunakan energi. Menurut Nahadi *et al.*, (2005) pada dasarnya bakteri memiliki sistem pertahanan diri pada saat proses berkontakannya bakteri dengan toksikan dengan melakukan detoksifikasi dan pencegahan masuknya ion logam, pengeluaran atau pembuangan kembali ion logam yang berada pada tubuh sel untuk bertahan hidup. Hal tersebut juga memacu bakteri dalam menyesuaikan kecepatan reaksi metaboliknya yang dapat berupa pengaturan jumlah, perubahan jenis, maupun pengendalian dari fungsi enzim yang bekerja. Mikroorganisme akan melakukan penurunan sintesis protein normal menjadi lebih spesifik (*heat shock protein*) yang akan diinduksi dikarenakan adanya keberadaan zat toksik yang berpotensi menyebabkan adanya kerusakan pada sel. Bentuk detoksifikasi lain bakteri terhadap toksikan yaitu dengan mentransformasikan logam berat menjadi logam yang relatif tidak toksik ataupun dengan cara pengendapan. Proses detoksifikasi ini melibatkan peran permukaan sel yang merupakan sisi reaktif bermuatan negatif yang akan mengikat ion-ion logam berat bermuatan positif tersebut dan nantinya akan dikirim melalui periplasmik, lanjut ke sitoplasma dengan transfer aktif non spesifik. Proses reduksi logam berat kromium dapat terjadi pada dua kondisi bakteri yaitu secara aerobik dimana melibatkan peran protein terlarut dengan enzim yang ada pada sel bakteri tersebut dan secara anaerobik melalui peran dinding ataupun membrane selnya.

Bakteri Gram positif (*Arthrobacter sp.*) dapat mereduksi Cr (VI) menjadi Cr (III) dengan kinerja penyerapan logamnya dipengaruhi oleh beberapa faktor eksternal seperti pH, suhu, atau ion lain dalam larutan yang mungkin terjadi kompetisi. Beberapa pereduksi kromium (VI) secara aerobik dan anaerobik diketahui mampu menggunakan

kontaminan organik sebagai elektron donor dalam mereduksi kromium (VI) (Gelagutashvili *et al.*, 2011). Spesies *Arthrobacter* diisolasi diberbagai variasi iklim pada daerah tropis, dan daerah beriklim sedang hingga ekstrem di Antartika atau pada kondisi akumulasi logam tanah tercemar. Bakteri ini umumnya diisolasi dari tanah dan air yang terkontaminasi dengan bahan kimia industri dan bahan radioaktif. Pada tahun 2015 sudah ditemukannya genom secara lengkap hanya untuk enam spesies yaitu *A. aurescens TC1*, *Arthrobacter chlorophenolicus A6*, *A. phenanthrenivorans Sphe3*, *A. arilaitensis re 117*, dan *A. nitroguajacolicus Rue61a*. Bioremediasi merupakan suatu upaya yang mengacu pada penguraian polutan dilingkungan menggunakan agen biologis, seperti mikroba dan tumbuhan atau keduanya. Beberapa penelitian berfokus pada kemampuan biodegradasi oleh *Arthrobacter Strain*, yaitu mendegradasi 4-*chlorophenol* dengan bakteri (*Arthrobacter chlorophenolicus A6* pada mikroskosmos tanah untuk melihat kemampuan dan keaktifannya sebagai agen pendegradasi dilingkungan (Roy *et al.*, 2020).

Tabel 2. 1 Hirarki Taksonomi dari *Arthrobacter*

Rank	Name	Reference
Kingdom	Bacteria	Cavalier-Smith (2002)
Subkingdom	Posibacteria	Cavalier-Smith (2002)
Phylum	Actinobacteria	Cavalier-Smith (2002)
Class	Arthrobacteria	Cavalier-Smith (2002)
Subclass	Actinobacteridae	Stackebrandt et al. (1997)
Order	Actinomycetales	Oren (2017)
Suborder	Micrococchineae	Stackebrandt et al. (1997)
Family	Micrococcaceae	Pribam (1929)
Genus	<i>Arthrobacter</i>	Conn and Dimmick (1947), Koch et al. (1995)

(Sumber : Roy, 2020)

Bioakumulasi kromium dipelajari dalam media mineral minimal, resistensi logam kromium pada kultur telah ditemukan pada media tumbuh dengan mereduksi Cr (VI) menjadi Cr (III). Aktivitas reduktase kromat dalam ekstrak sel ditemukan sebanyak 2,3 unit/mg protein dengan peran NADPH sebagai elektron donor (Bafana *et al.*, 2010). Aktivitas enzim reduktase kromat memerlukan dua koenzim penting yang sangat

berperan pada proses metabolisme didalam sel yaitu NADH dan NADPH dengan reaksi oksidasi-reduksi yaitu $\text{CrO}_4^{2-} + 6,5 \text{H}^+ + 1,5 \text{NADH} \rightarrow \text{Cr}^{3+} + 1,5 \text{NAD}^+ + 4\text{H}_2\text{O}$ (Nahadi *et al.*, 2005). Penelitian terdahulu menunjukkan bakteri *Arthrobacter sp.* memiliki tingkat resistensi dan reduksi untuk menurunkan kadar logam berat kromium (Cr VI) ditunjukkan melalui pertumbuhan kultur selama akumulasi logam berat kromium dengan nilai OD dan persen removal dari 60% hingga 90%. Berdasarkan hal tersebut menjadikan bakteri *Arthrobacter sp.* ini berpotensi menjadi agen bioremoval. Berikut beberapa hasil dari penelitian terdahulu yang berkaitan dengan peran bakteri dalam mereduksi kandungan logam berat.,

Tabel 2. 2 Hasil Penelitian Terdahulu

Judul Paper,tahun	Penulis	Hasil Penelitian
Molecular characterization of chromium (VI) reducing potential in Gram positive bacteria isolated from contaminated sites, 2010.	Ramesh C. Patra, Seidu Malik, Michael Beer, Mallavarapu Megharaj, Ravi Naidu	<ul style="list-style-type: none"> •Peningkatan densitas bakterial pada tiga isolat bakteri MM10 (<i>Arthrobacter aurescens</i>), MM 20 (<i>Bacillus atrophaeus</i>), dan MM 30 (<i>Rhodococcus erythropolis</i>) setelah 50 jam inkubasi menunjukkan reduksi konsentrasi kromium (VI) pada supernatan kultur sekitar 65% untuk MM10, 94% untuk MM20 dan MM30.
Influence of metal ions on biofilm formation by <i>Arthrobacter sp.</i> SUK 1205 and evaluation of their Cr (VI) removal efficacy, 2018.	Satarupa Dey, A.K. Paul	<ul style="list-style-type: none"> •Faktor lingkungan mempengaruhi pada pembentukan biofilm pada bakteri <i>Arthrobacter sp.</i> SUK 1205 seperti dari konsentrasi Cr (VI), sumber karbon, logam, pH dan temperatur juga menjadi evaluasi. •Pembentukan biofilm secara maksimum ditemukan pada pH 7 dengan suhu inkubasi 37 °C dan telah ditentukan sebagai kondisi optimum untuk percobaan selanjutnya. •Diantara sumber karbon yang dicoba, glukosa (kontrol) ditunjukkan sebagai yang paling tepat diikuti selanjutnya dengan <i>maltose</i> dan <i>arabinose</i> dengan O.D. 0,87 dan 0,67. Sedangkan sukrosa ditetapkan sebagai yang paling tidak efisien sebagai sumber karbon diikuti dengan rafinosa dan xilosa.

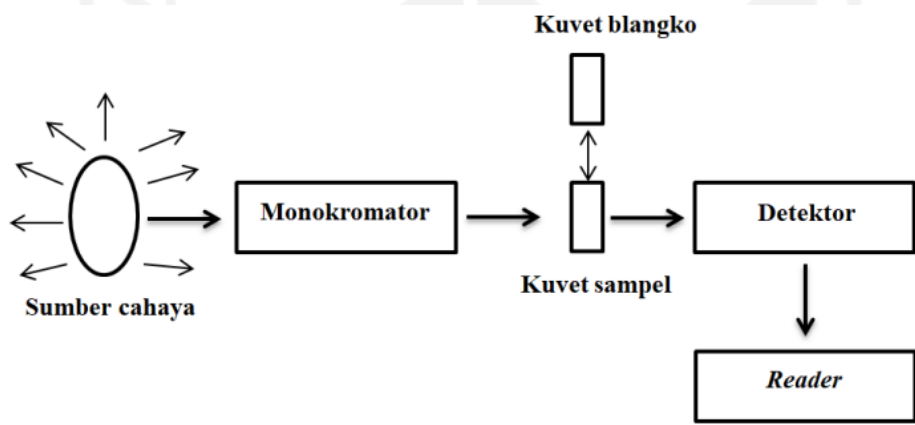
<p>Removal and Recovery of Chromium (III) from Aqueous Chromium (III) Using <i>Arthrobacter nicotianae</i> Cells, 2017.</p>	<p>Tomonobu Hatano, Takehiko Tsuruta</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Pengaruh pH pada penghilangan kromium meningkat seiring bertambahnya pH larutan namun didapatkan persen reduksi paling tinggi sebanyak 90% yaitu pada pH 5. • Potensi zeta pada <i>A.nicotianae</i> menurun seiring dengan terjadinya peningkatan pH larutan. Hasil ini diindikasikan bahwa penghilangan logam persen reduksi logam kromium bergantung pada muatan permukaan sel <i>A. nicotianae</i> dan larutan. • Semakin meningkat kromium yang direduksi, maka jumlah sel yang tumbuh juga meningkat.
<p>Reduction of Hexavalent Chromium by Viable Cells of Chromium Resistant Bacteria Isolated from Chromite Mining Environment, 2014.</p>	<p>Satarupa Dey, Baishali Pandit, dan A.K. Paul</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Saat konsentrasi kromium meningkat maka pertumbuhan isolat bakteri menurun hampir 50% di kontrol (tanpa Cr (VI)) dan sangat terhambat pada 12 mM Cr (VI). • Suhu dan pH menjadi hal yang sangat berpengaruh karena kedua faktor ini mengatur aktivitas metabolisme sel. Temperatur optimum dan pH untuk mereduksi Cr (VI) adalah 25 °C dan 7.0. • Ketika media reduksi ditambahkan logam berat yang berbeda seperti Ni (II), Zn (II), Mn (II) dan Co (II) pada konsentrasi ekimokuler memberikan dampak negatif pada proses reduksi dimungkinkan karena toksisitas logam dan penghambatan proses reduksi Cr (VI). Namun dengan kehadiran logam Cu (II) dalam media bersama Cr (VI) ternyata meningkatkan kemampuan isolat dalam mereduksi kromium.

2.3 Spektrofotometer UV-Vis

Metode analisis menggunakan spektrofotometer didasarkan pada pengukuran serapan sinar monokromatis merupakan gabungan antara spektrometer dan fotometer dengan panjang gelombang spesifik pada suatu larutan yang berwarna. Spektrofotometer dapat menentukan secara kualitas maupun kuantitas dengan pengukuran absorbansi dari suatu senyawa yang diintrepertasikan dalam fungsi

konsentrasi (Sari, 2015). Beberapa jenis instrument yang sering digunakan untuk analisis kimia diantaranya yaitu *fourier-transform infrared spectroscopy* (FTIR), *Gas Chromatography* (GC), *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), spektrofotometer ultraviolet, visible, ataupun UV-Visible (Riyani, 2020).

Spektrofotometer UV-Vis yang merupakan penggabungan dari ultraviolet dan *visible* spektrofotometer menggunakan dua penggabungan sumber cahaya yang berbeda yaitu ultraviolet dan *visible*. memiliki prinsip kerja diawali dari sinar yang ditembakkan akan melewati monokromator menuju sel absorpsi pada kuvet dan diteruskan pada pembacaan detektor lalu diubah menjadi spektra untuk menentukan konsentrasi senyawa-senyawa (Sari, 2015). Dengan ilustrasi sebagai berikut pada Gambar 2.1.



(Sumber : Riyani, 2020)

Gambar 2. 1 Proses Pembacaan Pada Spektrofotometer UV-Vis

Menurut Sari, 2015 dan Riyani, 2020 sumber energi instrumen ini yang berupa sumber radiasi ultraviolet dipancarkan oleh lampu hidrogen dan deuterium dengan rentang panjang gelombang dari 160 hingga 380 nm. Lalu sumber radiasi *visible* atau sinar tampak dipancarkan dari lampu tungsten dengan rentang panjang gelombang 320 hingga 2400 nm. Selanjutnya perubahan radiasi polikromatik menjadi monokromatik melalui monokromator dengan penentuan panjang gelombang tertentu. Pada tahap ini terdapat beberapa bagian yaitu kisi difraksi atau prisma, kuarsa dan *rock salt*. Sampel yang akan dianalisis ditempatkan pada kuvet, terdapat dua jenis kuvet yaitu kuvet berbahan kuarsa untuk pengukuran yang dilakukan pada daerah UV dan kuvet kaca (corex) untuk pengukuran pada *visible*. Penggunaan kuvet akan mempengaruhi hasil

dari pembacaan spektroskopi yang dihasilkan. Dinding kuvet memiliki dua jenis sisi yaitu buram dan transparan, dimana bagian transparan pada kuvet tidak boleh terpegang setelah pembersihan dan harus dilakukan pembilasan untuk mencegah adanya perubahan karakteristik pada transmisi kuvet. Sinar yang diteruskan pada sampel akan ditangkap oleh detektor dengan menyerap energi foton dan mengubahnya menjadi arus listrik oleh *amplifier* untuk dapat diukur secara kuantitatif.

Pengukuran sampel dalam bentuk larutan pada spektrofotometer UV-Vis terdapat dua macam analit yang dapat diukur oleh sinar tampak yaitu analit berwarna yang memiliki kemampuan menyerap cahaya secara alami dan analit yang dapat dibuat berwarna. Analit yang dapat dibuat berwarna perlu dilakukan reaksi dengan penambahan zat tertentu agar terbentuknya senyawa yang memiliki kemampuan menyerap cahaya pada panjang gelombang spesifik. Analit yang dibuat berwarna merupakan analit yang tidak memiliki warna dan dapat dilakukan oksidasi dengan pembentukan kompleks agar analit menjadi berwarna dan dapat terbaca oleh sinar tampak (Warono *et al.*, 2013).



“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB III

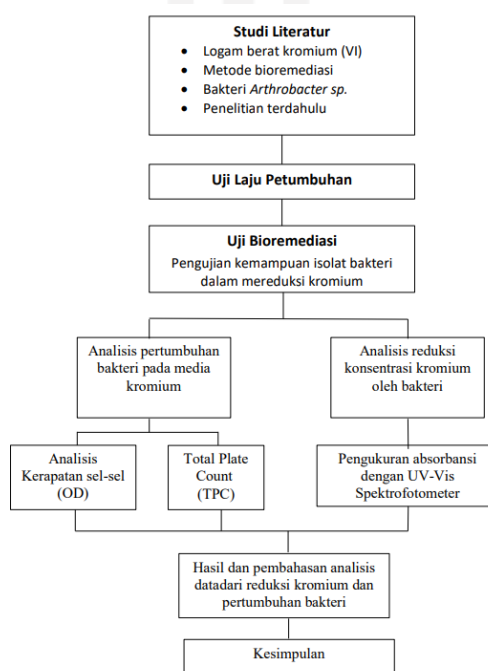
METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian mengenai “Potensi Isolat Bakteri *Arthrobacter aurescens* dari Deposit Vulkanik Merapi Sebagai Bioremediator Kromium (VI)” dilakukan untuk menguji kemampuan bioremediator dalam mereduksi kandungan logam berat kromium. Pengujian dilakukan dalam skala laboratorium di Laboratorium Bioteknologi Teknik Lingkungan FTSP – UII Yogyakarta yang dilakukan pada bulan Mei hingga Juli 2021.

3.2 Kerangka Penelitian

Metode penelitian berfungsi sebagai gambaran awal dalam tahapan penelitian yang disusun dalam bentuk kerangka penelitian berupa alur prosedur terhadap penelitian yang akan dilakukan. Variabel yang digunakan yaitu variasi konsentrasi logam berat kromium yang akan diuji, media tumbuh menggunakan *Nutrient Agar* dan *Nutrient Broth* (NA & NB), serta jenis bakteri yang akan digunakan yaitu *Arthrobacter sp.* Pengujian konsentrasi kromium dianalisis menggunakan metode instrumen Spektrofotometer dan *Total Plate Count* (TPC).



Gambar 3. 1 Skema Metode Penelitian

3.3 Studi Literatur

Studi literatur dilakukan untuk mendukung informasi yang akan digunakan sebagai referensi serta pemahaman dalam pelaksanaan penelitian. Sumber literatur yang digunakan dapat berupa jurnal nasional dan internasional, buku, karya ilmiah, makalah seminar, peraturan dan laporan-laporan penelitian terdahulu lainnya yang berhubungan dengan topik yang akan dibahas. Dengan adanya studi literatur membantu mendukung ide penelitian dan memudahkan dalam pelaksanaannya nanti.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Alat dan Bahan

Hal yang perlu disiapkan sebelum melakukan uji laju pertumbuhan dan bioremediasi bakteri diperlukan beberapa alat dan bahan yaitu, 12 buah erlenmeyer 100 mL, 45 buah tabung reaksi, 27 buah cawan petri, satu buah corong kaca, satu buah *orbital shaker*, *waterbath shaker*, *colony counter*, OD Spektrofotometer, jarum inokulasi, autoklaf, pipet ukur 10 mL, satu set mikropipet berukuran 10 μ L, 100 μ L, dan 1000 μ L, karet hisap, botol semprot, bunsen, satu pak tisu, kapas lemak, label, satu buah gelas beaker 250 mL, neraca analitik, gelas arloji dan spatula. Serta bahan yang akan digunakan diantaranya, bakteri *Arthrobacter aurescens.*, reagen $K_2Cr_2O_7$, NaCl, carbol Kristal violet, lugol, fuchsin basa, alkohol 70%, Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , NH_4Cl , $MgSO_4$, $CaCl_2$, glukosa, media *Nutrient Agar*, *Nutrient Broth* dan akuades.

