

TUGAS AKHIR
POTENSI BAKTERI *INDIGENOUS* DARI TANAH
TPA PIYUNGAN DALAM BIOREMEDIASI LARUTAN
LOGAM TIMBAL (Pb)

**Diajukan Kepada Universitas Islam Indonesia Yogyakarta Untuk Memenuhi
Persyaratan Memperoleh Derajat Sarjana Strata Satu (S1) Teknik
Lingkungan**



EMILYA SAUSAN QOTHRUNNADA
19513258

PROGRAM STUDI TEKNIK LINGKUNGAN
FAKULTAS TEKNIK SIPIL DAN PERENCANAAN
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2023

TUGAS AKHIR

POTENSI BAKTERI *INDIGENOUS* DARI TANAH TPA PIYUNGAN DALAM BIOREMEDIASI LARUTAN LOGAM TIMBAL (Pb)

Diajukan Kepada Universitas Islam Indonesia Yogyakarta Untuk Memenuhi
Persyaratan Memperoleh Derajat Sarjana Strata Satu (S1) Teknik
Lingkungan



EMILYA SAUSAN QOTHRUNNADA
19513258

Disetujui,

Pembimbing 1

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

NIK. 155130505

Tanggal: 19.10.2023

Pembimbing 2

Puji Lestari, S.Si., M.Sc., Ph.D.

NIK. 155130112

Tanggal:

Mengetahui,



Any Juliani, S.T., M.Sc., Ph.D.

NIK. 045130401

Tanggal: 20/10-23

LEMBAR PENGESAHAN
POTENSI BAKTERI *INDIGENOUS* DARI TANAH TPA
PIYUNGAN DALAM BIOREMEDIASI LARUTAN
LOGAM TIMBAL (Pb)

Telah diterima dan disahkan oleh Tim Penguji

Hari: Jum'at
Tanggal: 20 Oktober 2023

Disusun Oleh:

EMILYA SAUSAN QOTHRUNNADA
19513258

Tim Penguji:

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



Puji Lestari, S.Si., M.Sc., Ph.D.



Dewi Wulandari, S.Hut., M.Agr., Ph.D.



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 tanggung jawab saya, bukan tanggung jawab 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, 15 Juli 2023

Yang membuat pernyataan,



Emilya Sausan Qothrunnada

NIM: 19513258

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT. atas rahmat serta karunia-Nya sehingga penulis memiliki kesempatan untuk menyelesaikan tugas akhir dengan judul “Potensi Bakteri *indigenous* dari Tanah TPA Piyungan Dalam Bioremediasi Larutan Logam Timbal (Pb)” dengan baik.

Tugas akhir ini disusun dengan maksud dan tujuan agar pembaca dapat menerima pengetahuan atau wawasan mengenai mikroorganisme bakteri yang berada di tanah TPA Piyungan dijadikan agen bioremediasi larutan logam timbal (Pb). Tugas akhir ini juga disusun untuk memenuhi syarat kelulusan dari Program Pendidikan Strata Satu (S1) Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia.

Kesempatan penulis untuk menyelesaikan tugas akhir ini karena adanya dukungan dari berbagai pihak, sehingga penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Allah SWT;
2. Bapak Abdul Aris Assaad dan Ibu Betha Afina selaku orang tua penulis serta kakak adik yang selalu memberikan dukungan serta doa sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini;
3. Ibu Annisa Nur Lathifah, S.Si., M. Biotech., M .Agr., Ph. D. selaku Dosen Pembimbing I yang selalu membimbing dan memberikan arahan dan semangat serta kritik, saran, dan penilaian terhadap penulis sejak penulisan proposal tugas akhir hingga tugas akhir ini selesai;
4. Ibu Puji Lestari, S.Si., M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing II yang selalu membimbing dan memberikan arahan dan semangat serta kritik, saran, dan penilaian terhadap penulis selama proses penyusunan tugas akhir ini;
5. Ibu Dewi Wulandari, S Hut., M.Agr., Ph.D. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan kritik dan saran serta arahan kepada penulis dalam penyelesaian tugas akhir ini;

6. Para dosen, pengajar, dan laboran yang selama ini telah memberikan ilmu maupun fasilitas yang sangat bermanfaat untuk penulis selama proses menempuh Pendidikan di Program Studi Teknik Lingkungan Universitas Islam Indonesia
7. Teman-teman terbaik penulis Dias, Berli, Almas, Azka, Haqi, Ghani, Sania, Ayya, Sari, Fetria, Nisa, Rielsa, dan Khodijah yang selama ini senantiasa menemani, menghibur, mendukung, dan membantu penulis selama masa SMA dan perkuliahan sampai dengan tersusunnya tugas akhir ini;
8. Teman-teman satu topik yang membantu dalam penyelesaian tugas akhir ini Sania, Ayya, dan Khodijah yang telah menemani, mendukung, membantu dari awal *sampling* hingga akhir penyusunan tugas akhir ini;
9. Teman-teman seperjuangan tugas akhir di Laboratorium Bioteknologi yang telah memberi bantuan dan semangat selama masa penelitian;
10. Teman-teman Program Studi Teknik Lingkungan Angkatan 2019 yang telah memberikan bantuan selama masa perkuliahan;
11. Pihak-pihak lain yang telah membantu penulis selama perkuliahan di Teknik Lingkungan Universitas Islam Indonesia.

Penulis sadar bahwa tugas akhir ini masih memiliki banyak kekurangan dan jauh dari kata sempurna. Terlepas dari hal tersebut, penulis berharap tugas akhir ini dapat bermanfaat untuk pembaca dan penelitian selanjutnya. Kritik dan saran yang membangun penulis sangat dibutuhkan agar tugas akhir ini menjadi lebih baik.

Akhir kata, penulis meminta maaf sebesar-besarnya kepada seluruh pihak yang dirugikan oleh penulis akibat ucapan maupun perbuatan penulis yang kurang berkenan secara langsung maupun tidak langsung.

Yogyakarta, 15 Juli 2023

Emilya Sausan Qothrunnada

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

ABSTRAK

EMILYA SAUSAN QOTHRUNNADA. Potensi Bakteri *indigenus* dari Tanah TPA Piyungan dalam Bioremediasi Larutan Logam Timbal (Pb). Dibimbing oleh Annisa Nur Lathifah, S.Si., M.Biotech., M.Agr., Ph.D dan Puji Lestari, S.Si., M.Sc., Ph.D.

Tanah TPA Piyungan diindikasikan tercemar oleh sampah B3, dikarenakan terdapat kandungan logam berbahaya pada sampah B3 seperti Pb, Cu, Zn, dan Cd. Dengan adanya peningkatan volume pada sampah di TPA Piyungan dapat mencemari tanah melalui air lindi, maka dari itu potensi tanah di wilayah TPA Piyungan untuk tercemar semakin besar. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk meremediasi logam timbal (Pb) menggunakan bakteri *indigenus* yang berada di tanah TPA Piyungan. Metode yang digunakan untuk pengambilan sampel tanah di TPA Piyungan yaitu metode *grab sampling*, kemudian tanah dicampur atau digabungkan menggunakan metode komposit. Bakteri yang digunakan untuk bioremediasi logam timbal (Pb) harus melewati proses isolasi, karakterisasi, dan seleksi bakteri. Isolasi bakteri dilakukan menggunakan media DNB (*Dilute Nutrient Broth*) dengan metode *pour plate*, kemudian pemurnian koloni pada media NA (*Nutrient Agar*) miring. Hasil dari karakterisasi bakteri dari tanah TPA Piyungan dilakukan secara makroskopik dan mikroskopik. Seleksi bakteri dilakukan menggunakan campuran logam pada media padat DNB (*Dilute Nutrient Broth*) + *bacteriological agar* dan NB (*Nutrient Broth*) dengan konsentrasi 56 ppm. Proses bioremediasi menggunakan bakteri A₁ yang telah melewati uji tantang pada logam timbal (Pb). Pada konsentrasi 56 ppm terjadi removal logam Pb sebesar 29%, sedangkan pada 61 ppm terjadi removal logam Pb sebesar 49%.

Kata Kunci: Bakteri, Bioremediasi, Logam Timbal (Pb), TPA Piyungan

ABSTRACT

EMILYA SAUSAN QOTHRUNNADA. Potential of Indigenous Bacteria from Piyungan Landfill Soil in Bioremediation of Lead Metal Solution (Pb). Supervised by Annisa Nur Lathifah, S.Si., M.Biotech., M.Agr., Ph.D and Puji Lestari, S.Si., M.Sc., Ph.D.

Piyungan landfill soil is indicated to be polluted by B3 waste, because there are harmful metal contents in B3 waste such as Pb, Cu, Zn, and Cd. With the increase in volume of waste in Piyungan landfill can pollute the soil through leachate water, therefore the potential for soil in the Piyungan landfill area to be polluted is even greater. The purpose of this study was to remediate lead metal (Pb) using indigenous bacteria in Piyungan landfill soil. The method used for soil sampling at Piyungan Landfill is the grab sampling method, then the soil is mixed or combined using the composite method. Bacteria used for lead metal (Pb) bioremediation must go through a process of isolation, characterization, and selection of bacteria. Isolation of bacteria is carried out using DNB (Dilute Nutrient Broth) media with the pour plate method, then purification of colonies on inclined NA (Nutrient Agar) media. The results of bacterial characterization from Piyungan landfill soil are carried out macroscopically and microscopically. Bacterial selection was carried out using a mixture of metals on solid media DNB (Dilute Nutrient Broth) + bacteriological agar and NB (Nutrient Broth) with a concentration of 56 ppm. The bioremediation process uses A1 bacteria that have passed the challenge test on lead metal (Pb). At a concentration of 56 ppm there was a removal of Pb metal by 29%, while at 61 ppm there was a removal of Pb metal by 49%.

Keywords: Bacteria, Bioremediation, Lead Metal (Pb), TPA Piyungan

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR ISI

PRAKATA	i
ABSTRAK	iv
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I	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	6
2.1 Bakteri indigenus	6
2.2 Karakteristik Logam Timbal (Pb)	7
2.3 Bahaya Logam Timbal (Pb).....	8
2.4 Bioremediasi	9
2.5 Penelitian Sebelumnya	11
BAB III	14
3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian	14

3.2 Alat dan Bahan	15
3.3 Jenis dan Variabel	16
3.4 Tahapan Penelitian	16
3.5 Metode Pengumpulan Data	18
3.5.1 Penentuan Titik Sampling	18
3.5.2 Pengambilan Sampel Tanah	18
3.5.3 Sterilisasi	20
3.5.4 Pembuatan Media	20
3.5.5 Isolasi Bakteri	22
3.5.6 Pembuatan Larutan Logam Timbal (Pb)	23
3.5.7 Metode Karakterisasi Bakteri	24
3.5.8 Bioremediasi Logam Timbal (Pb) Menggunakan Bakteri	27
3.5.9 Uji Kadar Logam Menggunakan Alat Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS)	32
3.5.10 Analisis Data Penelitian	33
BAB IV	35
4.1 Karakterisasi Bakteri pada Sampel Tanah TPA Piyungan	35
4.2 Uji Bioremediasi Logam Timbal	36
4.3 Proses Pemilihan Bakteri Untuk Bioremediasi Terhadap Logam Pb	37
4.3.1 Isolasi dan Identifikasi Jumlah Koloni Bakteri	37
4.3.2 Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri	40
4.3.3 Karakterisasi Morfologi Sel Bakteri	41
4.4 Pengaplikasian Bioremediasi Logam Pb Menggunakan Bakteri Pada Skala Besar	44
BAB V	46
5.1 Kesimpulan	46
5.2 Saran	46

DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN.....	54
RIWAYAT HIDUP	58

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Penelitian Sebelumnya	11
Tabel 2 Jumlah Koloni Bakteri.....	38
Tabel 3 Hasil Identifikasi Morfologi Koloni Bakteri	40
Tabel 4 Hasil Identifikasi Morfologi Sel Bakteri.....	41

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Morfologi koloni bakteri.....	7
Gambar 2 Peta Lokasi Pengambilan Sampel Tanah TPA Piyungan	15
Gambar 3 Diagram alir tahapan penelitian.....	17
Gambar 4 Bagan alir proses pengambilan sampel tanah.....	19
Gambar 5 Bagan alir proses pengenceran tanah.....	20
Gambar 6 Proses pembuatan media NB, DNB, dan DNB + bacteriological agar	22
Gambar 7 Proses isolasi bakteri dari larutan pengenceran tanah TPA Piyungan	23
Gambar 8 Proses pembuatan larutan logam timbal (Pb)	24
Gambar 9 Proses karakterisasi morfologi bakteri menggunakan pewarnaan gram	27
Gambar 10 Proses seleksi bakteri pada media DNB + bacteriological agar	29
Gambar 11 Proses seleksi bakteri pada media cair.....	30
Gambar 12 Proses bioremediasi logam timbal (Pb) menggunakan bakteri.....	31
Gambar 13 Grafik hasil bioremediasi oleh bakteri A1 terhadap logam Pb.....	36
Gambar 14 Total koloni bakteri dari masing-masing titik sampling.....	39

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Nilai OD Bioremediasi oleh Bakteri A1 Terhadap Logam Pb	54
Lampiran 2 Nilai Hasil Uji Konsentrasi Logam Pb Menggunakan AAS Pada Proses Bioremediasi oleh Bakteri A1 Terhadap Logam Pb.....	54
Lampiran 3 Nilai OD dari Seleksi Bakteri	54
Lampiran 4 Hasil Proses Seleksi Bakteri yang Tumbuh Pada Plate Agar	56
Lampiran 5 Hasil Nilai Perhitungan Koloni Bakteri.....	56

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

TPA Piyungan merupakan TPA yang melayani sampah perkotaan di wilayah Kabupaten Sleman, Kota Yogyakarta, dan Kabupaten Bantul. Tanah TPA Piyungan diindikasikan tercemar oleh sampah B3, dikarenakan terdapat kandungan logam berbahaya pada sampah B3 seperti Pb, Cu, Zn, dan Cd. Dengan adanya peningkatan volume pada sampah di TPA Piyungan dapat mencemari tanah melalui air lindi, maka dari itu potensi tanah di wilayah TPA Piyungan untuk tercemar semakin besar (Muyassar & Budianta, 2021).