Dalam melakukan uji yang berhubungan dengan mikroorganisme, maka kebersihan alat dan sterilisasi menjadi hal yang diutamakan agar tidak terjadi kontaminasi oleh mikroorganisme lain baik dipermukaan benda maupun diudara. Alat-alat seperti erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, gelas ukur, mikropipet dan sebagainya yang akan digunakan sebagai reaktor uji, tempat menyimpan kultur bakteri dan alat pengambil sampel serta bahan-bahan seperti *Nutrient Agar*, *Nutrient Broth* dan media minimum bakteri juga harus dalam kondisi aseptik. Sterilisasi dilakukan dengan menutup alat dan bahan menggunakan sumbatan kapas lemak lalu dibungkus menggunakan kertas coklat ataupun pelapis aluminium dan direkatkan dengan karet. Disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan 1,1 atm selama \pm 60 menit hingga tekanan pada autoklaf menunjuk pada angka

0 maka selanjutnya alat dan bahan bisa digunakan untuk tahap pengujian (Rahayu, 2017).

3.4.2 Persiapan Isolat Bakteri

Penelitian ini menggunakan sediaan isolat bakteri *Arthrobacter sp.* yang ditemukan dari penelitian (Lathifah *et al.*, 2019). Pengujian penyisihan logam kromium ini dilakukan secara triplo untuk mengamati kemampuan bakteri penyisihnya dengan menggunakan perbandingan dua contoh sampel yaitu *Arthrobacter sp.* sebagai bakteri utama dan larutan kromium tanpa bakteri sebagai kontrol negatif. Untuk mencegah adanya kontaminasi pada isolat bakteri *Arthrobacter sp.* maka dilakukan peremajaan bakteri dengan menginokulasikan secara aseptik bakteri induk ke media biakan yang baru berupa agar miring NA yang telah steril untuk memperbanyak jumlah biakan bakteri yang akan dipakai pada pengujian. Selanjutnya media biakan baru diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Rahayu, 2017). Pembuatan inokulum isolat bakteri yang akan ditumbuhkan pada reaktor uji yaitu dengan menginokulasikan isolat bakteri *Arthrobacter sp.* dalam media *Nutrient Broth*, diinkubasi menggunakan *waterbath shaker* selama 48 jam dengan suhu 30°C. Adanya bakteri yang tumbuh ditandai dengan keruhnya media yang selanjutnya dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan bakteri yang terbentuk dari media. Kultur disentrifugasi sebanyak 45 ml selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Bakteri yang terbentuk pada *pellet* kemudian dibilas dengan NaCl 80% disentrifugasi kembali selama 3 menit. Sel bakteri hasil sentrifugasi selanjutnya siap digunakan untuk pengujian.

3.4.3 Persiapan Media Tumbuh

Pada pengujian reduksi logam kromium oleh bakteri, dilakukan pembuatan larutan standar Cr dengan variasi konsentrasi yaitu 5 ppm, 10 ppm, dan 20 ppm. Digunakan media mineral minimum dengan komposisinya yaitu dalam satu liter terdiri dari Na₂HPO₄ 1,264 g, KH₂PO₄ 0,326 g, NH₄Cl 1 g, MgSO₄, 0,098 g, CaCl₂ 0,044 g, glukosa, 0,1 g (Bafana *et al.*, 2010). Media yang telah siap kemudian ditambahkan K₂Cr₂O₇ dengan konsentrasi masing-masingnya 5 ppm, 10 ppm, dan 20 ppm. Larutan dibuat dalam 100 ml dengan massa kromiumnya berurutan

sebesar 1,4 g, 2,8 g, dan 5,6 g sebagai sumber kromium sehingga didapatkan larutan media minimal + $K_2Cr_2O_7$ (Rcheulishvili *et al.*, 2019).

3.4.4 Uji Bioremediasi

Pengamatan bioremediasi oleh bakteri menyesuaikan hasil yang didapat pada uji pertumbuhan bakteri. Dilakukan analisis terhadap OD, pH, dan suhu setiap dua jam dalam rentang waktu selama 12 jam. Setelah itu tiap tiga jam pada pengujian diawal, tengah, dan akhir dilakukan analisis kembali pada jam ke-enam, ke-sembilan, dan ke-12. Waktu yang digunakan untuk menginkubasi bakteri dalam logam berat kromium pada umumnya dilakukan selama 24 jam, 72 jam, dan 96 jam (Imron *et al.*, 2016).

Inokulasi bakteri dilakukan pada media tumbuh yang ditambahkan larutan standar logam kromium dengan konsentrasi yang direncanakan. Setelah itu larutan dimasukan kedalam masing-masing erlenmeyer. Inkubasi dilakukan pada suhu kamar, *shaker* 100 rpm selama 120 jam. Analisis pertumbuhan bakteri dan konsentrasi Cr dilakukan pada jam ke-36 dan jam ke-120 (Rcheulishvili *et al.*, 2019). Untuk mendapatkan besar OD, dilakukan analisis menggunakan spektrofotometer dengan mengambil 3 ml larutan NB + bakteri (Ruysda, 2014).

3.5 Analisis Efisiensi Reduksi Logam Kromium oleh Bakteri

3.5.1 Analisis OD (*Optical Density*)

Analisis ini dilakukan untuk mengetahui kerapatan optik sel-sel, berdasarkan literatur (Lizayana *et al.*, 2016) dalam menentukan nilai OD sampel, sebanyak 1 mL media minimum + $K_2Cr_2O_7$ ditempatkan pada kuvet untuk diukur absorbansinya, menggunakan panjang gelombang 540 nm dengan instrumen spektrofotometer (Andini, 2017). Berdasarkan penelitian (Arsyadi *et al.*, 2015), semua isolat mampu bertahan hingga konsentrasi *Optical Density* (OD) 600 nm secara spektrofotometri.

3.5.2 Analisis Reduksi Kromium

Kultur bakteri yang telah tumbuh pada larutan media uji logam berat kromium pada hari awal dan hari akhir pengujian dilakukan pengukuran konsentrasi logam berat kromium (VI). Residu logam berat ini dianalisis untuk

mengetahui selisih logam berat yang telah tereduksi oleh bakteri. Analisis ini dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan tahap pembuatan larutan yang perlu dipersiapkannya terdapat pada Lampiran 1. Pengukuran konsentrasi kromium (VI) menggunakan spektrofotometer diukur dengan absorbansi panjang gelombang 540 nm (Silva *et al.*, 2012). Berikut rumus dalam menghitung efisiensi penyisihan kadar logam (Setia *et al.*, 2002).

$$\text{Persen removal} = \frac{C_0 - C}{C_0} \times 100\%$$

Ket : C_0 = Konsentrasi logam berat awal (mg/L)

C = Konsentrasi logam berat akhir (mg/L)

3.5.3 Analisis pH dan Suhu

Analisis untuk mengetahui besar pH pada sampel uji dengan cara menggunakan alat pH meter, menghubungkan sensor pembaca pH dengan sampel uji yang kemudian akan terbaca pada indikator pembaca sehingga didapatkanlah nilai pH. Untuk pengujian suhu menggunakan termometer dengan cara menghubungkan termometer kedalam media yang nantinya akan terbaca oleh indikator pembaca dan didapatkanlah besar suhu yang terukur pada media (Ruysda, 2014).

3.5.4 Analisis *Total Plate Count* (TPC)

Analisis pertumbuhan jumlah koloni bakteri dilakukan pengenceran sebesar 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} setelah itu sebanyak 3 tetes dimasukan dalam media agar dengan media minimum + $K_2Cr_2O_7$ yang telah diinkubasi pada suhu $37^\circ C$ selama 24 jam kemudian dilakukan perhitungan jumlah koloni menggunakan metode TPC dengan *colony counter* sebagai alat untuk mengitung banyaknya bakteri yang hidup pada media, lalu disimpan pada inkubator (Rusyda, 2014).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pembuatan Kultur

Pembuatan kultur bakteri bertujuan untuk menumbuhkan biakan bakteri yang akan diinokulasikan kedalam media pengujian selanjutnya. Dalam pembuatan kultur bakteri ini, sebanyak 1 ose isolat bakteri *Arthrobacter aurescens* dari media indukan diinokulasikan kedalam media cair *Nutrient Broth* (NB) steril dalam tabung reaksi dengan volume 5 ml dilakukan secara aseptik agar tidak terkontaminasi dengan mikroorganisme lain. Selanjutnya, kultur bakteri pada media cair tersebut diinkubasi selama 2x24 jam dengan suhu 30°C dan kecepatan putar 100 rpm menggunakan *waterbath shaker*. Pertumbuhan bakteri ditandai dengan adanya keruhan pada media NB. Hasil dari tahap pembuatan kultur ini kemudian diukur kekeruhannya dengan melihat nilai absorbansi kekeruhan menggunakan spektrofotometer yang ditampilkan pada tabel data berikut ini,

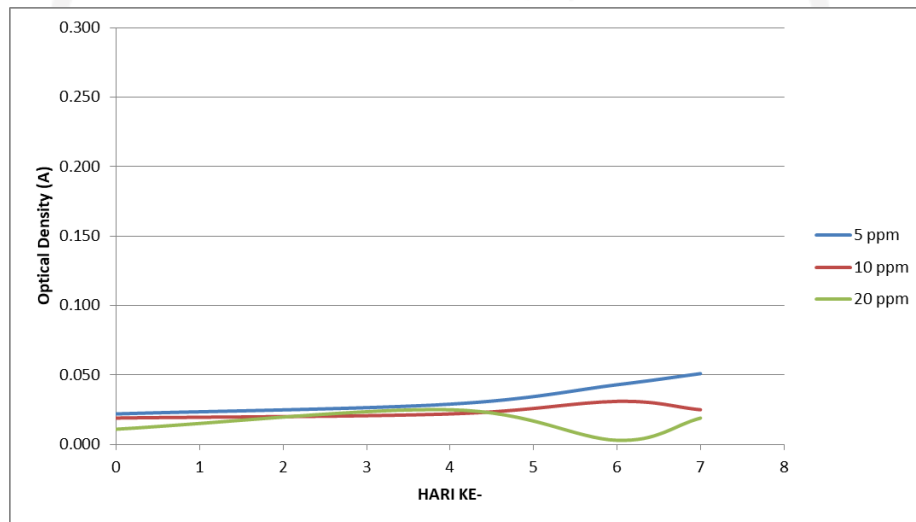
Tabel 4. 1 Nilai Absorbansi Kultur di NB

Pembuatan Kultur	
No. Erlenmeyer	Aklimatisasi
1	0,839 A
2	0,491 A
3	0,418 A

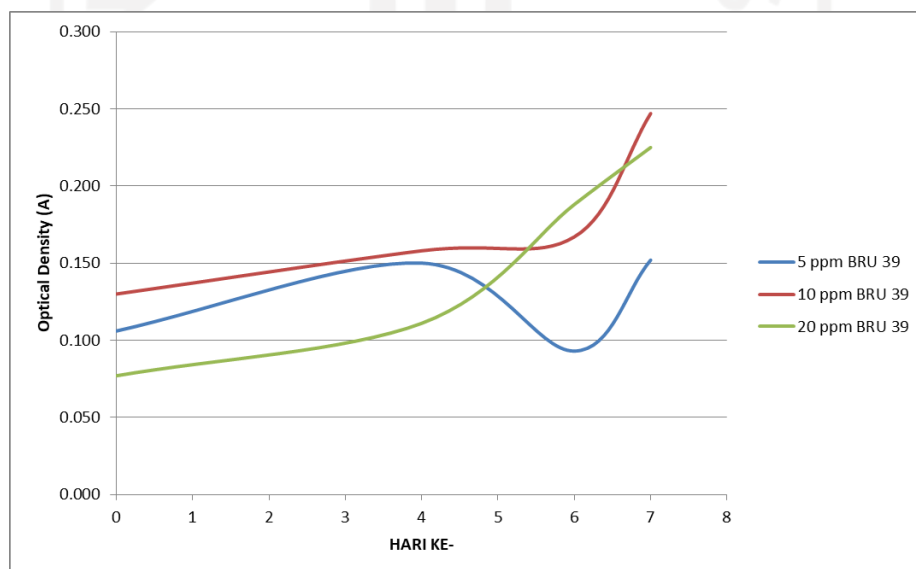
Analisis jumlah bakteri pada masing-masing kultur dilakukan dengan menggunakan metode CFU yang dihitung berdasarkan nilai dari *optical density* yang dapat diserap oleh sel-sel bakteri dengan panjang gelombang 600 nm, kultur bakteri pada media NB yang memiliki nilai absorbansi 0,4 – 0,5 A atau senilai dengan 10⁹ CFU/ml yang selanjutnya akan digunakan sebagai inokulum pada tahap aklimatisasi (Akhmad *et al.*, 2011).

4.2 Uji Aklimatisasi Bakteri

Aklimatisasi bakteri dilakukan sebagai tahap adaptasi sampel bakteri uji dengan kondisi lingkungan pengujiannya. Kultur bakteri *Arthrobacter aurescens* ditambahkan pada tiap kultur yang berisi larutan kromium dan media minimum dengan volume inokulum sebanyak 10% dari volume media. Pada tahap ini dilakukan pengukuran parameter yaitu meliputi pH, suhu dan OD dengan variasi kultur uji yang telah ditentukan yaitu 5 ppm, 10 ppm, dan 20 ppm. Hasil pengukuran masing-masing parameter uji untuk setiap kultur dapat dilihat pada Gambar 4.1 hingga 4.3.



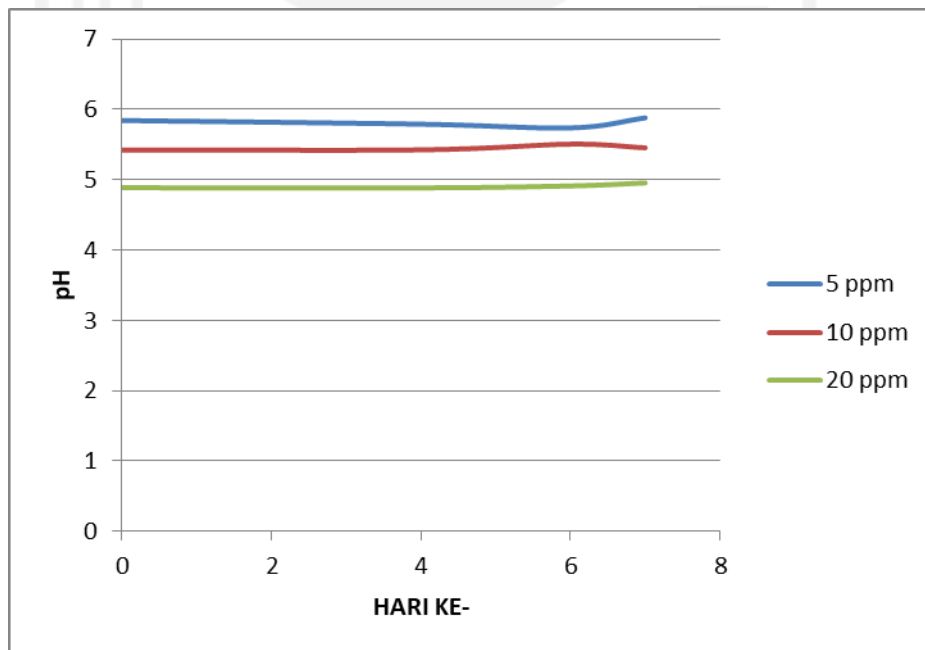
(1)



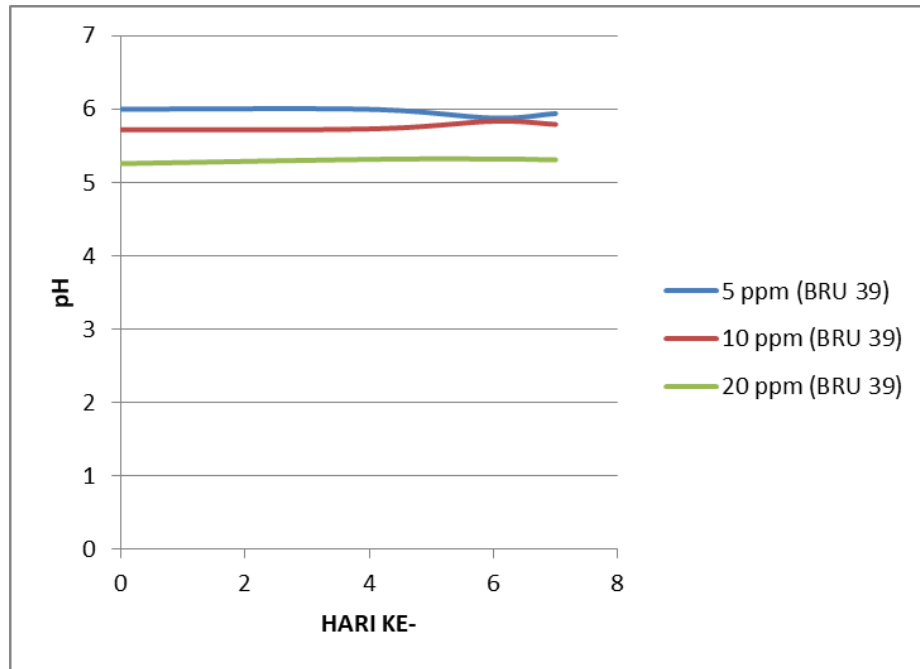
(2)

Gambar 4. 1 Kurva Laju Pertumbuhan Bakteri Uji Aklimatisasi (1) Media Minimum dan Kromium (2) Kultur Bakteri BRU 39

Berdasarkan gambar diatas fase lag pada bakteri terjadi pada hari ke-0 kemudian dari hari ke-0 hingga hari ke-5 dari ketiga konsentrasi mengalami fase eksponensial dimana bakteri tumbuh dengan signifikan ditandai dengan adanya kenaikan nilai absorbansi, berdasarkan Imron., *et al* (2016) pada fase ini bakteri memiliki kemampuan membelah diri secara ganda dalam keadaan yang stabil. Fase stationer bakteri pada konsentrasi 5 ppm terjadi pada hari ke-6 hingga akhir waktu pengujian, terjadi kenaikan nilai absorbansi kembali pada hari ke-7 hal ini dimungkinkan adanya pembacaan absorbansi dari penggabungan antara bakteri yang hidup dan penambahan bakteri yang mati. Sedangkan pada konsentrasi 10 ppm dan 20 ppm masih mengalami kenaikan pertumbuhan bakteri atau masih berada difase eksponensial pada hari ke-7. Fase stationer ditandai dengan kenaikan nilai absorbansi yang relatif kecil. Metode pengukuran bakteri menggunakan OD merupakan metode yang belum dapat membedakan antara bakteri yang hidup ataupun mati pada pengujian sehingga nilai OD cenderung akan terus naik. Sehingga pada pengujian ini dilakukan juga pengukuran terhadap pH dan suhu karena kedua parameter tersebut juga mempengaruhi laju pertumbuhan bakteri pada reduksi konsentrasi kromium.