Metode pengolahan sampah di TPA Piyungan menggunakan sistem “*Sanitary Landfill*”, tumpukan sampah tersebut dilapisi dengan timbunan tanah, dan juga terdapat kolam “*leachate* (lindi)” pipa pengendali gas buang, sistem drainase dan lapisan kedap air. Maka dari itu sangat dimungkinkan *leachate* yang dihasilkan dari degradasi sampah akan bergerak melalui pori – pori tanah yang mana akan bercampur dengan air tanah (*groundwater*) (Kasam, 2011).

Bakteri *indigenous* merupakan bakteri yang secara alami hidup di lingkungan alamiah dan memiliki beragam manfaat penting bagi manusia. Beberapa penelitian telah mengungkap berbagai manfaat dari bakteri *indigenous*, seperti sebagai agen yang membantu dalam proses bioremediasi limbah (Batubara *et al.*, 2015).

Beberapa jenis dari bakteri memiliki peran penting dalam pengelolaan lingkungan. *Pseudomonas spp* dan *Bacillus spp* merupakan genus yang berperan besar dalam degradasi senyawa pencemar. *Bacillus subtilis* dapat dikembangkan menjadi bakteri yang memiliki kemampuan mengimobilisasi logam berat pada limbah industri yang banyak mengandung logam berat, begitu juga dengan *Pseudomonas sp.* bakteri dapat berinteraksi dengan logam yang dilakukan dengan berbagai cara agar dapat menurunkan mobilitas dan kelarutan (Rahayu *et al.*, 2006).

Logam berat merupakan bahan pencemar yang berbahaya dikarenakan memiliki sifat toksik jika dalam jumlah yang besar dan berpengaruh bagi berbagai aspek di dalam perairan. Indikator pencemaran di lingkungan perairan yaitu kandungan logam berat yang sudah terakumulasi di dalam air dan sedimen di perairan tersebut (Parawita *et al.*, 2009).

Logam timbal (Pb) merupakan logam yang sangat dikenal oleh banyak masyarakat awam, dikarenakan banyaknya logam timbal (Pb) yang digunakan di dalam industri non pangan. Logam timbal (Pb) merupakan salah satu logam berat yang dapat menurunkan kualitas air dan tanah. Ketika dalam keadaan kadar yang tinggi logam timbal (Pb) dapat mengganggu sistem saraf, organ, dan sistem organ pada makhluk hidup (Sanjaya *et al.*, 2007).

Logam berat tidak ramah lingkungan dan dapat terakumulasi dalam organisme hidup. Maka dari itu, logam termasuk sebagai polutan yang paling penting bagi air dan tanah. Sehingga diperlukan remediasi pada air dan tanah yang tercemar logam berat agar aman pada saat dilepaskan di lingkungan (Estioningsih *et al.*, 2014).

Teknik bioremediasi sendiri sudah dilaksanakan sebagai salah satu upaya untuk memperbaiki kondisi lingkungan yang sudah tercemar oleh logam berat. teknik bioremediasi sendiri merupakan upaya untuk memperbaiki lingkungan yang sudah tercemar dengan menggunakan atau memanfaatkan makhluk hidup sebagai tindakan atau pilihan yang baik dan benar. Bioremediasi merupakan salah satu teknik yang inovatif untuk menghilangkan dan memperbaiki ion logam berat yang akan berubah menjadi lebih ringan dengan pemanfaatan atau penggunaan organisme hidup yaitu seperti Bakteri, Fungi, Algae dan tanaman (Dixit *et al.*, 2015).

Berdasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh (Khoiroh, 2014), sebelumnya penelitian ini dilakukan menggunakan metode pengukuran kadar logam Pb menggunakan AAS, dan perhitungan jumlah total bakteri menggunakan metode TPC. Bakteri yang digunakan yaitu *Pseudomonas pseudomallei* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan konsentrasi (0%, 9%, 12%, dan 15%). Proses bioremediasi dilakukan dengan lama inkubasi (0, 20, 30, dan 40

hari). Hasil penelitian menunjukkan, jumlah bakteri tertinggi terdapat pada penambahan bakteri sebesar 15% dengan jumlah sel $6,57 \times 10^{10}$. Dengan persen penurunan kadar logam timbal (Pb) tertinggi pada penambahan bakteri 12%, dengan persen penurunan sebesar 65% dari kadar awal logam sebesar 3,5 ppm menjadi 1,21 ppm.

Berdasarkan penelitian sebelumnya bakteri *Pseudomonas pseudomallei* dan *Pseudomonas aeruginosa* dapat meremediasi logam timbal, sehingga pada penelitian ini menggunakan bakteri *indigenus* untuk menganalisis kemampuan bakteri *indigenus* dari tanah TPA Piyungan untuk meremediasi logam timbal (Pb).

1.2 Perumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apakah proses bioremediasi menggunakan bakteri dari tanah TPA Piyungan dapat menurunkan kadar logam larutan timbal (Pb)?
2. Berapa besar efisiensi bakteri dari tanah TPA Piyungan untuk menurunkan kandungan kadar larutan logam timbal (Pb)?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Menganalisis proses bioremediasi menggunakan bakteri dari tanah TPA Piyungan yang dapat menurunkan kadar larutan logam timbal (Pb).
3. Mengetahui seberapa besar efisiensi bakteri dari tanah TPA Piyungan untuk menurunkan kandungan kadar larutan logam timbal (Pb).

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Sebagai pembelajaran dan pemahaman mengenai potensi bakteri *indigenus* TPA Piyungan untuk meremediasi logam timbal (Pb) pada limbah cair.
2. Sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya pada bidang yang sama.