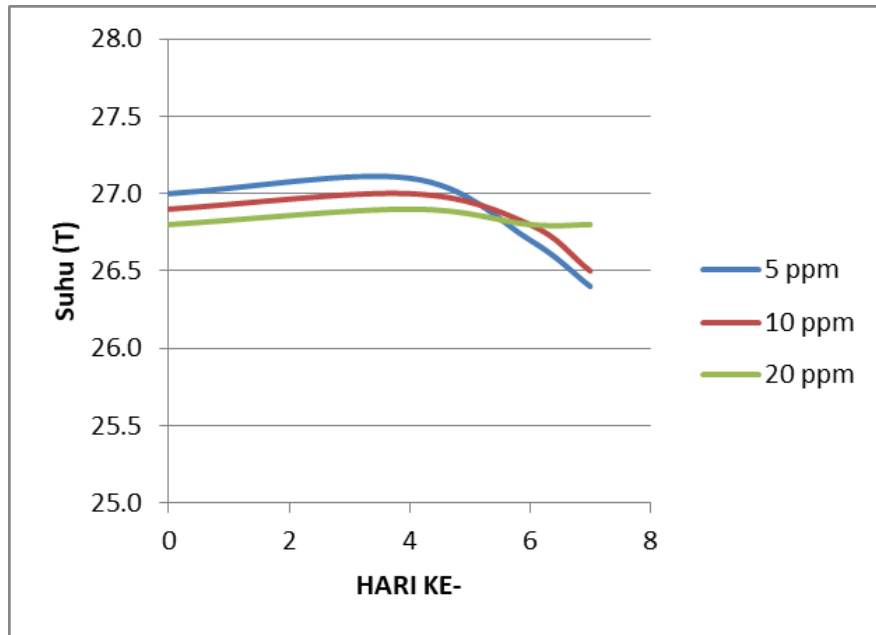
1)



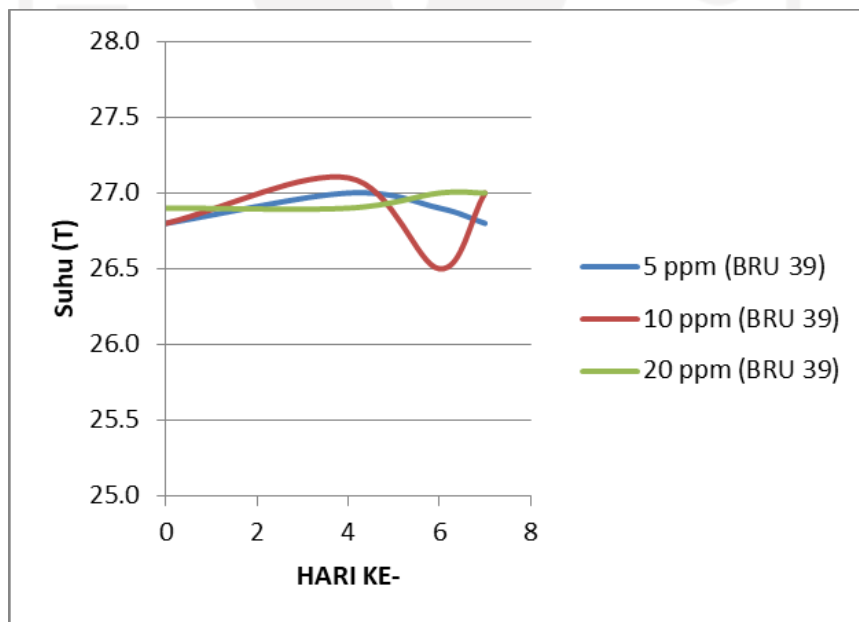
(2)

Gambar 4. 2 Kurva pH Laju Pertumbuhan Bakteri Uji Aklimatisasi (1) Media Minimum dan Kromium (2) Kultur Bakteri BRU 39

Faktor pendukung pertumbuhan bakteri salah satunya yaitu pH. Berdasarkan grafik diketahui pH terukur untuk bakteri *Arthrobacter aurescens* pada konsentrasi 5 ppm yaitu 5,877 hingga 5,999 lalu pada konsentrasi 10 ppm berkisar 5,718 hingga 5,833 sedangkan pada konsentrasi 20 ppm yaitu 5,256 hingga 5,307. Pada pengukuran pH tersebut disetiap kondisi kultur tidak terlalu mengalami penurunan dan perubahan kenaikan yang signifikan dan relatif stabil dalam rentang yang sangat kecil. Adanya kenaikan pH pada tiap kultur uji dimungkinkan karena pertumbuhan bakteri yang sudah optimum dan mendekati kearah fase stationer. Berdasarkan Dey., *et al* (2018) pembentukan biofilm secara maksimum oleh bakteri *Arthrobacter sp.* ditemukan pada pH 7 dan menurut Zhao *et al.*, (2011) bakteri ini dapat hidup dengan pH berkisar 4,5 – 8,0. Sehingga pada uji aklimatisasi ini bakteri masih dapat tumbuh dengan toleransi pH dalam rentang tersebut.



(1)



(2)

Gambar 4. 3 Kurva Suhu Laju Pertumbuhan Bakteri Uji Aklimatisasi (1) Media Minimum dan Kromium (2) Kultur Bakteri BRU 39

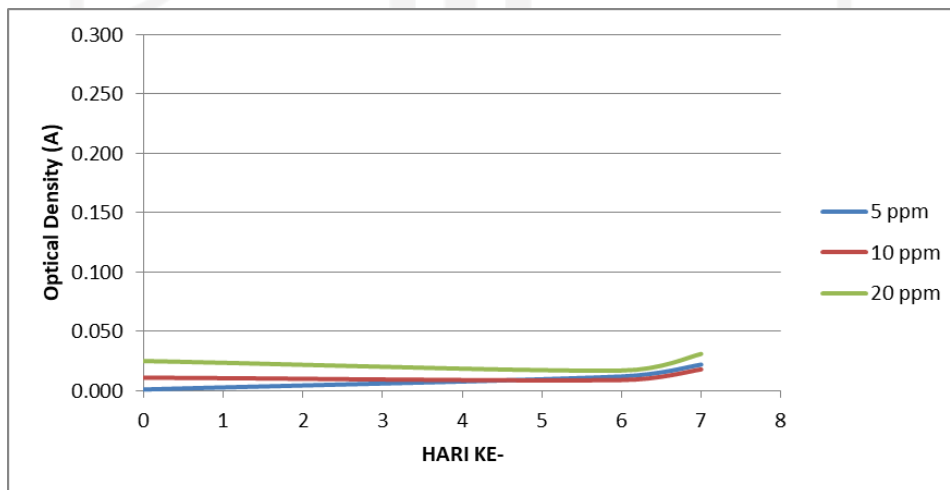
Parameter yang perlu diamati selama proses pertumbuhan bakteri berlangsung yaitu suhu. Pada grafik diatas digambarkan hubungan antara suhu dengan waktu berlangsungnya pengamatan yaitu selama 7 hari. Berdasarkan dari hasil pengukuran suhu pada masing-masing kultur uji, terjadi perubahan suhu yang fluktuatif namun masih pada rentang yang relatif kecil atau berada pada

suhu 26,5 °C hingga 27,1 °C. Hasil fluktuasi suhu yang ditampilkan dapat dikarenakan adanya aktifitas metabolisme dari mikroorganismenya. Menurut Dey *et al.*, (2014) temperatur optimum untuk mereduksi kromium yaitu pada suhu 25 °C sehingga rentang suhu yang ditampilkan dari pengamatan masih termasuk kedalam rentang kondisi suhu yang dibutuhkan oleh bakteri.

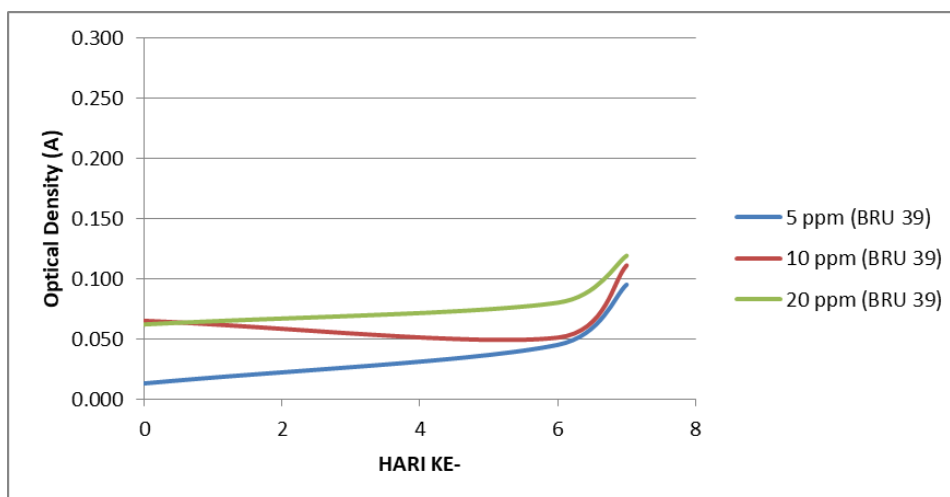
4.3 Tahap Pengujian Sesungguhnya

4.3.1 *Optical Density (OD)*

Pada tahap uji laju pertumbuhan bakteri dilakukan untuk mengetahui karakter pertumbuhannya dari bakteri *Arthrobacter aurescens* selama proses pengujian dan perbandingannya dengan kultur kontrol yang berisi kromium dengan media tanpa bakteri. Pertumbuhan bakteri dapat diketahui menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 600 nm. Hasil pengujian pada tahap aklimatisasi sebelumnya, selanjutnya digunakan sebagai inokulum untuk tahap pengujian sesungguhnya ini. Yaitu dengan mengambil sebanyak 5 ml atau 10% dari total volume media. Penambahan inokulum ke kultur baru disesuaikan konsentrasinya dengan yang akan ditambahkan pada masing-masing kultur.



(1)



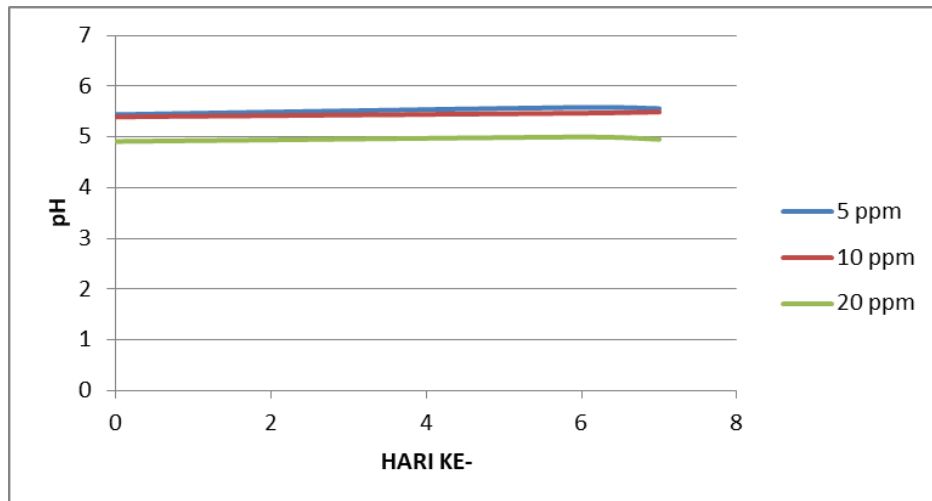
(2)

Gambar 4. 4 Kurva Laju Pertumbuhan Bakteri Uji Sesungguhnya (1) Media Minimum dan Kromium (2) Kultur Bakteri BRU 39

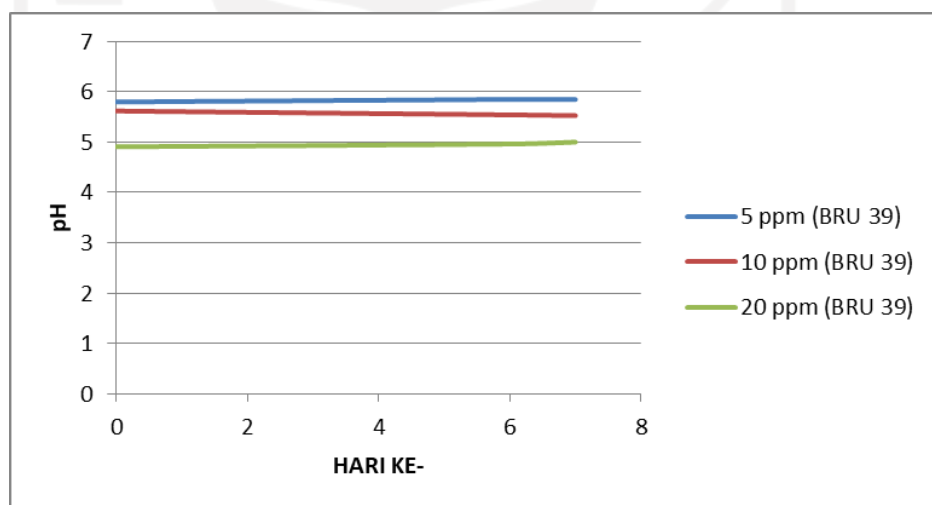
Berdasarkan Gambar 4.4 Diketahui bahwa pertumbuhan bakteri pada hari ke-0 hingga hari ke-2 pengujian dari ketiga kultur bakteri BRU 39 yaitu berada pada fase lag dengan hampir disemua konsentrasi hanya mengalami kenaikan yang relatif kecil. Pada tahap fase lag ini bakteri masih beradaptasi dengan lingkungan media tumbuh barunya dan belum mengalami perkembangan sel. Tahap adaptasi ini yang nantinya akan menentukan apakah bakteri dapat mengalami kematian karena tidak memiliki kemampuan dalam beradaptasi atau jika berada pada kondisi yang tidak melewati ambang batas kondisinya lingkungan hidupnya maka bakteri secara perlahan akan cenderung mengalami kenaikan pertumbuhan (Nahadi, 2005). Selanjutnya pada hari ke-2 hingga hari terakhir pengujian (hari ke-7) pada kultur dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, dan 20 ppm BRU 39 mengalami kenaikan nilai *optical density* yang mulai spesifik atau bakteri berada fase eksponensialnya dan terus mengalami kenaikan nilai absorbansi atau dapat diartikan masih pada fase eksponensialnya dan belum terjadi fase stationer. Adanya peningkatan pertumbuhan bakteri pada media kromium dapat disebabkan karena adanya aktivitas metabolisme dari mikroorganisme tersebut hal ini dapat dilihat dari adanya peningkatan pH dan juga perubahan suhu yang fluktuatif pada grafik dan pembahasan dibawah dimana pH dan suhu menjadi dua faktor penting yang sangat mempengaruhi dari laju pertumbuhan bakteri pada ditiap konsentrasi kulturnya.