1.5 Ruang Lingkup

Ruang Lingkup penelitian adalah :

1. Lokasi pengambilan sampel tanah berada di TPA Piyungan dengan umur tanah 1 – 3 tahun.
2. Pengambilan sampel tanah sejumlah 3 titik lokasi yang berada di TPA Piyungan.
3. Menggunakan larutan logam timbal (Pb).
4. Menggunakan metode *Grab Sampling* dan *Pour Plate* pada pengambilan sampel dan isolasi.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB II

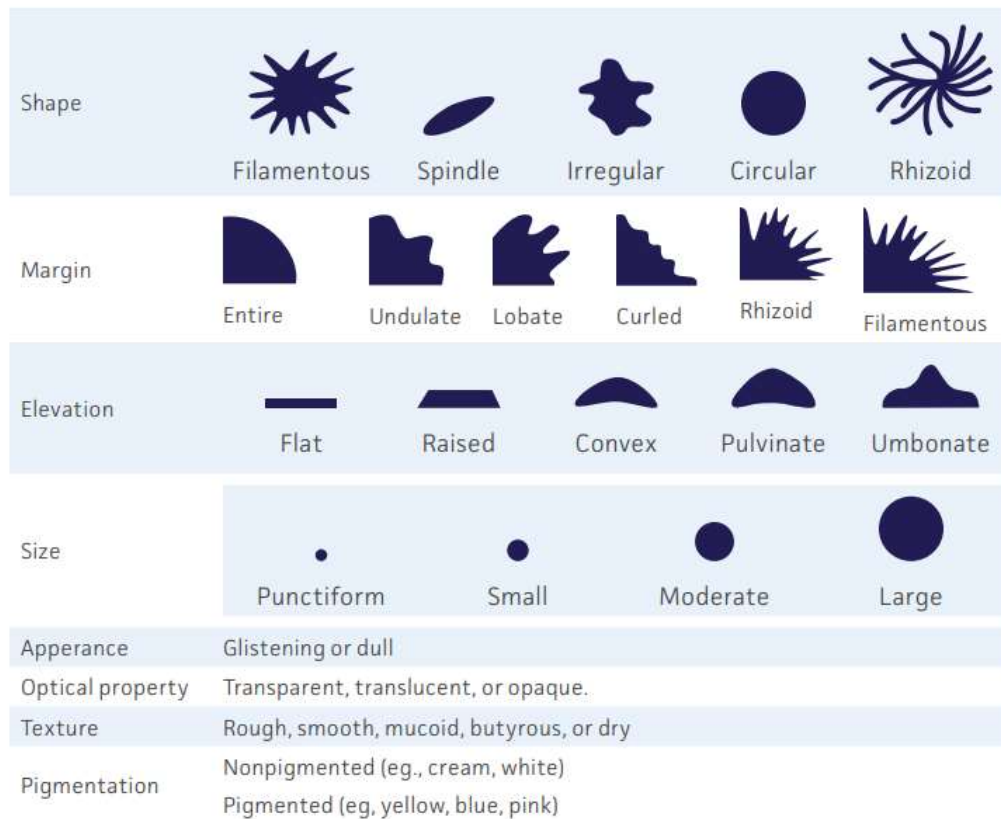
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri *indigenus*

Bakteri *indigenus* merupakan bakteri yang secara alami hidup bebas di alam dan memiliki berbagai macam manfaat bagi manusia contohnya sebagai agen bioremediasi limbah (Batubara *et al.*, 2015). Bakteri *indigenus* akan mengalami pertumbuhan dan perkembangan pada lingkungan aslinya. Maka dari itu bakteri *indigenus* tidak memerlukan adanya penyesuaian diri terhadap lingkungan yang baru (Arief *et al.*, 2010). Bakteri dapat menciptakan enzim sebagai pengurai limbah, enzim tersebut merupakan enzim yang akan diekskresi keluar sel dan mampu untuk membangun kembali substrat tertentu yang terkandung dalam suatu limbah (Lestari, 2016).

Bakteri *Indigenus* telah menjadi perhatian pada beberapa tahun terakhir ini dikarenakan kemampuannya dalam proses bioremediasi lingkungan yang tercemar. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa bakteri *indigenus* memiliki kemampuan dalam remediasi logam berat. Berikut merupakan beberapa bakteri yang sering dimanfaatkan *Chryseomonas sp.*, *Citrobacter sp.*, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.* *Kluyvera sp.* dan *Burkholderia sp* (Al – Gheethi *et al.*, 2014).

Menurut ATCC, 2023, bakteri memiliki bentuk, ukuran, elevasi, tepian, dan warna yang beragam, dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Sumber: ATCC, 2023

Gambar 1 Morfologi koloni bakteri

2.2 Karakteristik Logam Timbal (Pb)

Timbal adalah logam yang memiliki empat bentuk isotop, yang memiliki warna kebiru – biruan atau abu – abu keperakan dengan titik leleh pada 327°C dan titik didih pada 1740°C di atmosfer (Gusnita, 2012). Secara kimiawi timbal memiliki titik uap yang rendah dan dapat menstabilkan senyawa lain sehingga berguna pada ratusan produk industri. Sedangkan secara klinis timbal merupakan bahan toksik murni, tidak terdapat organisme yang fungsinya bergantung pada timbal (Lubis *et al.*, 2013).

Timbal merupakan kelompok logam berat golongan IVA di dalam Sistem Periodik Unsur kimia. Timbal memiliki nomor atom 82 dengan berat atom 207,2 yang memiliki bentuk padat pada suhu kamar dan memiliki berat jenis sebesar

11.4/1. Timbal sendiri jarang ditemukan di alam dalam keadaan bebas, akan tetapi dalam bentuk senyawa dengan molekul lain, seperti dalam bentuk PbBr_2 dan PbCl_2 (Gusnita, 2012)

2.3 Bahaya Logam Timbal (Pb)

Logam berat yang masuk ke dalam tubuh manusia menyebabkan bahaya bagi kesehatan, dikarenakan dapat menghalangi kerja enzim sehingga mengganggu metabolisme tubuh yang akan menyebabkan kanker dan mutasi. Berikut merupakan beberapa logam berat yang sangat berbahaya bagi manusia antara lain timbal, tembaga, merkuri, kadmium, dan krom (Effendi *et al.*, 2012).

Toksisitas merupakan kemampuan suatu molekul, bahan kimia, atau senyawa kimia untuk menimbulkan kerusakan pada saat mengenai bagian permukaan tubuh atau bagian dalam tubuh yang peka. Unsur timbal (Pb) yang masuk ke dalam lingkungan tidak langsung membahayakan kehidupan makhluk hidup akan tetapi membahayakan metabolisme makhluk hidup jika melebihi ambang batas. Unsur timbal (Pb) merupakan unsur yang sangat toksik terhadap tanaman (Darmono, 2006)

Logam timbal (Pb) merupakan salah satu bahan kimia toksik penyebab terjadinya pencemaran udara yang berbahaya bagi lingkungan kerja. Logam timbal (Pb) merupakan logam yang sangat berbahaya bagi kesehatan manusia yang toksisitasnya berlangsung seumur hidup dikarenakan timbal terakumulasi di dalam tubuh manusia (Palar, 2008).

Dampak dari logam timbal (Pb) sendiri dapat merusak berbagai organ tubuh manusia, terutama pada sistem saraf, sistem pembentukan darah, ginjal, sistem jantung, dan sistem reproduksi. Logam timbal (Pb) juga dapat menyebabkan tekanan darah tinggi dan anemia. Menurut penelitian pencemaran logam timbal (Pb) dalam udara salah satu penyebab terhadap peningkatan akumulasi kandungan logam timbal (Pb) dalam darah. Hal ini dapat menyebabkan sindroma saluran pencernaan, kesadaran, anemia, kerusakan ginjal, hipertensi, neuromuscular, dan konsekuensi *pathophysiological* serta kerusakan pada saraf pusat dan perubahan tingkah laku (Amaral, *et al.*, 2010).

2.4 Bioremediasi

Bioremediasi merupakan teknik biologi yang digunakan untuk menyisihkan atau menghilangkan polutan dari lingkungan dengan menggunakan mikroorganisme (Melati, 2020). Proses bioremediasi dilakukan secara alami oleh mikroorganismse sebagai agen bioremediasi atau dapat juga dengan penambahan mikroorganisme dan nutrisi. Proses penambahan mikroorganisme tersebut dapat meningkatkan ketersediaan hayati dalam media (Wahyu *et al.*, 2008).

Logam berat memiliki dampak yang cukup mengkhawatirkan karena mempengaruhi kesehatan dan juga dapat mengancam ekosistem. Selain itu, pengolahan limbah cair dan limbah padat juga dianggap menjadi tantangan besar yang memerlukan suatu tindakan remediasi pada lingkungan yang terkontaminasi logam berat. metode biologi menjadi metode yang paling aman dan ramah lingkungan. Metode ini juga disebut dengan metode bioremediasi karena memiliki biaya operasional yang murah dan mudah (Kholiq, 2013).

Terdapat beberapa alternatif yang dapat dilakukan untuk menangani toksisitas logam berat. Bioremediasi adalah satu alternatif untuk menangani toksisitas logam berat terhadap tanah tercemar. Bioremediasi oleh mikroorganisme dianggap sebagai strategi potensial dalam mereduksi kontaminasi logam – logam berat yang terjadi di lingkungan (Gandjar *et al.*, 2006). Keunggulan dari bioremediasi adalah proses alami yang dapat diterapkan ditempat yang sulit dijangkau, lingkungan di bawah permukaan tanah, tidak mahal, tidak menghasilkan limbah yang baru (masalah baru), dan ramah lingkungan (Hanafiah *et al.*, 2009).

Interaksi logam berat dengan bakteri terjadi melalui mekanisme langsung atau tidak langsung tergantung dengan spesies logam dan lingkungan sekitarnya. Terdapat beberapa faktor terhadap pertumbuhan bakteri yaitu, suhu, pH, sumber nutrisi dan ion logam, penting untuk mengatur bioavailabilitas dan mobilitas logam berat untuk proses transformasi oleh bakteri. Bakteri dapat bertahan hidup di berbagai lingkungan karena ukurannya yang kecil, laju pertumbuhan yang cepat, dan budidaya yang mudah, bakteri telah banyak digunakan untuk remediasi

logam dari lingkungan. Biasanya logam berat menempel pada gugus fungsi seperti gugus amino, karboksil, sulfat dan fosfat yang terdapat pada lapisan polisakarida dinding sel bakteri (Tiquia-Arashiro, 2018).

Mekanisme lain yang dimiliki oleh banyak bakteri toleran logam melibatkan penyerapan logam dengan mengeluarkan zat polimer ekstraseluler (EPS). EPS ini sangat relevan dengan proses bioremediasi karena keterlibatannya dalam proses flokulasi dan pengikatan ion logam dari larutan. EPS adalah campuran kompleks polimer polianionik dengan berat molekul tinggi, seperti protein, asam humat, polisakarida, dan asam nukleat yang mengikat logam kationik dengan tingkat spesifisitas dan afinitas berbeda. Beberapa jenis bakteri resisten terhadap timbal antara lain *Klebsiella michiganensis* R19, *Providencia rettgeri* L2, *Raoultella planticola* R3, dan *Serratia* sp. L30 diketahui menyerap timbal dalam larutan logam tunggal dan campuran (Tiquia-Arashiro, 2018).

Zat polimer ekstraseluler (EPS) melindungi mikroba dari logam berat beracun dengan membatasi masuknya logam ke dalam sel. EPS memiliki gugus fungsi anionik dan kationik yang membantu mengakumulasi ion logam berat seperti kadmium, merkuri, tembaga, dan kobalt. Setelah adsorpsi, logam berat dapat diubah menjadi keadaan ionik yang berbeda dalam sel bakteri untuk mengurangi toksisitasnya. EPS bakteri diidentifikasi sebagai komponen utama matriks ekstraseluler dan terdiri dari polisakarida, protein, asam nukleat, lipid, asam uronat, glikoprotein dan konstituen nonpolimer lainnya. EPS memiliki komposisi kimia yang beragam dan mengandung berbagai macam gugus fungsi yang berfungsi sebagai lokasi potensial untuk menyerap logam berat, termasuk gugus karboksil, fosfat, dan urea, serta mitra ikatan H (Tiquia-Arashiro, 2018).

Proses pengikatan menghasilkan imobilisasi logam, mencegah logam kationik beracun memasuki sel. Pengikatan EPS terhadap Pb^{2+} telah diamati pada beberapa bakteri resisten timbal. Susunan struktural dan komposisi EPS bervariasi sesuai dengan fase pertumbuhan bakteri dan dengan demikian penghilangan timbal yang lebih tinggi terlihat selama fase diam karena tingginya penggabungan gula asam bersih dalam EPS (Tiquia-Arashiro, 2018).

Pengendapan adalah mekanisme lain yang digunakan oleh beberapa bakteri untuk menurunkan konsentrasi logam bebas menjadi kompleks yang tidak larut sehingga mengurangi bioavailabilitas dan toksisitasnya. Pb^{2+} diketahui bereaksi dengan beberapa anion seperti klorida, fosfat, sulfida, karbonat, dan ion hidroksil untuk membentuk endapan yang tidak larut. Proses pengendapan terjadi di luar (ekstraseluler) atau di dalam (intraseluler) sel (Tiquia-Arashiro, 2018).