4.3.2 Analisis Suhu dan pH

Faktor lain yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri diantaranya yaitu pH. Adapun nilai pH dan suhu yang terukur dapat dilihat pada Gambar 4.5 pH hingga Gambar 4.6



(1)

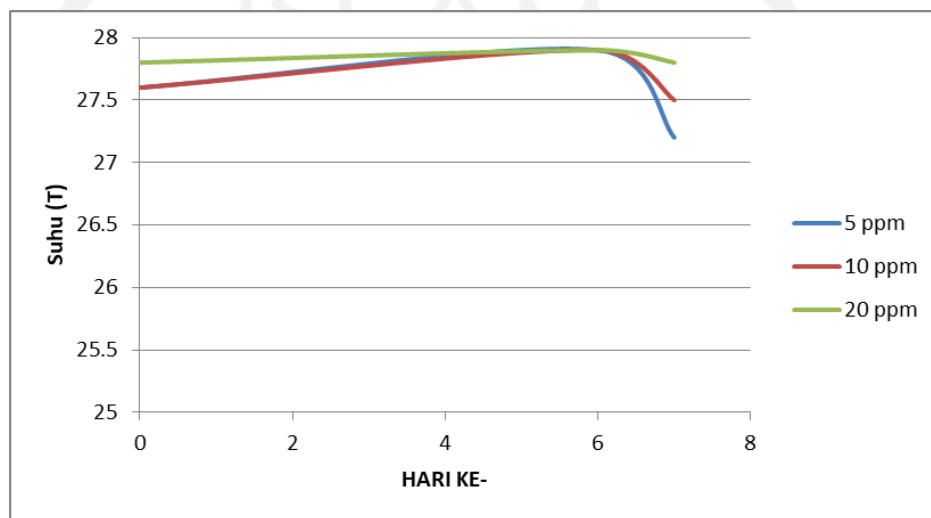


(2)

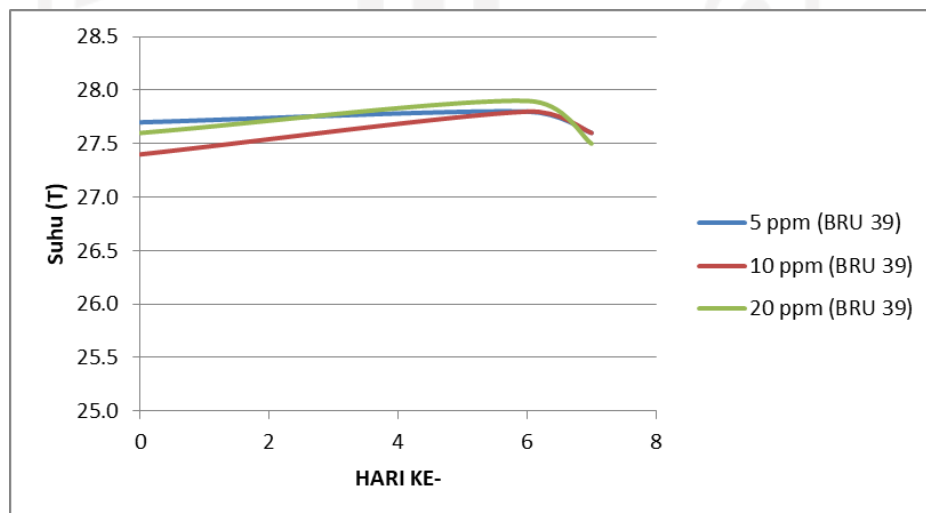
Gambar 4. 5 Kurva pH Laju Pertumbuhan Bakteri Uji Sesungguhnya (1) Media Minimum dan Kromium (2) Kultur Bakteri BRU 39

Berdasarkan dari Gambar 4.4 dan Gambar 4.5 masa pertumbuhan bakteri terjadi pada hari ke 0 hingga akhir pengujian masih mengalami peningkatan nilai OD untuk ketiga konsentrasi kultur tersebut. Hal ini dapat dilihat juga dari data pH yang cenderung mengalami kenaikan walaupun dalam rentang yang tidak terlalu

besar dari pengujian hari pertama hingga akhir pengamatan. Terjadi peningkatan pH ditiap waktu pengamatan parameter, hal ini dapat disebabkan pada permukaan sel bakteri mengalami peningkatan muatan negatif sehingga terjadi pengikatan dengan ion Cr (III) dari hasil reduksi Cr (VI) (Akhmad *et al.*, 2011). Menurut Imron *et al.*, (2016) larutan kromium memiliki pH yang cenderung basa, adanya aktivitas bakteri dan penumpukan sel mati dari bakteri pada larutan kromium yang mengandung bakteri dapat mempengaruhi adanya kenaikan pH.



(1)



(2)

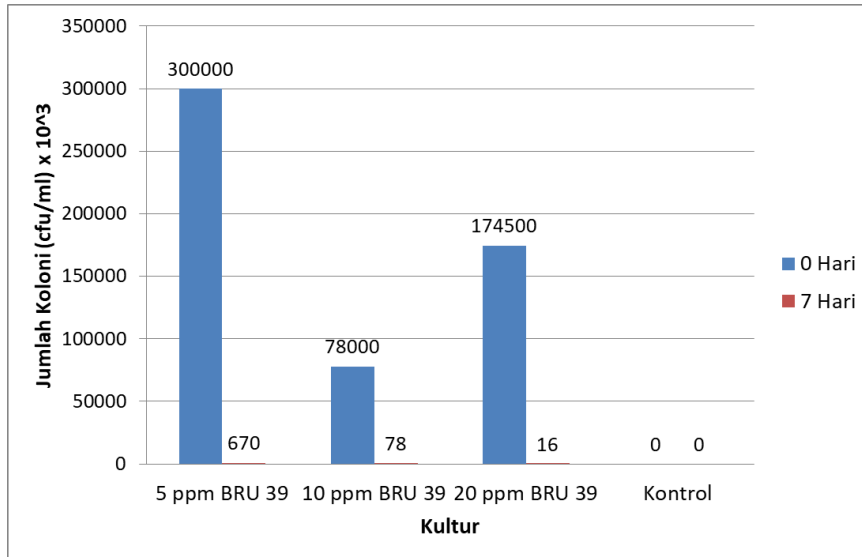
Gambar 4. 6 Kurva Suhu Laju Pertumbuhan Bakteri Uji Sesungguhnya (1) Media Minimum dan Kromium (2) Kultur Bakteri BRU 39

Selanjutnya ada suhu yang merupakan faktor penentu juga terhadap pertumbuhan bakteri pada proses penyisihan logam berat kromium. Pada grafik diatas suhu pada ketiga kultur yang berisi bakteri BRU 39 dari hari ke-0 hingga hari ke-6 mengalami kenaikan suhu atau jika dilihat pada nilai OD pada rentang waktu hari ke-0 hingga ke-6 merupakan fase eksponensial atau masa pertumbuhan bakteri secara aktif. Sedangkan pada hari ke-6 hingga hari ke-7 ketiga kultur ini masih mengalami kenaikan lagi berdasarkan dari nilai OD yang didapat. Adanya perubahan suhu yang fluktuatif pada pengujian sesungguhnya ini dapat disebabkan karena adanya aktivitas dari bakteri itu sendiri. Berdasarkan rujukan literatur suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri yaitu pada 25°C dimana kerja bakteri akan lebih optimal dalam menyisihkan logam berat karena berpengaruh pada proses kerja metabolisme yang baik. Tetapi untuk suhu yang ditampilkan dari hasil pengamatan uji masih masuk dalam kategori kondisi suhu yang dapat dihidupi oleh bakteri walaupun tidak dalam kondisi optimumnya bakteri untuk hidup dalam mereduksi logam berat.

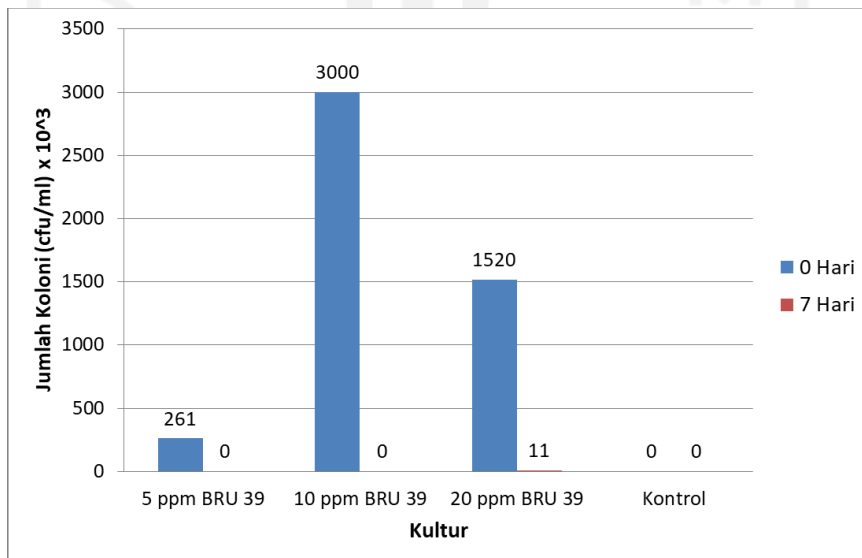
4.3.3 Metode Total Plate Count (TPC)

Pengamatan jumlah koloni bakteri yang hidup pada media kromium dilakukan sebanyak dua kali yaitu pada hari ke-0 dan hari ke-7. Pengamatan ini dilakukan untuk mengetahui jumlah bakteri yang tumbuh selama proses penyisihan logam berat kromium dengan menggunakan metode CFU (*Colony Formit Unit*) dan dilakukan pengenceran suspensi bertingkat yaitu pada pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} . Hasil pengamatan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada hari ke-0 dan hari ke-7 pengujian dapat dilihat pada Lampiran 2. Pada perhitungan koloni ini cawan yang terpilih merupakan cawan yang memiliki jumlah koloni yang masuk didalam rentang 30-300 koloni bakteri. Menurut Rusyda., (2014) perhitungan koloni yang kurang dari 30 atau disebut terlalu sedikit untuk dihitung (TSUD) maka jumlah koloni pada pengenceran terendahlah yang akan diambil. Lalu untuk koloni bakteri yang terhitung melebihi dari 300 atau disebut terlalu banyak untuk dihitung (TBUD) dari semua pengenceran maka jumlah koloni pada pengenceran yang tertinggalah yang akan diambil. Dilakukan perhitungan rerata pada pengulangan pengenceran bakteri dan selanjutnya perhitungan perbandingan pada pengenceran berurut untuk mengetahui hasil yang dapat diambil secara rerata yaitu

jika nilai perbandingan ≤ 2 dan jika nilai perbandingan menunjukkan >2 maka jumlah koloni pada pengenceran yang lebih kecil yang akan diambil. Adapun data hasil perhitungan jumlah koloni bakteri selama uji penyisihan logam kromium dapat dilihat pada Gambar 4.7 hingga 4.8 dibawah ini.



Gambar 4. 7 Perbandingan Hasil Jumlah Koloni Hari Ke-0 dan Hari Ke-7 Pada Tahap Aklimatisasi



Gambar 4. 8 Perbandingan Hasil Jumlah Koloni Hari Ke-0 dan Hari Ke-7 Pada Tahap Uji Sesungguhnya

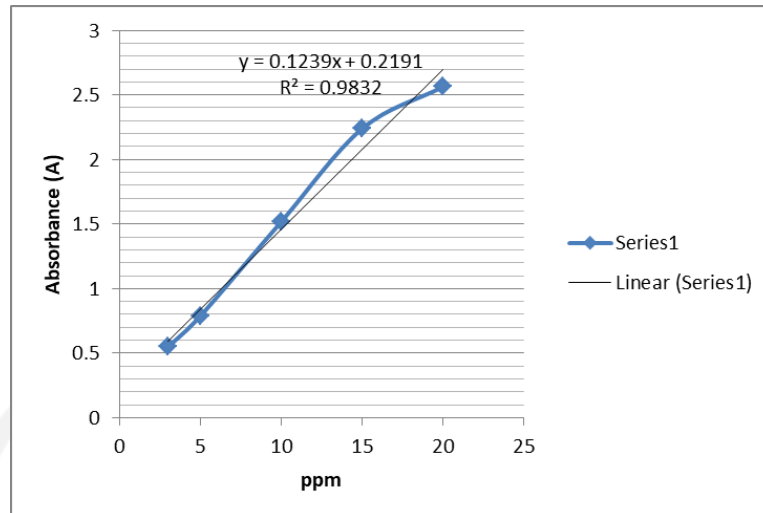
Berdasarkan Gambar 4.7 hingga Tabel 4.8 diatas diketahui bahwa pengamatan pada hari ke-0 aklimatisasi pengujian jumlah koloni bakteri terbanyak yaitu pada kultur 5 ppm BRU 39 dengan jumlah 300.000×10^3 cfu/ml, diikuti oleh kultur konsentrasi 20 ppm BRU 39 dengan nilai kerapatan sel 174500×10^3 cfu/ml, dan kerapatan sel pada kultur 10 ppm BRU 39 yaitu sebesar 78000×10^3 cfu/ml. Pada hari ke 7 aklimatisasi pertumbuhan bakteri pada konsenrasi 5 ppm dan 10 ppm berturut-turut yaitu 670×10^3 cfu/ml dan untuk konsentrasi 20 ppm koloni yang terbentuk yaitu sebanyak 16×10^3 . Sedangkan untuk pertumbuhan koloni bakteri pada pengujian sesungguhnya dari tabel diatas yaitu pada hari ke-0 dari kultur dengan konsentrasi 5 ppm jumlah koloni bakteri yang teramati yaitu sebesar 261×10^3 cfu/ml, lalu pada kultur 10 ppm sebesar 3000×10^3 cfu/ml, dan 1520×10^3 cfu/ml pada kultur 20 ppm.

Perbedaan jumlah banyaknya bakteri yang tumbuh ditiap kultur uji hal ini dikarenakan adanya fase pertumbuhan bakteri pada masing-masing konsentrasi larutan yang berbeda. Selain itu pH dan suhu juga merupakan faktor penting yang mempengaruhi laju pertumbuhan bakteri sesuai dengan data pH dan suhu diatas pada Gambar 4.5 dan Gambar 4.6 pH dan suhu ditiap reaktor juga berbeda namun masih masuk dalam rentang pH dan suhu tumbuhnya bakteri ini. Selajutnya pada hari ke-7 pengujian sesungguhnya, dilakukan pengamatan kembali untuk mengetahui seberapa banyak bakteri yang masih dapat bertahan pada kondisi logam berat. Setelah dilakukan perhitungan bakteri dengan *colony counter* pada hari pengujian ke-7 ini tidak ditemukan adanya bakteri yang tumbuh ataupun masuk kedalam kategori terlalu sedikit untuk dihitung (TSUD). Hal ini dimungkinkan karena bakteri telah memasuki fase stationer ataupun terjadinya fase kematian sehingga tidak ditemukannya koloni bakteri yang hidup pada media. Tetapi berdasarkan nilai OD pada hari ke-7 pengujian sesungguhnya ini bakteri yang tumbuh masih terbaca, namun pada uji TPC tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri pada media padat. Perbedaan tersebut dimungkinkan terjadi karena pembacaan OD merupakan metode tidak langsung yang belum dapat dibedakan antara bakteri yang hidup dan yang mati sehingga pada pengukur OD nilainya akan cenderung naik karena dilihat dari kekeruhan pada larutan uji tersebut (Imron *et al.*, 2016).

Penambahan volume inokulum yang sama pada masing-masing reaktor uji tidak mempengaruhi adanya persamaan pertumbuhan bakteri di tiap konsentrasi tetapi adanya perbedaan jumlah bakteri yang tumbuh ini dapat disebabkan oleh kemampuan bakteri dalam mereduksi logam berat dikonsentrasi yang berbeda. Pada pengujian sesungguhnya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 20 ppm memiliki pertumbuhan bakteri yang lebih banyak dibandingkan dengan dua konsentrasi lainnya. Berdasarkan rujukan Hatano *et al.*, (2017) bahwa semakin meningkatnya kromium yang tereduksi maka jumlah sel yang tumbuh juga akan meningkat. Hal ini terlihat dari nilai OD pada konsentrasi 20 ppm yang cenderung lebih tinggi dan hasil dari persen removal logam kromium yang terukur pada metode spektrofotometer.

4.3.4 Persen Removal Kromium

Penentuan konsentrasi untuk linieritas antara konsentrasi standar dengan pembacaan hasil absorbansi sehingga ditunjukkan melalui persamaan garis linear yaitu dengan persamaan $y = ax + b$ dengan y sebagai absorbansi larutan standar, a sebagai slope dan b sebagai intersep. Penentuan larutan standar sedikitnya memerlukan tiga variasi konsentrasi, dengan rentang yang disesuaikan dengan konsentrasi yang akan dibaca pada larutan sampel uji nantinya. Pada perhitungan kurva kalibrasi ini larutan standar yang disiapkan dengan lima variasi konsentrasi bertingkat yaitu dari konsentrasi 3 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, dan 20 ppm yang selanjutnya akan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis dengan menggunakan panjang gelombang 540 nm. Tahap pengukuran kandungan logam berat kromium terlarut dapat mengikuti panduan SNI 6989.53 : 2010 pada Lampiran 1.

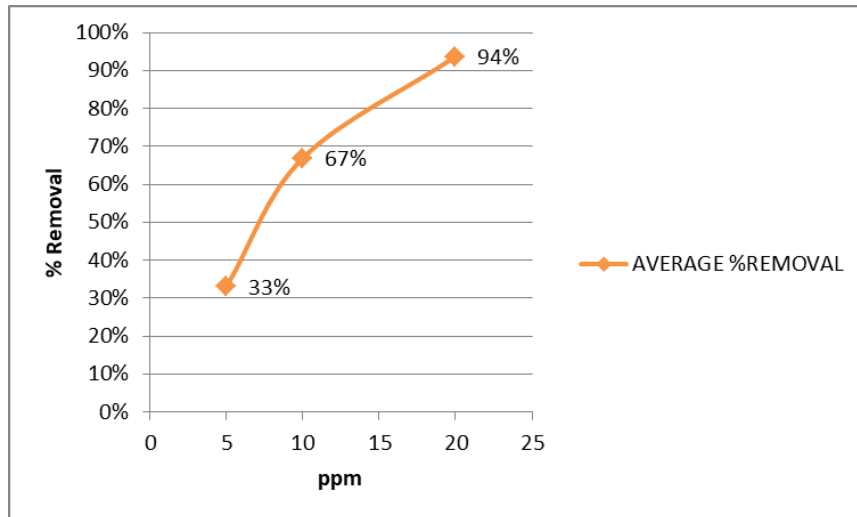


Gambar 4. 9 Kurva Kalibrasi Deret Standar Kromium Heksavalen

Analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis ini cenderung memiliki selektif dan memiliki tingkat sensitivitas dan membutuhkan waktu yang lama karena dibutuhkannya reagen untuk pengukuran logam berat ini (Rusyda, 2014). Pada kurva yang ditampilkan diatas menunjukkan bahwa metode ini memiliki korelasi sebesar 0,9832 dari nilai ideal 0,9999 untuk mendapatkan hasil yang presisi dengan sensitivitas yang tinggi dan dapat diandalkan. Peran difenilkarbazida sebagai salah satu bahan reagen yang ditambahkan kedalam sampel uji memiliki peran untuk dapat bereaksi dengan ion dari logam kromium pada kondisi asam (pH 2-2,5). Dimana reagen tersebut akan teroksidasi oleh logam kromium dan terbentuk difenilkarbazon (DPCO) sehingga terbentuknya senyawa kompleks kromium trivalent dengan DPCO yang memiliki warna ungu kemerahan hasil dari reduksi kromium heksavalen. Larutan sampel yang berwarna ungu kemerahan tadi yang nantinya akan menyerap sinar tampak yang dipancarkan oleh spektrofotometer UV-Vis dan dapat dilihat pada panjang gelombang dengan rentang 530-540 nm (Riyani, 2020).