2.5 Penelitian Sebelumnya

Berikut merupakan beberapa sumber penelitian sebelumnya untuk membantu serta mendukung penelitian tugas akhir ini dapat dilihat pada **Tabel 1**:

Tabel 1 Penelitian sebelumnya

No	Nama Peneliti dan Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
1.	(Khoiroh, 2014)	Bioremediasi Logam Berat Timbal (Pb) dalam Lumpur Lapindo Menggunakan Campuran Bakteri (<i>Pseudomonas pseudomallei</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	Penambahan campuran bakteri (<i>Pseudomonas pseudomallei</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>) 12% dapat menurunkan kadar logam berat timbal (Pb) sebesar 65%
2.	(Ikerismawati, 2019)	Bioremediasi Pb oleh Bakteri <i>indigenus</i> Limbah Cair Agar	Bakteri <i>Bacillus alvei</i> , <i>Bacillus pumilus</i> dan <i>Bacillus licheniformis</i> mampu menurunkan logam timbal (Pb) pada limbah cair agar steril sebesar 83,62%, 81,31%, dan 79,31%.
3.	(Sa'diyah <i>et al.</i> , 2016)	Effectiveness of <i>indigenus</i> Lead (Pb) Reducing Bacteria Consortia of Waste	Gabungan bakteri <i>B. alvei</i> dan <i>B. pumilus</i> memiliki potensi untuk mengurangi kadar logam timbal (Pb)

		Water Treatment in Agar Flour Industry	sebesar 93,58%.
--	--	---	-----------------

Berdasarkan pada penelitian (Khoiroh, 2014) penambahan campuran bakteri (*Pseudomonas pseudomallei* dan *Pseudomonas aeruginosa*) 12% dapat menurunkan kadar logam berat timbal (Pb) sebesar 65%. Pada penelitian (Ikerismawati, 2019) bakteri *Bacillus alvei*, *Bacillus pumilus* dan *Bacillus licheniformis* mampu menurunkan logam timbal (Pb) pada limbah cair agar steril sebesar 83,62%, 81,31%, dan 79,31%. Sama dengan penelitian (Sa'diyah *et al.*, 2016) gabungan bakteri *B. alvei* dan *B. pumilus* memiliki potensi untuk mengurangi kadar logam timbal (Pb) sebesar 93,58%. Dapat disimpulkan bahwa beberapa jenis bakteri dapat mengurangi kadar logam timbal.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

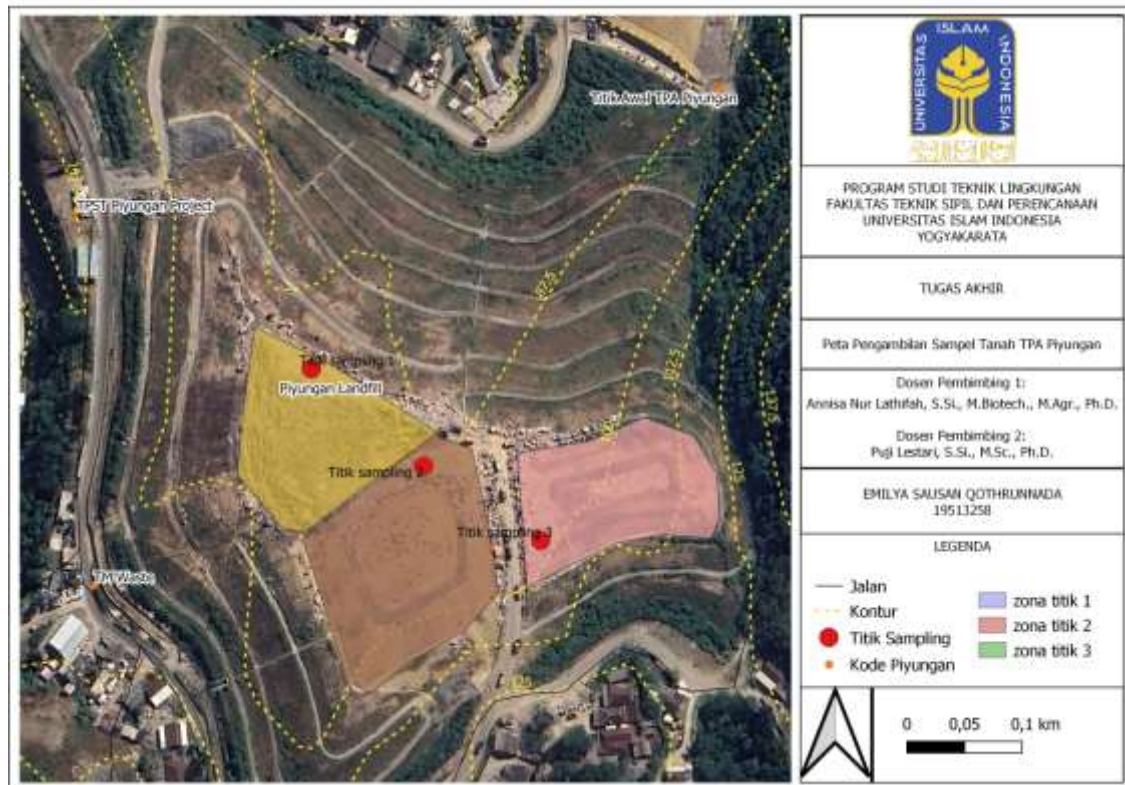
Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2023 sampai dengan bulan Agustus 2023. Lokasi pengambilan sampel tanah untuk dikarakterisasi bakterinya berada di TPA Piyungan Yogyakarta pada tanggal 20 Maret 2023. Pengambilan sampel tanah di TPA Piyungan berada di tumpukan sampah yang sudah diratakan yang memiliki umur 1 – 3 tahun dengan pengambilan sampel tanah sebanyak 3 titik, setiap titiknya memiliki jarak yang jauh dan masing – masing titik memiliki 3 titik cabang dengan jarak 1 meter.

Untuk pelaksanaan pengujian sampel berada di Laboratorium Mikrobiologi Teknik Lingkungan. Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia.

Pada pengambilan sampel tanah terdapat 3 koordinat titik sampling yaitu sebagai berikut:

1. Titik sampling 1 : 7°52'11.3"S 110°25'46.7"E
2. Titik sampling 2 : 7°52'12.8"S 110°25'48.4"E
3. Titik sampling 3 : 7°52'13.9"S 110°25'50.3"E

Berikut merupakan lokasi pengambilan sampel tanah yang berada di TPA Piyungan Yogyakarta. Dapat dilihat pada **Gambar 2**.



Gambar 2 Peta Lokasi Pengambilan Sampel Tanah TPA Piyungan

3.2 Alat dan Bahan

Pada penelitian ini terdapat beberapa alat dan bahan yang dibutuhkan . Berikut merupakan alat yang digunakan dalam penelitian yaitu sekop, plastik klip, penggaris 30 cm, kertas label, masker, sarung tangan, cooler box, cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, bunsen, pipet dan karet penghisap, jarum ose, inkubator, *magnetic stirrer*, gelas beaker, kertas coklat, rak tabung reaksi, alat penghitung koloni, *autoclave*, kompor, *hotplate stirrer*, timbangan, spektrofotometri, mikroskop, *Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS)*, *water bath*. Sedangkan untuk bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu aquades, *Nutrient Broth (NB)*, *Nutrient Agar (NA)*, sampel tanah TPA Piyungan, *Buffered Peptone Water (BPW)*, *Agar Bacteriological*, $Pb(NO_3)_2$.

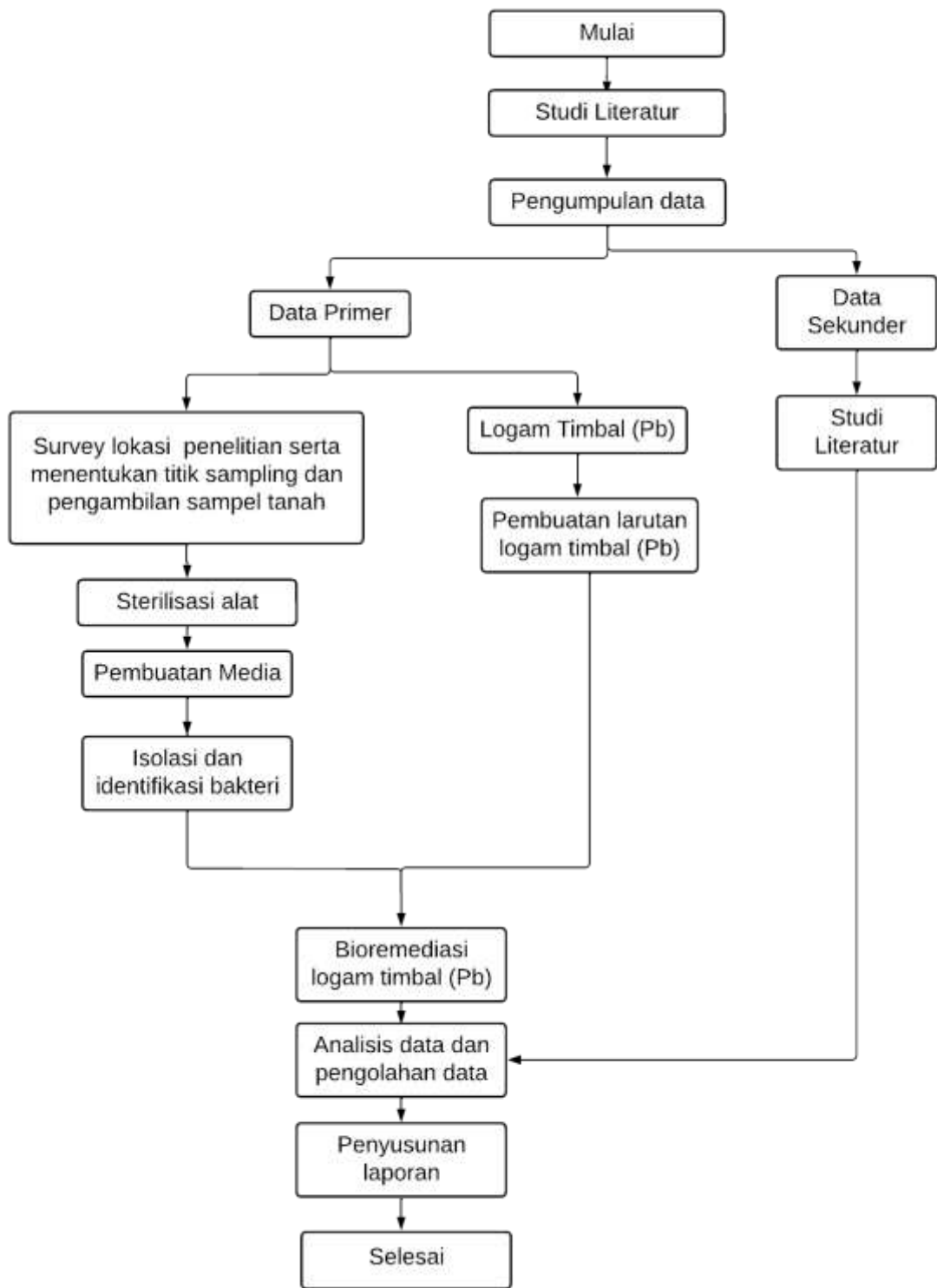
3.3 Jenis dan Variabel

Berikut merupakan variabel yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya:

1. Variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi sebab perubahan atau timbulnya variabel terikat, variabel bebas pada penelitian ini adalah Bakteri sebagai agen bioremediasi logam
2. Variabel Terikat merupakan variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas, variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar larutan logam timbal (Pb).

3.4 Tahapan Penelitian

Berikut merupakan diagram alir tahapan yang dilakukan pada saat penelitian, dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3 Diagram alir tahapan penelitian

3.5 Metode Pengumpulan Data

3.5.1 Penentuan Titik Sampling

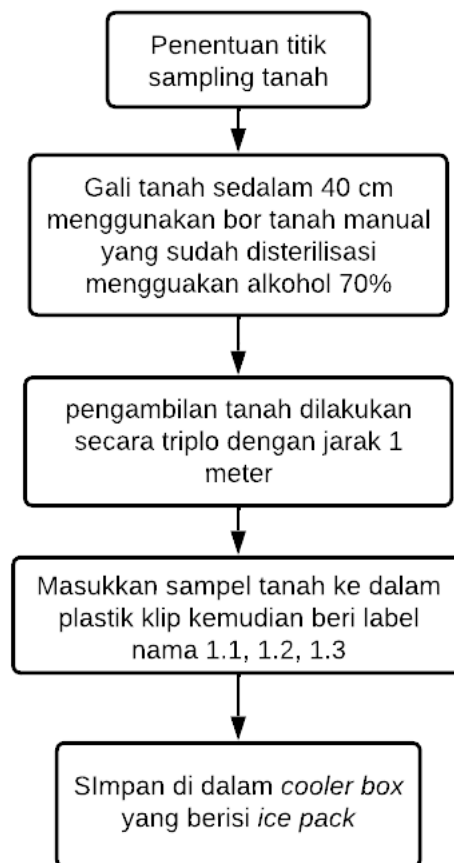
Penentuan titik sampling ini berada di lokasi TPA Piyungan Yogyakarta dengan pengambilan sampel menggunakan metode grab sampling yaitu, metode yang dilakukan dengan cara mengambil fragmen secara acak tanpa melalui seleksi yang khusus (Lestari *et al.*, 2018). Pada penentuan titik sampling dilakukan berada di 3 titik dengan kedalaman 40 cm. Lokasi pengambilan sampel tanah sudah ditutup oleh urugan tanah sedalam 15 cm menurut (Arifin, 2018), top soil berada pada kedalaman 0 – 30 cm. Top soil merupakan lapisan tanah paling atas yang umumnya mengandung materi organik, berwarna coklat gelap, subur, dan memiliki ketebalan hingga 25 cm (Ariyanto, 2009). Top soil merupakan lapisan tanah yang sangat subur dan ketebalan tanah (solum) dari permukaan sampai dengan lapisan di mana akar tanaman tidak dapat menembusnya. Menurut penelitian (Yadi *et al.*, 2012) dalam jurnal (Suryanto, 2016), media tanam top soil mengandung unsur hara. Menurut (Paul & Clark, 1989) dalam jurnal (Budhisurya *et al.*, 2013), bakteri pada tanah merupakan faktor penting dalam ekosistem tanah, karena memiliki dampak pada siklus dan ketersediaan unsur hara pada tanaman serta kestabilan struktur tanah.