Tabel 4. 2 Hasil Selisih Persen Removal Logam Kromium

KONSENTRASI (ppm)	AVERAGE % REMOVAL
5	33%
10	67%
20	94%

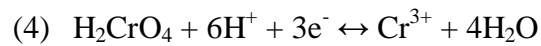
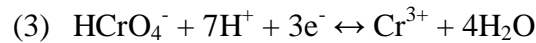
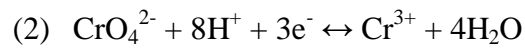
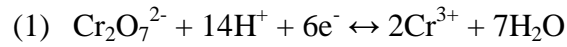


Gambar 4. 10 Kurva Persen Removal Konsentrasi Kromium Heksavalen

Analisis kandungan logam berat kromium yang dilakukan pada hari ke 0 (awal) dan hari ke 7 (hari terakhir pengujian) dengan menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis yaitu ditampilkan pada data tabel 4.4 diatas dengan besar persen removal pada tiap kulturnya yaitu sebesar 33% untuk kultur 5 ppm, 67% pada kultur 10 ppm, dan 94% pada kultur 20 ppm. Hasil pembacaan absorbansi dan perhitungan konsentrasi kromium dapat dilihat pada Lampiran 2. Kemudian dari data tabel tersebut dibuat grafik untuk mendapatkan analisis persen removal dari pembacaan spektrofotometer UV-Vis yang ditampilkan pada Gambar 4.8. Peran bakteri *Arthrobacter aureescens* ini dalam pengujian dapat mereduksi secara meningkat seiring bertambahnya konsentrasi yang dibuat ditiap kultur. Didapatkan persen reduksi logam kromium paling tinggi yaitu pada kultur 20 ppm dengan persentase removal sebesar 94%.

Menurut Akhmad *et al.*, (2011) adanya reaksi yang terjadi pada proses reduksi logam kromium heksavalen, adsorpsi ataupun protonasi dari gugus fungsional logam kromium pada dinding sel bakteri yaitu dipengaruhi oleh pH yang asam dan waktu kontak bakteri didalam kultur. Adanya peningkatan muatan negatif pada permukaan sel seiring meningkatnya pH pada larutan sehingga sel bakteri dapat mengikat ion kromium trivalent hasil dari reduksi kromium heksavalen. Pada pengontakan waktu yang lebih singkat atau waktu inkubasi sel masih banyak yang bermuatan positif sehingga membentuk ikatan elektrostatis dengan ion kromium heksavalen. Dan pada waktu inkubasi selama enam hari

bakteri sudah mampu mereduksi logam kromium heksavalen dengan perkiraan reaksi yang terjadi yaitu sebagai berikut :



Berdasarkan literatur Hatano., (2017) seiring bertambahnya pH pada larutan maka penghilangan kromium juga akan meningkat dan didapatkan persen reduksi paling tinggi sebanyak 90% yaitu pada pH 5. Hal ini berkesinambungan terhadap hasil dari pengamatan pada pengujian ini, yaitu pada kultur 20 ppm pH yang terukur yaitu sebesar 4,906 hingga 5.000 di tiap waktu pengamatannya yaitu di awal, ditengah dan diakhir (hari ke 0, 6 dan 7) pada uji sesungguhnya. Pada pH yang optimum inilah bakteri *Arthrobacter aureus* lebih dapat bekerja secara efektif dalam mereduksi logam kromium pada kultur 20 ppm ini jika dibandingkan dengan kultur pada konsentrasi lain. Pada kultur dengan konsentrasi 5 ppm dan 10 ppm memiliki nilai pH yang cenderung lebih tinggi yaitu berada pada rentang 5,526 hingga 5,847 dimana sudah melewati dari pH optimum yaitu 5 berdasarkan literatur walaupun dalam rentang yang tidak jauh. Maka dimungkinkan faktor perbedaan pada kondisi pH inilah yang mempengaruhi bakteri dalam mereduksi logam berat pada tiap variasi konsentrasi kultur.



“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis penelitian dapat disimpulkan bahwa,

1. nilai persentase penurunan kadar kromium dengan peran agen bioremediator bakteri *Arthrobacter aurescens* yaitu sebesar 33% (kultur 5 ppm), 67% (kultur 10 ppm) dan 94% (kultur 20 ppm).
2. Penurunan kadar kromium dengan jumlah pertumbuhan bakteri *Arthrobacter aurescens* berbanding lurus, yaitu dengan meningkatnya pertumbuhan bakteri yang digunakan sebagai absorben maka penurunan kadar kromium juga meningkat atau persen removal kromium yang semakin bertambah dengan dipengaruhi oleh variabel konsentrasi, pH dan pertumbuhan bakteri. Didapatkan pH optimum 5 dengan persen reduksi tertinggi sebesar 94% pada rentang suhu 26-27°C.
3. Bakteri gram positif yang resisten terhadap kromium (VI) yang diisolasi dari deposit vulkanik Merapi ini memiliki keunggulan dapat bertahan pada kondisi minimum nutrisi

5.2 Saran

Berdasarkan dari hasil analisis dari penelitian ini, maka penulis memberikan saran sebagai berikut :

1. Melakukan pengujian ini dengan kombinasi bakteri lain atau kehadiran logam yang dapat bekerjasama membentuk ikatan yang baik dengan bakteri *Arthrobacter sp.* dalam mereduksi logam berat kromium (VI).
2. Pengaturan atau kontrol terhadap pH pada kondisi optimum bakteri dapat dilakukan agar mendapatkan hasil penyisihan logam berat kromium (VI) yang lebih signifikan.
3. Dilakukannya sentrifuge pada kultur bakteri untuk menapatkan biakan bakteri murni yang akan digunakan ditahap pengujian.

4. Dilakukannya pengujian TPC pada awal, tengah dan akhir pengujian agar didapatkan grafik karakteristik masa pertumbuhan bakteri.
5. Pengukuran konsentrasi kromium dapat dilakukan menggunakan instrument *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS) sebagai pembanding pengukuran.
6. Pengujian lebih lanjut dapat diterapkan dalam pengukuran konsentrasi kromium pada limbah yang mengandung Cr (VI).
7. Pengujian dilakukan tepat waktu agar sampel tidak berubah dan penggunaan larutan sampel yang baru dibuat, karena dapat mempengaruhi karakter logam yang akan diuji.





“Halaman ini sengaja dikosongkan”

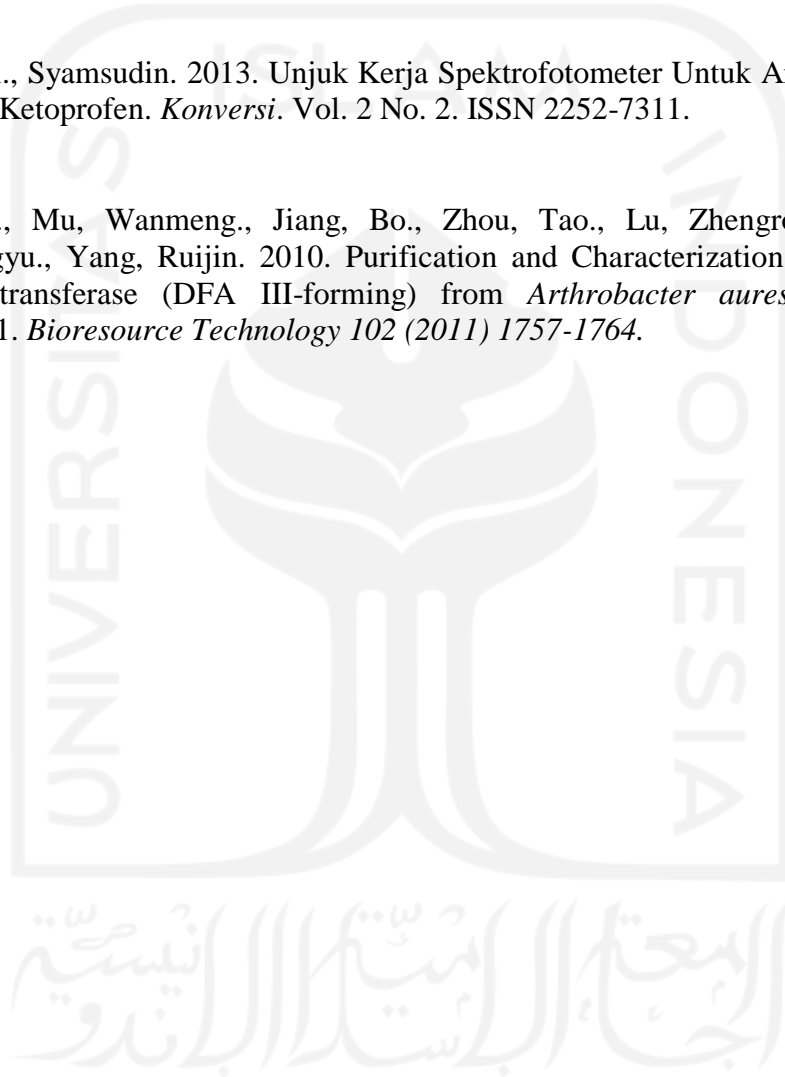
DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, Riza Zainuddin. 2018. Mikroremediasi Menghilangkan Polusi Logam Berat pada Lahan Bekas Tambang untuk Lahan Peternakan. *Wartazoa*. Vol. 28 No. 1 th. 2018 Hlm. 041-050.
- Akhmad, Fakhriza., Yusran, Fadly H., Mariana, Zuraida Titin., Badruzsaufari. 2011. Inokulasi Bakteri Pereduksi Kromium Heksavalen Sebagai Upaya Bioremediasi Lahan Pasca Tambang. *EnviroScienteeae*. 7 (2011) 12-20. ISSN 1978-8096. 2011.
- Andini, Ary. 2017. Analisa Kadar Kromium VI [Cr (VI)] Air di Kecamatan Tanggulangin, Sidoarjo. *Jurnal SainHealth*. Vol. 1 No.2 Edisi September 2017. p-ISSN 2548-8333, e-ISSN 2549-2586.
- Arsyadi, Ahmad ., Khusnuryani, Arifah. 2015. Isolasi Bakteri *Indigenous* Pereduksi Krom (VI) Dari Limbah Cair Laboratorium Biologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta. *Prosiding Semnas Biodiversitas*. Vol.5 No.2, ISSN: 2337-506X Maret 2016.
- Bafana, Amit., Khrisnamurthi, Kannan., Patil, Mahendra., Chakrabarti, Tapan. 2010. Heavy metal resistance in *Arthrobacter ramosus* strain G2 isolated from mercuric salt-contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials* 177 (2010) 481-486.
- Comi, G., Cantoni, C. 2011. Psychrotrophic Bacteria *Arthrobacter* spp.. *Elsevier Ltd All rights reserved*.
- Dey, Satarupa., Paul, A.K. 2018. Influence of Metal Ions on Biofilm Formation by *Arthrobacter* sp. SUK 1205 and Evaluation of Their Cr (VI) Removal Efficacy. *International Biodeterioration & Biodegradation*.132 (2018) 122-131.
- Dey, Satarupa., Pandit, Baishali., Paul, A.K. 2014. Reduction of Hexavalent Chromium by Viable Cells of Chromium Resistant Bacteria Isolated from Chromite Mining Environment. *Journal of Mining* Vol. 2014, Article ID 941341, 8 pages.

- Gelagutashvili, E., Ginturi, E., Pataraiia D., Gurielize, M. 2011. Biosorption of Cr (VI) and Cr (III) Arthrobacter species. *Journal of Microbiology*.
- Hatano, Tomonobu., Tsuruta, Takehiko. 2017. Removal and Recovery of Chromium (III) from Aqueous Chromium (III) Using *Arthrobacter nicotianae* Cells. *Advances in Microbiology*. 2017, 7487-497. ISSN online 2165-3410, ISSN print 2165-3402.
- Hernandez, Marcela., Calabi, Marcela., Conrad, Ralf., Dumont, Marc G. 2020. Analysis of The Microbial Communities In Soils of Different Ages Following Volcanic Eruptions. *Pedhosphere* 30(1): 126-134, 2020. ISSN 1002-0160/CN 32-1315/P.
- Imron, Muhammad Fauzul., Purwanti, Ipung Fitri. 2016. Uji Kemampuan Bakteri *Azotobacter S8* dan *Bacillus subtilis* untuk Menyisihkan *Trivalent Chromium* (Cr^{3+}) pada Limbah Cair. *Jurnal Teknik ITS*. Vol. 5, No.1, (2016). ISSN: 2337-3539 (2301-9271 Print).
- Khoir, Muhammad Isnu A. 2018. Adsorpsi Logam Kromium (Cr) pada Limbah Cair Industri Penyamakan Kulit Menggunakan Biomassa Mikroalga *Chlorella* sp. *Skripsi Teknik Lingkungan, Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang*.
- Lathifah, Annisa N., Guo, Yong., Sakagami, Nobuo., Suda, Wataru., Higuchi, Masanobu., Nishizawa, Tomoyasu., Prijambada, Irfan. D., Ohta, Hiroyuki. Comparative Characterization of Bacterial Communities in Moss-Covered and Unvegetated Volcanic Deposits of Mount Merapi, Indonesia. *Microbes Environ*. Vol. 00, No. 0, 000-000, 2019.
- Lizayana., Mudatsir., Iswadi. 2016. Densitas Bakteri Pada Limbah Cair Pasar Tradisional. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Biologi*. Volume 1 pp. 95-106.
- Lubis, Syafrina Sari. 2019. Bioremediasi Logam Berat Oleh Fungi Laut. *AMINA Vol. 1* (2).
- Nahadi., Hernani., Khoirunnisa, Fitri. 2005. Biodegradasi Sifat Toksik Logam Berat Krom Dalam Limbah Cair Industri. *Jurnal Pengajaran MIPA*. Vol 6 No 2.

- Menteri Lingkungan Hidup Republik Indonesia. 2014. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 2014 Tentang Baku Mutu Air Limbah*. Jakarta, Indonesia.
- Patra, Ramesh C., Malik, Seidu., Beer, Michael., Megharaj, Mallavarapu., Naidu, Ravi. 2010. Molecular Characterization of Chromium (VI) Reducing Potential in Gram Positive Bacteria Isolated from Contaminated Sites. *Soil Biology & Biochemistry*. 42 (2010) 1857-1863.
- Rahayu, Nalurika Muji. 2017. Uji Kemampuan Bakteri *Azotobacter* Dalam Proses Penyisihan Logam Kromium Pada Tanah Tercemar Kromium. *Undergraduate thesis, Institut Teknologi Sepuluh Nopember*.
- Rcheulishvili,Olia., Tsverava, L., Rcheulishvili, A. Gurielidze, M., Solomonina, R., Metreveli, N., Jojua, N., Holman, H-Y. 2018. Heavy Metal Specific Proteomic Responses of Highly Resistant *Arthrobacter globiformis 151B*. *Journal Annals of Agrarian Science*. Vol. 17 pp. 218-229.
- Riyani, Maya Rizma Elva. 2020. Verifikasi Metode Uji Kromium Heksavalen Pada Cat Tembok Secara Spektrofometri UV-Visibel di Laboratorium Balai Besar Kimia dan Kemasan. *Laporan Tugas Akhir Program Studi Diploma III Analisa Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Yogyakarta*.
- Roy, Pratiti., Kumar, Ashok. 2020. *Arthrobacter. Beneficial Microbes in Agro-Ecology*.
- Rusyda, Jayanti. 2014. Uji Kemampuan Bakteri *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis*. Untuk Meremoval Logam Berat Kromium (III). *Undergraduate thesis, Institut Teknologi Sepuluh Nopember*.
- Sari, Novita. 2015. Studi Gangguan Mg (II) Dalam Analisa Besi (II) Dengan Pengompleks O-Fenantrolin Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *Skripsi Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya*.
- Setia, Maria R. 2002. Pengolahan Limbah Logam Berat Laboratorium Dasar Proses Kimia. *Skripsi Teknik Kimia. Jurusan Gas dan Petrokimia. FT UI*.

- Silva, Bruna., Figueiredo, Hugo., Quintelas, Cristina., Neves, Isabel C., Tavares, Teresa. 2012. Improved Biosorption for Cr (VI) Reduction and Removal by *Arthrobacter viscosus* Using Zeolite. *International Biodeterioration & Biodegradation* 74 (2012) 116-123.
- Sumarni. 2009. Uji Krom Heksavalen (Cr(VI)) Secara Ekstraksi dan Penentuannya Dengan Spektrofotometri Serapan Atom. *Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Departemen Kimia Universitas Indonesia*.
- Warono, Dwi., Syamsudin. 2013. Unjuk Kerja Spektrofotometer Untuk Analisa Zat Aktif Ketoprofen. *Konversi*. Vol. 2 No. 2. ISSN 2252-7311.
- Zhao, Meng., Mu, Wanmeng., Jiang, Bo., Zhou, Tao., Lu, Zhengrong., Jin, Zhengyu., Yang, Ruijin. 2010. Purification and Characterization of inulin fructotransferase (DFA III-forming) from *Arthrobacter aurescens* SK 8.0001. *Bioresource Technology* 102 (2011) 1757-1764.





“Halaman ini sengaja dikosongkan”

LAMPIRAN

Lampiran 1 SNI 6989.71 : 2009 tentang Air dan air limbah- Bagian 71 : Cara uji krom heksavalen (Cr-VI) dalam contoh uji secara spektrofotometri.



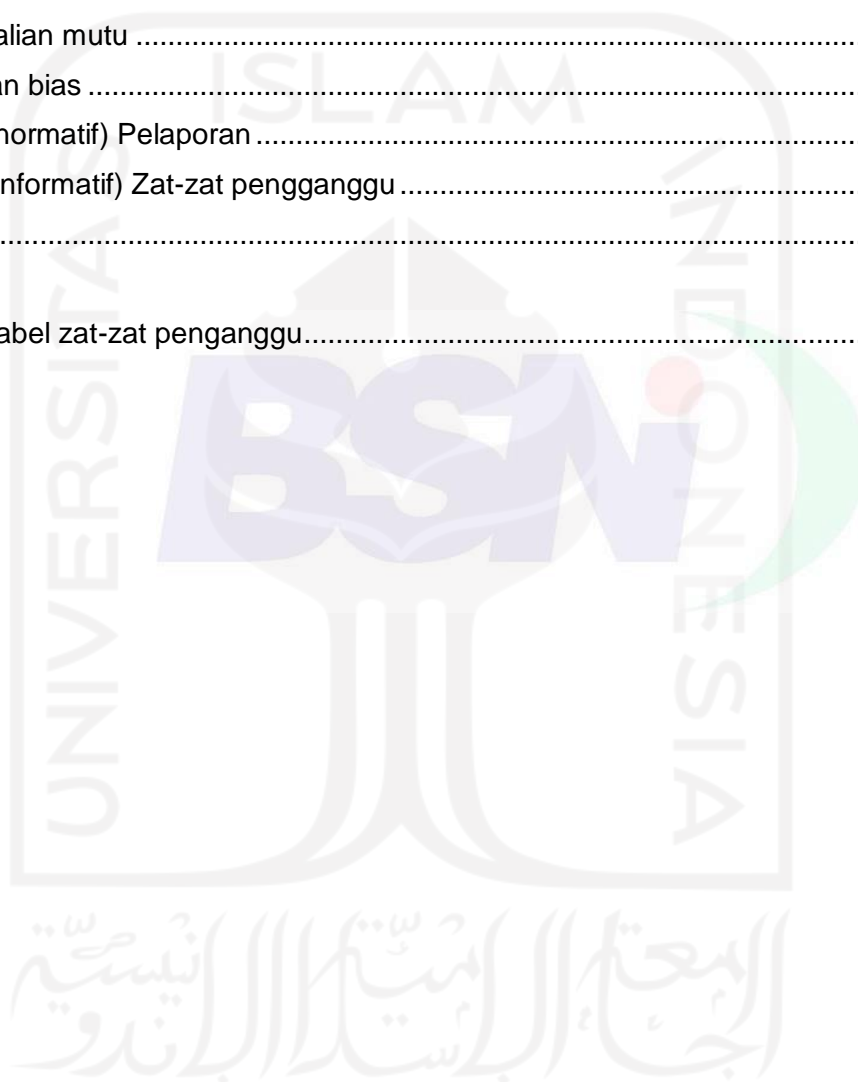
Air dan air limbah – Bagian 71: Cara uji krom heksavalen (Cr-VI) dalam contoh uji secara spektrofotometri

“Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, Copy standar ini dibuat untuk penayangan di website dan tidak untuk dikomersialkan”



Daftar isi

Daftar isi.....	i
Prakata.....	ii
1 Ruang lingkup	1
2 Istilah dan definisi	1
3 Cara uji.....	1
4 Pengendalian mutu	4
5 Presisi dan bias	5
Lampiran A (normatif) Pelaporan	6
Lampiran B (informatif) Zat-zat pengganggu	7
Bibliografi	8
Tabel B.1 - Tabel zat-zat pengganggu.....	7



Prakata

Dalam upaya mendukung pelaksanaan perundang-undangan dan peraturan pemerintah di bidang pengelolaan lingkungan hidup, maka disusunlah Standar Nasional Indonesia (SNI) untuk pengujian parameter-parameter kualitas air.

SNI ini merupakan hasil SNI baru dengan judul *Air dan air limbah – Bagian 71: Cara uji krom heksavalen (Cr-VI) dalam contoh uji secara spektrofotometri*. SNI ini menggunakan referensi dari metode standar internasional yaitu *Standard Methods for the Examination Of Water and Wastewater 21 th Edition, editor L.S.Clesceri, A.E.Greenberg, A.D.Eaton, APHA, AWWA and WPCF, Washington DC (2005)*. SNI ini telah melalui uji coba di laboratorium pengujian dalam rangka validasi dan verifikasi metode serta di konsensuskan oleh Subpanitia Teknis 13-03-S1, *Kualitas Air* dari Panitia Teknis 13-03, *Kualitas Lingkungan dan Manajemen Lingkungan* dengan para pihak terkait.

SNI ini telah disepakati dan disetujui dalam rapat konsensus dengan peserta rapat yang mewakili produsen, konsumen, ilmuwan, instansi teknis dan pemerintah terkait pada tanggal 11 September 2007 di Serpong. Selanjutnya SNI ini telah melalui tahap jajak pendapat pada tanggal 11 Juni 2008 samapai dengan 11 Agustus 2008. Kemudian SNI ini telah melalui tahap pemungutan suara pada tanggal 18 Maret 2009 sampai dengan 18 Juni 2009, dengan hasil akhir RASNI.

Dengan dirumuskannya SNI ini maka penerapan SNI 06-2515-1991 dinyatakan tidak berlaku lagi. Pemakai SNI agar dapat meneliti validasi SNI yang terkait dengan metode ini, sehingga dapat selalu menggunakan SNI edisi terakhir.

Air dan air limbah – Bagian 71: Cara uji krom heksavalen (Cr-VI) dalam contoh uji secara spektrofotometri

1 Ruang lingkup

Metode pengujian ini digunakan untuk menentukan logam krom heksavalen (Cr-VI) terlarut dalam air dan air limbah secara spektrofotometri dengan kisaran 0,1 mg/L sampai 1,0 mg/L pada panjang gelombang 530 nm atau 540 nm.

2 Istilah dan definisi

2.1

air bebas mineral

air yang diperoleh dengan cara penyulingan ataupun proses demineralisasi sehingga diperoleh air dengan konduktivitas lebih kecil dari 2 $\mu\text{S}/\text{cm}$

2.2

kurva kalibrasi

kurva yang menyatakan hubungan kadar larutan kerja dengan hasil pembacaan serapan yang merupakan garis lurus

2.3

larutan induk logam krom (Cr-VI)

larutan yang mempunyai kadar logam krom heksavalen 500 mg Cr/L yang digunakan untuk membuat larutan baku dengan kadar yang rendah

2.4

larutan baku logam krom (Cr-VI)

larutan induk logam krom heksavalen yang diencerkan dengan air bebas mineral sampai kadar tertentu

2.5

larutan kerja logam krom (Cr-VI)

larutan baku logam krom heksavalen yang diencerkan dan digunakan untuk membuat kurva kalibrasi

2.6

larutan blanko

air bebas mineral yang diasamkan atau perlakuannya sama dengan contoh uji

2.7

spike matrix

contoh uji yang diperkaya dengan larutan baku dengan kadar tertentu

3 Cara uji

3.1 Prinsip

Ion krom heksavalen bereaksi dengan difenilkarbazida dalam suasana asam membentuk senyawa kompleks berwarna merah-ungu yang menyerap cahaya tampak pada panjang

gelombang 530 nm atau 540 nm. Serapannya yang diukur pada panjang gelombang tersebut sebanding dengan kadar ion krom heksavalen.

3.2 Bahan

Bahan kimia yang digunakan terdiri atas:

- a) air bebas mineral;
- b) serbuk kalium dikromat ($K_2Cr_2O_7$);
- c) asam sulfat (H_2SO_4) 0,2N;
Larutkan 2,8 mL H_2SO_4 pekat p.a (36 N) ke dalam 500 mL air bebas mineral dalam gelas piala.
- d) asam orto fosfat (H_3PO_4) pekat p.a;
- e) larutan difenilkarbazida ($C_{13}H_{14}N_4O$, CAS No. 140-22-7).
Larutkan 250 mg difenilkarbazida (1,5-difenilkarbazida) ke dalam 50 mL aseton. Simpan dalam botol gelas amber.

CATATAN Larutan ini dapat disimpan hingga satu minggu, bila warna belum berubah.

- f) natrium hidroksida (NaOH) 1N.
Larutkan 40 g NaOH ke dalam 1 L air bebas mineral dalam gelas piala. Simpan dalam botol plastik.

3.3 Peralatan

Peralatan yang digunakan terdiri atas:

- a) Spektrofotometer sinar tampak;
- b) pH meter;
- c) labu ukur bertutup asah atau teflon 100,0 mL;
- d) gelas piala 100 mL dan 250 mL;
- e) gelas ukur 100 mL;
- f) pipet volumetrik 1,0 mL; 2,0 mL; 5,0 mL; 10,0 mL; 20,0 mL dan 50,0 mL;
- g) pipet ukur 10,0 mL;
- h) botol gelas 200 mL;
- i) seperangkat alat saring vakum;
- j) saringan membran dengan ukuran pori 0,45 μ m;
- k) timbangan analitik dengan ketelitian 0,0001 g;
- l) labu semprot;
- m) desikator; dan
- n) oven.

3.4 Pengawetan contoh uji

Bila contoh uji tidak dapat segera diuji, maka contoh uji disaring dan diawetkan sesuai petunjuk di bawah ini:

Wadah	:	Botol plastik (<i>polyethylene</i>)
Pengawet	:	Atur pH hingga 9 dengan penambahan NaOH
Lama penyimpanan	:	30 hari
Kondisi penyimpanan	:	4°C ± 2°C

CATATAN Contoh uji yang tidak diawetkan, lama penyimpanan maksimum 24 jam pada suhu 4°C ± 2°C.

3.5 Persiapan pengujian

3.5.1 Persiapan contoh uji krom heksavalen

Siapkan contoh uji yang telah disaring dengan saringan membran berpori 0,45 μm dan diawetkan. Contoh uji siap diukur.

3.5.2 Pembuatan larutan induk logam krom heksavalen 500 mg (Cr-VI)/L

- larutkan \pm 141,4 mg $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ kering oven dengan air bebas mineral dalam labu ukur 100,0 mL;
- hitung kadar krom heksavalen berdasarkan hasil penimbangan.

CATATAN Larutan ini dapat dibuat dari larutan standar 1000 mg (Cr-VI)/L siap pakai.

3.5.3 Pembuatan larutan baku logam krom heksavalen 50 mg (Cr-VI)/L

- pipet 10,0 mL larutan induk krom heksavalen 500 mg (Cr-VI)/L, masukkan ke dalam labu ukur 100,0 mL;
- tepatkan hingga tanda tera dengan air bebas mineral. 1,0 mL larutan ini mengandung 50,0 μg Cr-VI.

3.5.4 Pembuatan larutan baku logam krom heksavalen 5 mg (Cr-VI)/L

- pipet 10,0 mL larutan induk krom heksavalen 50 mg (Cr-VI)/L, masukkan ke dalam labu ukur 100,0 mL;
- tepatkan hingga tanda tera dengan air bebas mineral. 1,0 mL larutan ini mengandung 5,0 μg Cr-VI.

3.5.5 Pembuatan larutan kerja logam krom heksavalen (Cr-VI)

- buat deret larutan kerja dengan 1 (satu) blanko dan minimal 3 kadar yang berbeda secara proporsional yang berada pada rentang pengukuran;
- masukkan ke dalam gelas piala 100 mL, kemudian tambahkan 0,25 mL (5 tetes) H_3PO_4 ke dalam masing-masing larutan kerja;
- atur pH larutan kerja hingga pH $2,0 \pm 0,5$ dengan penambahan asam sulfat 0,2 N.
- pindahkan larutan kerja ke dalam labu ukur 100,0 mL, tepatkan hingga tanda tera dengan air bebas mineral;
- tambahkan 2,0 mL larutan difenilkarbazida, kocok dan diamkan 5 hingga 10 menit;
- larutan kerja siap diukur serapannya.

3.6 Pembuatan kurva kalibrasi dan pengukuran contoh uji

3.6.1 Pembuatan kurva kalibrasi

Kurva kalibrasi dibuat dengan tahapan sebagai berikut:

- operasikan alat dan optimasikan sesuai dengan petunjuk penggunaan alat untuk pengukuran krom heksavalen. Atur panjang gelombangnya pada 530 nm atau 540 nm;
- ukur serapan masing masing larutan kerja kemudian catat dan plotkan terhadap kadar logam krom heksavalen;
- buat kurva kalibrasi dari data pada butir 3.6.1.b) di atas, dan tentukan persamaan garis lurusnya;
- jika koefisien korelasi regresi linier (r) $< 0,995$, periksa kondisi alat dan ulangi langkah pada butir 3.6.1 a) sampai dengan c) hingga diperoleh nilai koefisien $r \geq 0,995$.

3.6.2 Pengukuran contoh uji

- pipet sejumlah volume (V) contoh uji dan masukkan ke dalam gelas piala 100 mL, tambahkan 0,25 mL (5 tetes) H_3PO_4 , atur hingga pH $2,0 \pm 0,5$ dengan penambahan asam sulfat 0,2 N;
- pindahkan larutan contoh uji tersebut ke dalam labu ukur 100,0 mL, tepatkan hingga tanda tera dengan air bebas mineral, kemudian tambahkan 2,0 mL larutan difenilkarbazida, kocok dan diamkan 5 hingga 10 menit;
- ukur serapannya pada panjang gelombang 530 nm atau 540 nm;
- catat hasil pengukuran

3.7 Perhitungan

Kadar logam krom heksavalen (Cr-VI) dihitung sebagai berikut:

$$Cr - VI \quad (mg/L) = C \times \frac{102}{V} \times fp \quad (1)$$

Keterangan:

- C adalah kadar krom heksavalen yang didapat hasil pengukuran, dinyatakan dalam miligram per liter (mg/L);
 102 adalah volume akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL);
 V adalah volume contoh uji, dinyatakan dalam mililiter (mL);
 fp adalah faktor pengenceran (bila diperlukan).

4 Pengendalian mutu

- Gunakan bahan kimia pro analisis (pa).
- Gunakan alat gelas bebas kontaminasi.
- Gunakan alat ukur yang terkalibrasi.
- Dikerjakan oleh analis yang kompeten.
- Lakukan analisis dalam jangka waktu yang tidak melampaui waktu penyimpanan maksimum.
- Perhitungan koefisien korelasi regresi linier (r) lebih besar atau sama dengan 0,995 dengan intersepsi lebih kecil atau sama dengan batas deteksi.
- Lakukan analisis blanko dengan frekuensi 5% - 10% per *batch* (satu seri pengukuran) atau minimal 1 kali untuk jumlah contoh uji kurang dari 10 sebagai kontrol kontaminasi.
- Lakukan analisis duplo dengan frekuensi 5% - 10% per satu seri pengukuran atau minimal 1 kali untuk jumlah contoh uji kurang dari 10 sebagai kontrol ketelitian analisis. Jika Perbedaan Persen Relatif (*Relative Percent Difference, RPD*) sama dengan 10% maka dilakukan pengukuran ketiga.

Persen RPD

$$\%RPD = \left| \frac{\text{hasil pengukuran} - \text{duplikat}}{\text{hasil pengukuran} + \text{duplikat}} \times \frac{\text{pengukuran}}{\text{pengukuran}/2} \right| \times 100\% \quad (2)$$

- Lakukan kontrol akurasi dengan *spike matrix* atau salah satu standar kerja dengan frekuensi 5% - 10% per satu seri pengukuran atau minimal 1 kali untuk jumlah contoh uji kurang dari 10. Kisaran persen temu balik untuk *spike matrix* adalah 85% - 115% dan untuk standar kerja 90% - 110%.

Persen temu balik (% *recovery*, %R)

$$\%R = \left(\frac{A - B}{C} \right) \times 100\% \quad (3)$$

Keterangan:

- A adalah kadar contoh uji yang diperkaya (*spike*) (mg/L);
- B adalah kadar contoh uji (mg/L);
- C adalah kadar standar yang ditambahkan (*target value*) (mg/L).

CATATAN 1 Volume *spike matrix* yang ditambahkan maksimal 5% dari volume contoh uji.

CATATAN 2 Hasil akhir kadar contoh uji yang diperkaya (*spike matrix*) berkisar 2 kali kadar contoh uji. Kadar contoh uji yang sudah di-*spike* berada pada kisaran rentang pengukuran.

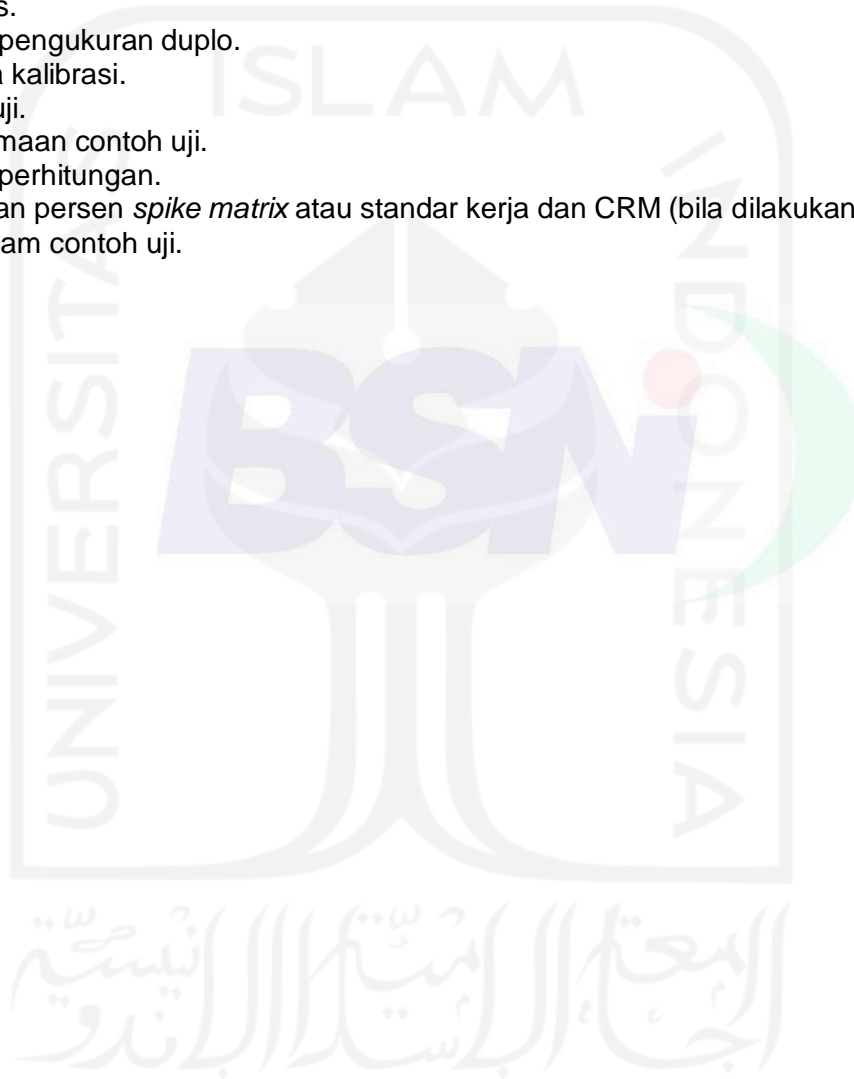


Lampiran A

(normatif)
Pelaporan

Catat pada buku kerja hal-hal sebagai berikut:

- 1) Parameter yang dianalisis.
- 2) Nama analisis.
- 3) Tanggal analisis.
- 4) Rekaman hasil pengukuran duplo.
- 5) Rekaman kurva kalibrasi.
- 6) Nomor contoh uji.
- 7) Tanggal penerimaan contoh uji.
- 8) Rekaman hasil perhitungan.
- 9) Hasil pengukuran persen *spike matrix* atau standar kerja dan CRM (bila dilakukan).
- 10) Kadar analit dalam contoh uji.

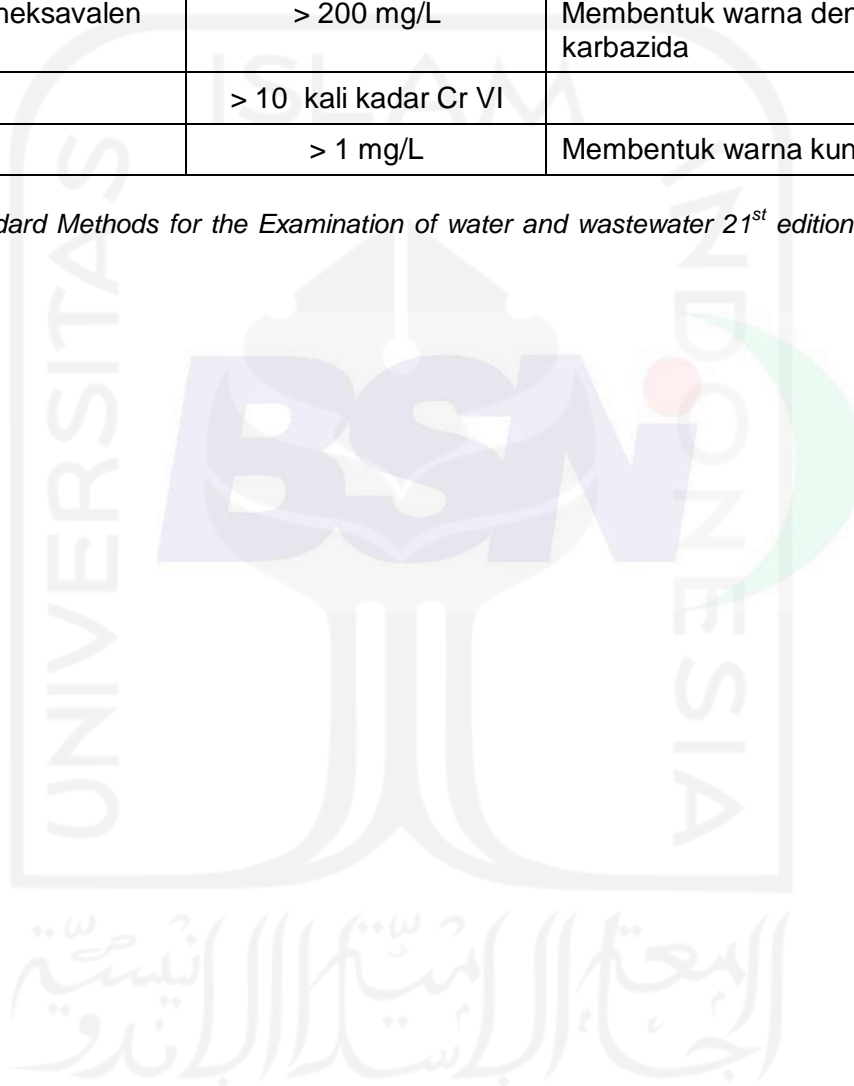


Lampiran B
(informatif)
Zat-zat pengganggu

Tabel B.1 - Tabel zat-zat pengganggu

Nama zat	Level kadar	Keterangan
Molibdenum heksavalen	> 200 mg/L	Membentuk warna dengan difenil karbazida
Vanadium	> 10 kali kadar Cr VI	
Besi	> 1 mg/L	Membentuk warna kuning

Sumber: *Standard Methods for the Examination of water and wastewater 21st edition, 2005 Method 3500-Cr B.*



Bibliografi

Standard Methods for the Examination of water and wastewater 21st edition, 2005 Method 3500-Cr B.

Komite Akreditasi Nasional, SR 02 *Persyaratan tambahan untuk akreditasi laboratorium pengujian kimia dan biologi*, 2004











BADAN STANDARDISASI NASIONAL - BSN
Gedung Manggala Wanabakti Blok IV Lt. 3-4
Jl. Jend. Gatot Subroto, Senayan Jakarta 10270
Telp: 021- 574 7043; Faks: 021- 5747045; e-mail : bsn@bsn.go.id

Lampiran 2 Data Pembacaan Pada Metode Spektrofotometer UV-Vis Untuk OD dan Absorbansi Kromium serta Data Untuk Pengukuran pH dan Suhu Pada Sampel Uji

A. Hasil pengamatan OD aklimatisasi dan uji sesungguhnya

OD (AKLIMATISASI)	Kontrol				OD (REAL TEST)	Kontrol			
	Waktu (Hari)	5 ppm	10 ppm	20 ppm		Waktu (Hari)	5 ppm	10 ppm	20 ppm
	0	0.022	0.019	0.011		0	0.001	0.011	0.025
	4	0.029	0.022	0.025		6	0.012	0.009	0.017
	6	0.043	0.031	0.003		7	0.022	0.018	0.031
7	0.051	0.025	0.019	BRU 39					
OD (AKLIMATISASI)	BRU 39				OD (REAL TEST)	BRU 39			
	Waktu (Hari)	5 ppm	10 ppm	20 ppm		Waktu (Hari)	5 ppm	10 ppm	20 ppm
	0	0.106	0.130	0.077		0	0.013	0.065	0.062
	4	0.150	0.158	0.111		6	0.045	0.051	0.080
	6	0.093	0.167	0.188		7	0.095	0.111	0.119
7	0.152	0.247	0.225						

B. Hasil pengamatan pH aklimatisasi dan uji sesungguhnya

pH (AKLIMATISASI)	KONTROL			
	Waktu (Hari)	5 ppm	10 ppm	20 ppm
	0	5.843	5.423	4.886
	4	5.790	5.425	4.885
	6	5.738	5.506	4.912
	7	5.880	5.455	4.955
	BRU 39			
	Waktu (Hari)	5 ppm (BRU 39)	10 ppm (BRU 39)	20 ppm (BRU 39)
	0	5.999	5.718	5.256
	4	5.995	5.728	5.313
6	5.877	5.833	5.319	
7	5.938	5.791	5.307	

pH (REAL TEST)	KONTROL			
	Waktu (Hari)	5 ppm	10 ppm	20 ppm
	0	5.441	5.396	4.912
	6	5.583	5.470	4.999
	7	5.559	5.492	4.955
	BRU 39			
	Waktu (Hari)	5 ppm (BRU 39)	10 ppm (BRU 39)	20 ppm (BRU 39)
	0	5.798	5.617	4.906
	6	5.847	5.541	4.962
	7	5.846	5.526	5.000

C. Hasil pengamatan suhu aklimatisasi dan uji sesungguhnya

Suhu (AKLIMATISASI)	KONTROL			
	Waktu (Hari)	5 ppm	10 ppm	20 ppm
	0	27.0	26.9	26.8
	4	27.1	27.0	26.9
	6	26.7	26.8	26.8
	7	26.4	26.5	26.8
	BRU 39			
	Waktu (Hari)	5 ppm (BRU 39)	10 ppm (BRU 39)	20 ppm (BRU 39)
	0	26.8	26.8	26.9
	4	27.0	27.1	26.9
6	26.9	26.5	27.0	
7	26.8	27.0	27.0	

Suhu (REAL TEST)	KONTROL			
	Waktu (Hari)	5 ppm	10 ppm	20 ppm
	0	27.6	27.6	27.8
	6	27.9	27.9	27.9
	7	27.2	27.5	27.8
	BRU 39			
	Waktu (Hari)	5 ppm (BRU 39)	10 ppm (BRU 39)	20 ppm (BRU 39)
	0	27.7	27.4	27.6
	6	27.8	27.8	27.9
	7	27.6	27.6	27.5

D. Hasil pengamatan TPC aklimatisasi dan uji sesungguhnya

	HARI KE 0				HARI KE 7			
	Reaktor	Pengenceran	Jumlah koloni	Kerapatan sel (cfu/ml)	Reaktor	Pengenceran	Jumlah koloni	Kerapatan sel (cfu/ml)
AKLIMATISASI	5 ppm BRU 39	10_5	-	30 x 10 ⁷	5 ppm BRU 39	10_3	213	67 x 10 ⁴
		10_6	5			10_4	67	
		10_7	30			10_5	43	
	10 ppm BRU 39	10_5	-	78 x 10 ⁶	10 ppm BRU 39	10_3	78	78 x 10 ³
		10_6	78			10_4	41	
		10_7	55			10_5	9	
	20 ppm BRU 39	10_5	-	174.5 x 10 ⁶	20 ppm BRU 39	10_3	16	16 x 10 ³
		10_6	149			10_4	1	
		10_7	20			10_5	1	
	5 ppm Kontrol	10_5	0	0	5 ppm Kontrol	10_3	0	0
		10_6	0			10_4	0	
		10_7	0			10_5	0	
	10 ppm Kontrol	10_5	0	0	10 ppm Kontrol	10_3	0	0
		10_6	0			10_4	0	
		10_7	0			10_5	0	
	20 ppm Kontrol	10_5	0	0	20 ppm Kontrol	10_3	0	0
		10_6	0			10_4	0	
		10_7	0			10_5	0	

REAL TEST	HARI KE 0				HARI KE 7				
	Reaktor	Pengenceran	Jumlah koloni	Kerapatan sel (cfu/ml)	Reaktor	Pengenceran	Jumlah koloni	Kerapatan sel (cfu/ml)	
5 ppm BRU 39	10_3	10_3	261	261 x 10 ³	5 ppm BRU 39	10_3	spreader	0	
		10_4	0			10_4	0		
		10_5	0			10_5	spreader		
	10 ppm BRU 39	10_3	10_3	9	30 x 10 ⁵	10 ppm BRU 39	10_3	0	-
			10_4	5			10_4	0	
			10_5	30			10_5	2	
	20 ppm BRU 39	10_3	10_3	226	152 x 10 ⁴	20 ppm BRU 39	10_3	11	11 x 10 ³
			10_4	152			10_4	2	
			10_5	212			10_5	0	
5 ppm Kontrol	10_3	10_3	0	0	5 ppm Kontrol	10_3	0	0	
		10_4	0			10_4	0		
		10_5	0			10_5	0		
10 ppm Kontrol	10_3	10_3	0	0	10 ppm Kontrol	10_3	0	0	
		10_4	0			10_4	0		
		10_5	0			10_5	0		
20 ppm Kontrol	10_3	10_3	0	0	20 ppm Kontrol	10_3	0	0	
		10_4	0			10_4	0		
		10_5	0			10_5	0		

Perbandingan Hasil Jumlah Koloni Hari Ke-0 dan Hari Ke-7 Pada Tahap Aklimatisasi

No	Nama Reaktor	Jumlah Koloni (cfu/ml)	
		0 Hari	7 Hari
1	5 ppm BRU 39	300000 x 10 ³	670 x 10 ³
2	10 ppm BRU 39	78000 x 10 ³	78 x 10 ³
3	20 ppm BRU 39	174500 x 10 ³	16 x 10 ³
4	Kontrol	0	0

Perbandingan Hasil Jumlah Koloni Hari Ke-0 dan Hari Ke-7 Pada Tahap Uji Sesungguhnya

No	Nama Reaktor	Jumlah Koloni (cfu/ml)	
		0 Hari	7 Hari
1	5 ppm BRU 39	261 x 10 ³	0
2	10 ppm BRU 39	3000 x 10 ³	0
3	20 ppm BRU 39	1520 x 10 ³	11 x 10 ³
4	Kontrol	0	0

E. Hasil pengamatan persen removal uji sesungguhnya

REAL TEST DAY 0-7						REAL TEST DAY 0-7					
KONSENTRASI RASI (ppm)	ABS AWAL (A)	KONSENTRASI AWAL (ppm)	ABS AKHIR (A)	KONSENTRASI AKHIR	% REMOVAL	KONSENTRASI RASI (ppm)	ABS AWAL (A)	KONSENTRASI AWAL (ppm)	ABS AKHIR (A)	KONSENTRASI AKHIR	% REMOVAL
5	0.253	0.274	0.241	0.177	35%	5	0.255	0.290	0.244	0.201	31%
10	0.235	0.128	0.226	0.056	57%	10	0.267	0.387	0.230	0.088	77%
20	0.319	0.806	0.226	0.056	93%	20	0.357	1.113	0.227	0.064	94%

Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian dan Hasil Pengamatan Jumlah Koloni Bakteri
Total Plate Count (TPC)



Inokulasi isolate bakteri pada media NB



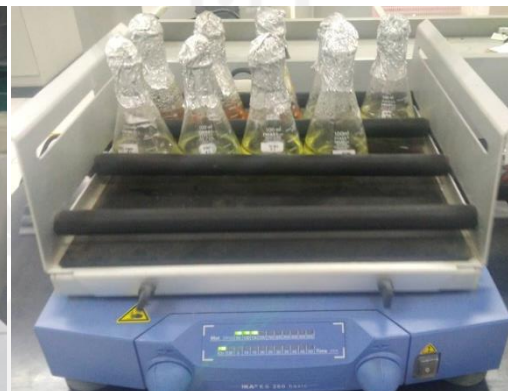
Peremajaan Isolat Bakteri



Larutan $K_2Cr_2O_7$ dan Media Minimum Spesifik



Inkubasi kultur bakteri pada media NB menggunakan *waterbath shaker*



Inkubasi kultur bakteri pada media kromium menggunakan *orbital shaker*



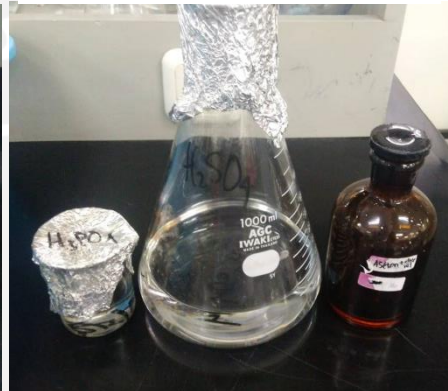
Pengukurann pH dan Suhu



Inkubasi bakteri pada media padat untuk metode TPC



Pengenceran kultur untuk TPC



Reagen untuk pengujian metode spektrofotometer UV-Vis



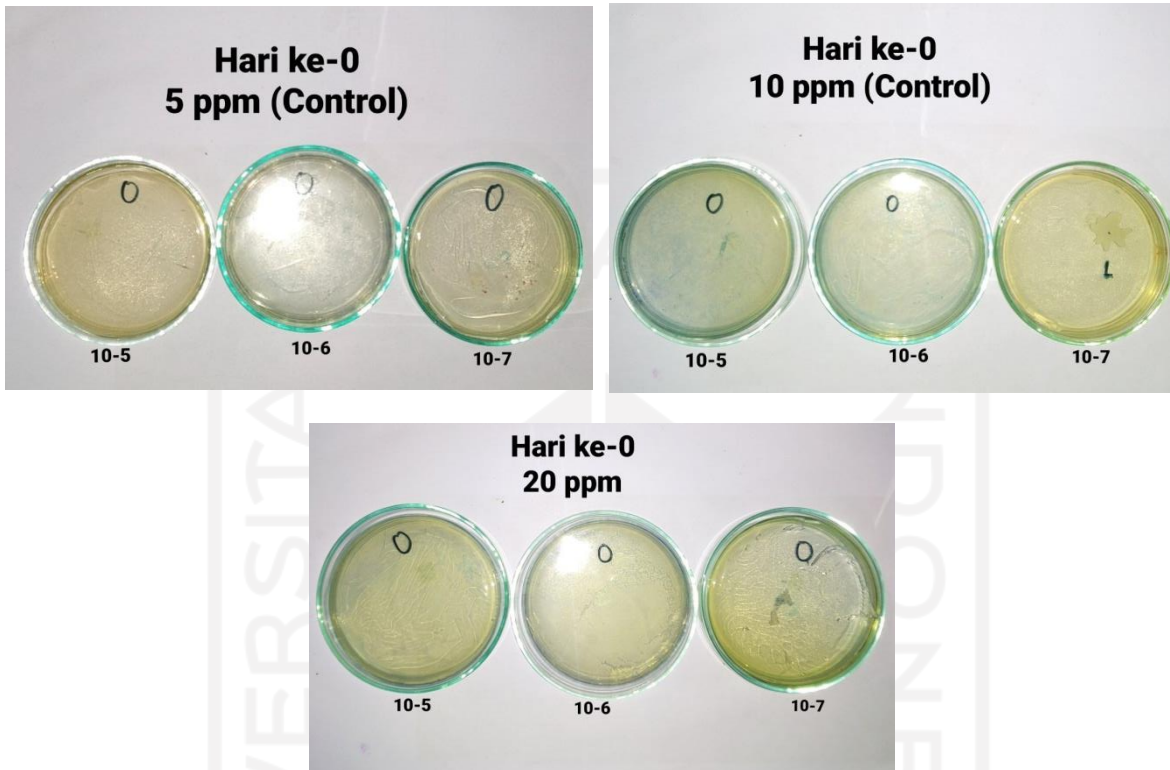
Larutan uji yang telah ditambahkan larutan difenilkarbazida dan aseton



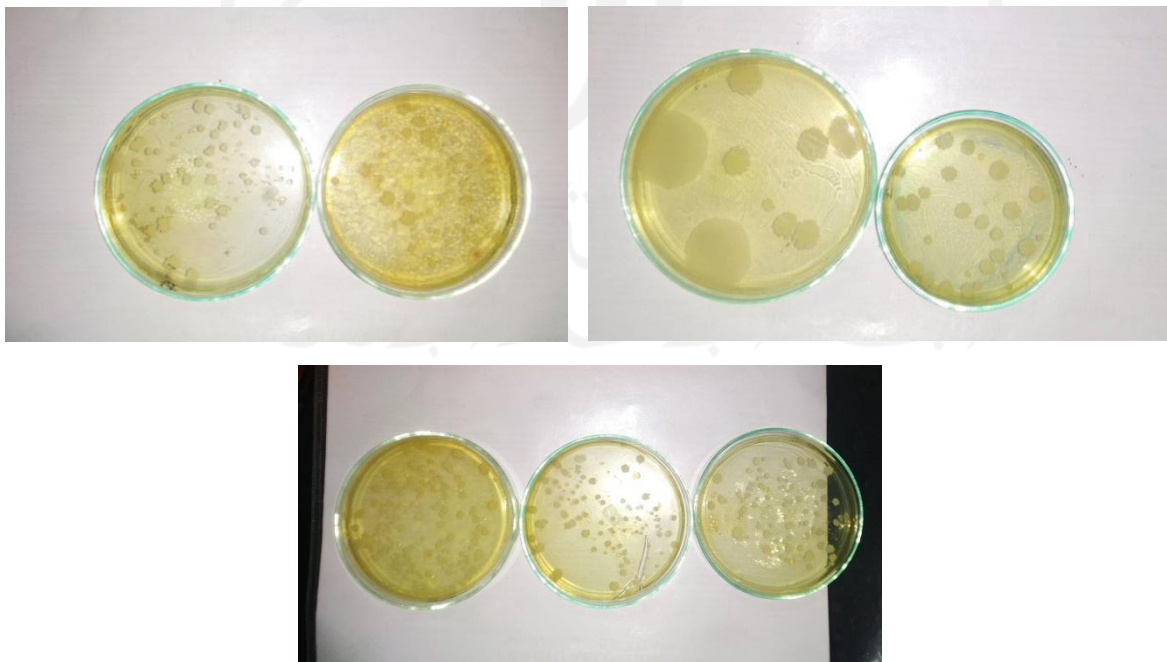
Larutan uji yang telah diberi reagen dan didiamkan beberapa menit

Hasil Pengamatan TPC

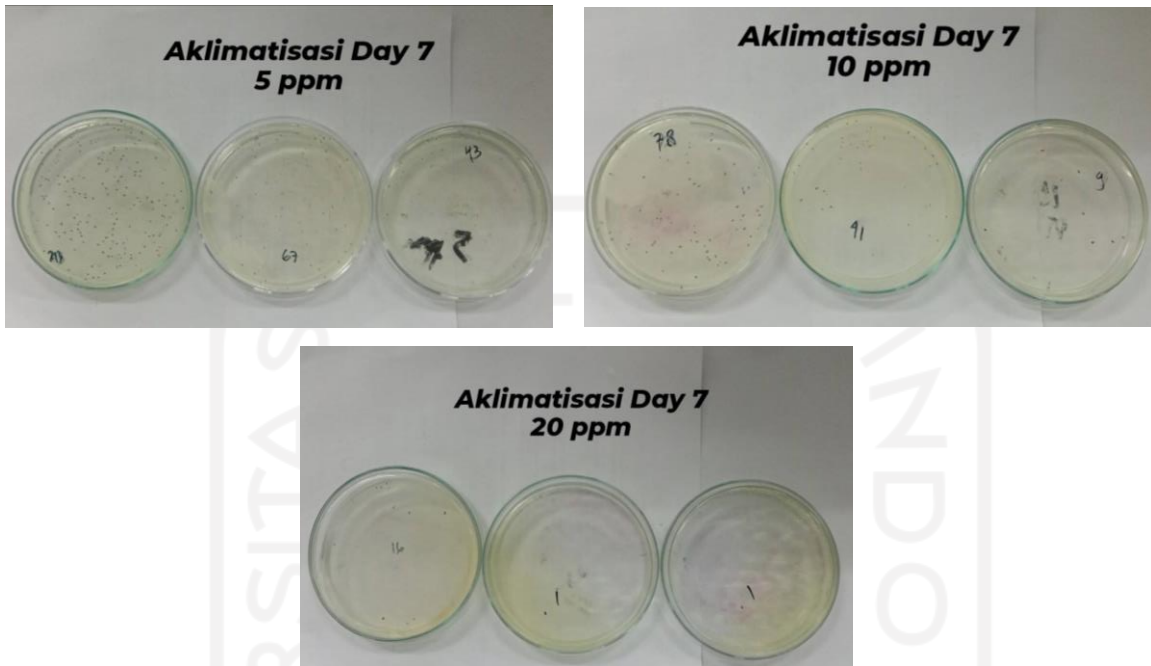
Pada Kultur Kontrol (Hari ke-0)



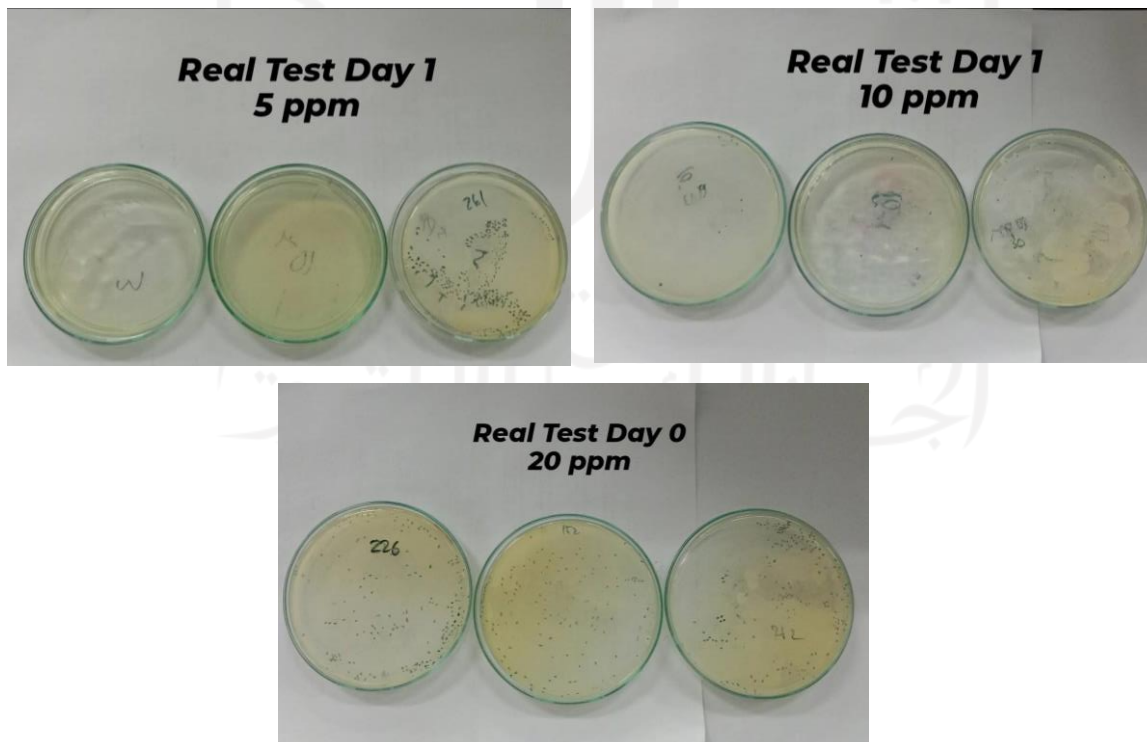
Pada Kultur BRU 39 Aklimatisasi (Hari ke-0)



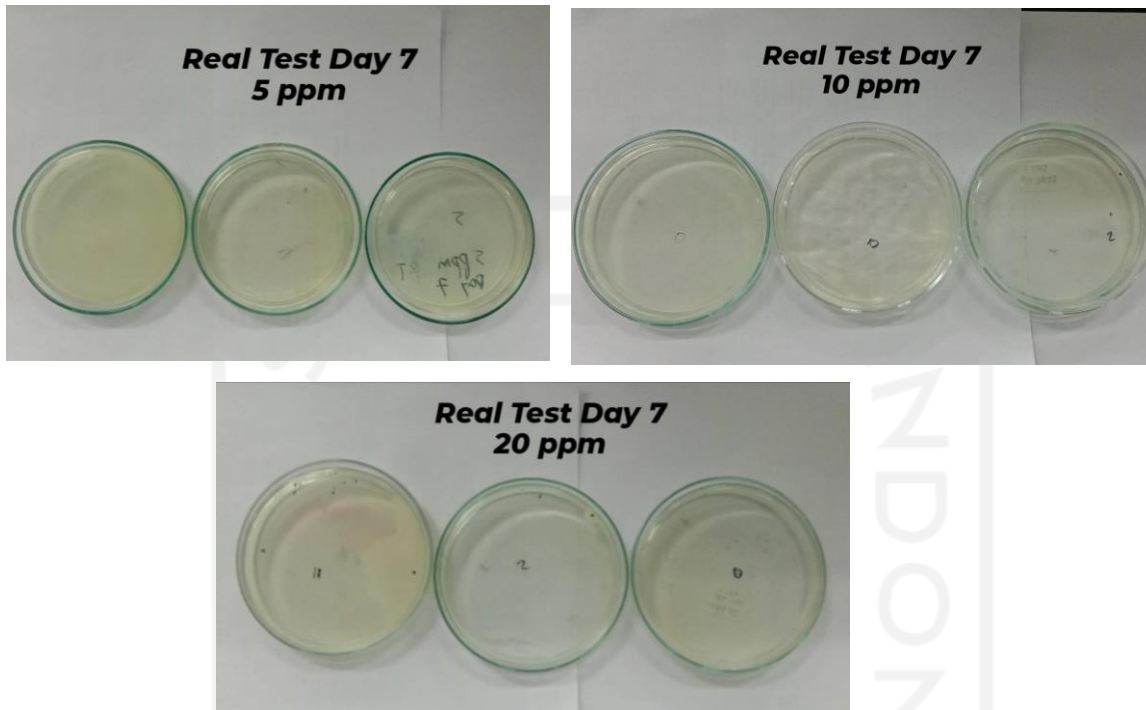
Pada Kultur BRU 39 Aklimatisasi (Hari ke-7)



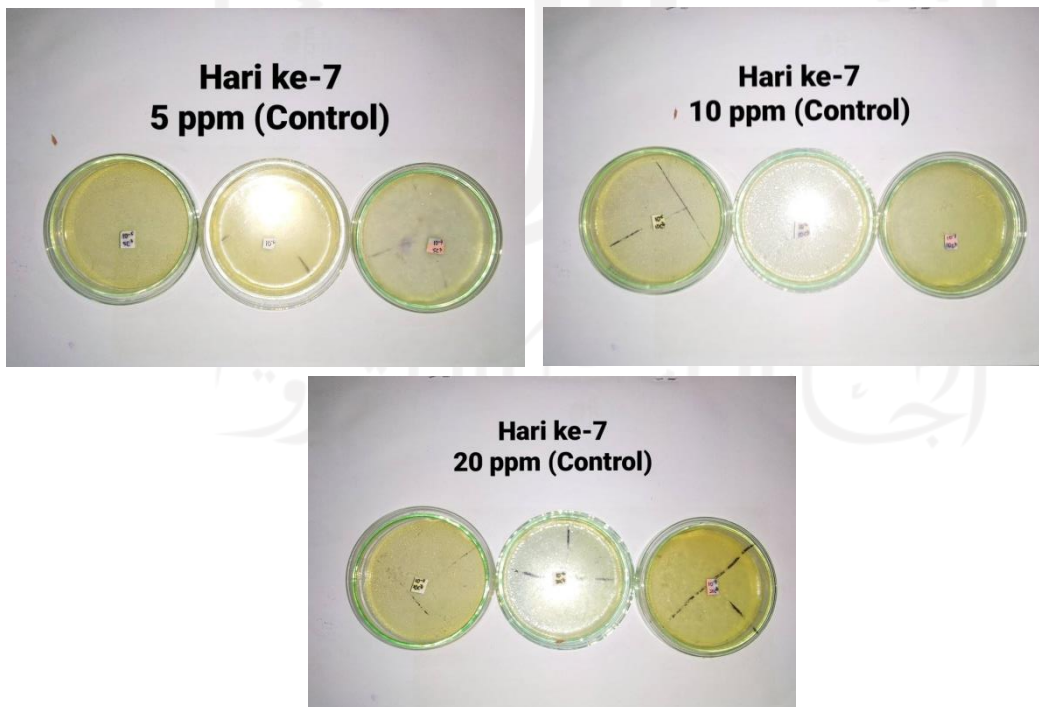
Pada Kultur BRU 39 Uji Sesungguhnya (Hari ke-0)



Pada Kultur BRU 39 Uji Sesungguhnya (Hari ke-0)



Pada Kultur Kontrol (Hari ke-7)





“Halaman ini sengaja dikosongkan

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Alvita Yulianita, lahir di Jakarta 30 Juli 1998. Merupakan anak ketiga dari tiga bersaudara dari pasangan ayah Bambang Pudjiono dan ibu Sri Rahayu. Penulis menempuh pendidikan pada jenjang SMA di SMAN 13 Jakarta yang merupakan salah satu SMA unggulan yang terletak di Jakarta Utara pada tahun 2013-2016. Pada masa sekolah menengah penulis aktif dalam bidang keorganisasian serta kepanitiaan dengan bergabung dibidang Sie Rohani Islam dan mendapatkan pengalaman amanah sebagai kepala Divisi Pembinaan kader, koordinator angkatan, dan Majelis Syuro SRI 13 Jakarta. Selain itu, penulis juga mengikuti ekstrakurikuler seperti PMR, KIR, dan Taekwondo diluar kegiatan akademisnya.

Pada tahun 2017 hingga sekarang, penulis melanjutkan studi S1 di Program Studi Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan Universitas Islam Indonesia. Di masa perkuliahannya penulis juga turut aktif dalam kegiatan akademik maupun keorganisasian mahasiswa. Penulis pernah tergabung dalam Lembaga Dakwah Fakultas Al Mustanir sebagai staff Departemen Syiar (2017), staff Departemen PSDM (2018), dan menjadi kepala Departemen PSDM (2019), lalu pada organisasi eksternal yaitu Ikatan Mahasiswa Teknik Lingkungan (IMTLI) regional 3 DIY-Jawa Tengah sebagai kepala Departemen Dalam Negeri Kabinet Integritas (2018), dan staff Kaderisasi KAMMI di komisariat UII. Pada kegiatan kepanitiaan dari HMTL UII penulis juga ikut dalam pelaksanaan kegiatan Kurban 2017 Kumpul Bareng Keluarga Teknik Lingkungan MILAD TL UII sebagai divisi acara (2017) dan kakak pembimbing sekretaris-bendahara (2018), *Organizing Committee Enviro Champions*, Lintas Lingkungan dan IMTLI Cup 2019 regional 3. Di dalam ranah akademik dan lingkungan fakultas, penulis pernah terlibat menjadi asisten praktikum toksikologi lingkungan laboratorium analisis risiko lingkungan (2020), mualim asistensi agama islam DPPAI UII (2020), dan asisten biologi *basic science enrichment* Teknik Elektro (2021). Kemudian penulis menambah pengalamannya dibidang keilmuan dan kepemudaan yaitu pernah menjadi *finalist Scientific Paper Competition* CHEMITION Universitas Pertamina (2021), dan menjadi *Delegates Participants of Istanbul Youth Summit* di Istanbul, Turki (2021).