Pada 3 titik utama setiap titik nya terdapat 3 titik sampel cabang dengan jarak antar titiknya sepanjang 1 m. Maka jumlah titik sampel yang digunakan sebanyak 9 titik sampling. Titik sampling yang diambil berupa tanah yang sudah tertimbun oleh sampah dalam jangka waktu yang lama (1 – 3 tahun).

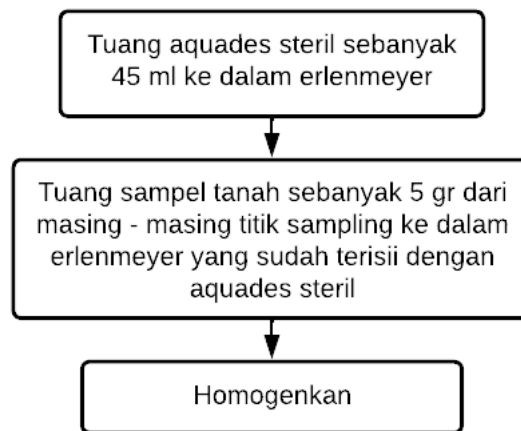
3.5.2 Pengambilan Sampel Tanah

Pada saat pengambilan sampel tanah menggunakan metode grab sampling dimana pengambilan sampel tanah secara grab sampling dilakukan berada di 3 titik utama dengan setiap titiknya memiliki 3 titik cabang dengan jarak masing – masing 1 meter. Kemudian tanah tersebut dikomposit, komposit sendiri merupakan sampel tanah gabungan dari beberapa sub tanah individu yang berada pada titik sampling (Ekamaida, 2017). Tanah yang sudah ditentukan tersebut dibor sampai dengan kedalaman 40 cm, lalu diambil menggunakan sekop yang

sudah disterilkan menggunakan alkohol 70%. Sampel yang sudah diambil kemudian dimasukkan ke dalam plastik klip dan diletakkan ke dalam cooler box. Berikut merupakan diagram alir tahapan yang dilakukan pada saat pengambilan sampel tanah, dapat dilihat pada **Gambar 4**.



Gambar 4 Bagan alir proses pengambilan sampel tanah



Gambar 5 Bagan alir proses pengenceran tanah

3.5.3 Sterilisasi

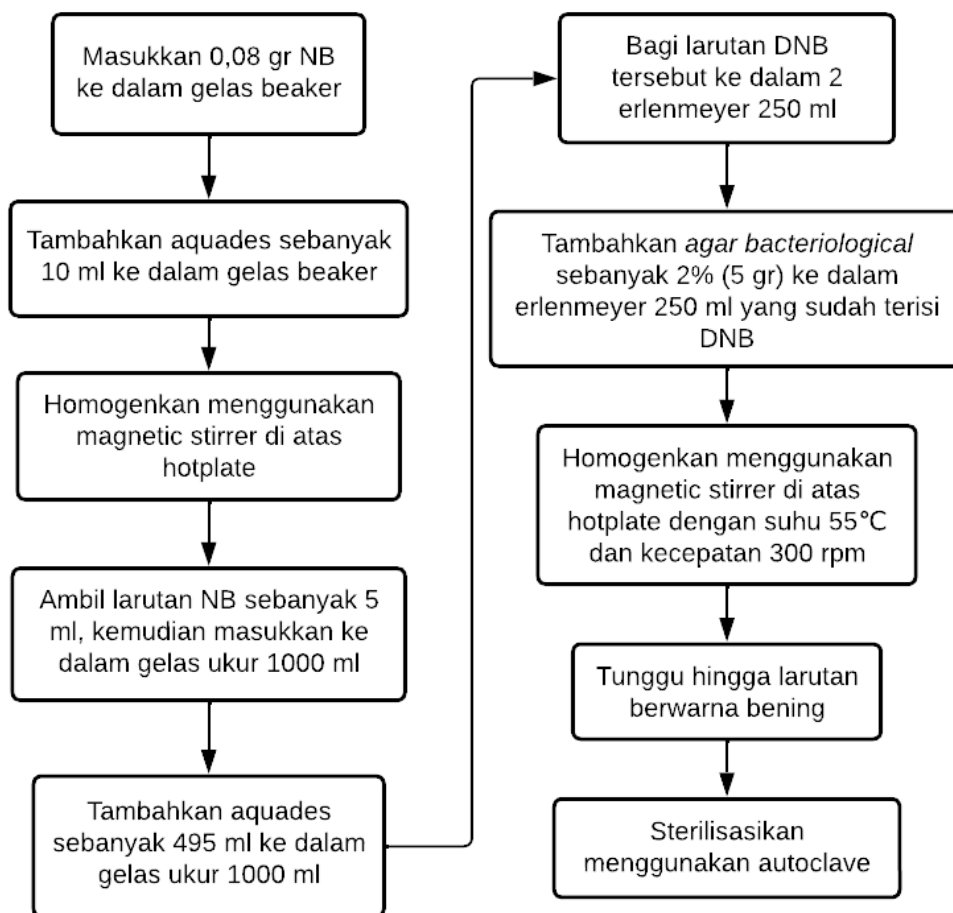
Alat yang digunakan di sterilisasikan terlebih dahulu sebelum dilakukannya penelitian. Metode yang digunakan adalah sterilisasi sistem basah menggunakan *autoclave*. Cara kerjanya yaitu alat yang akan digunakan dibungkus terlebih dahulu menggunakan kertas coklat. Kemudian alat yang sudah dibungkus tersebut dimasukkan ke dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 - 20 menit. Manfaat dari pembungkusan tersebut yaitu agar terhindar dari masuknya uap air terhadap alat yang sudah disterilisasikan.

3.5.4 Pembuatan Media

Media yang digunakan untuk tempat pertumbuhan bakteri adalah NA (*Nutrient Agar*), *Nutrient Broth* (NB), DNB (*Dilute Nutrient Broth*), dan DNB (*Dilute Nutrient Broth*) + *bacteriological agar*, larutan logam timbal (Pb) 200 ppm. Langkah awal pembuatan media DNB (*Dilute Nutrient Broth*) yaitu dengan melakukan pengenceran *Nutrient Broth* (NB) sebanyak 100x. Dengan cara membuat larutan NB sebanyak 100 ml, lalu diambil 1 ml ke dalam Erlenmeyer 100 ml dicampur dengan aquades sebanyak 99 ml, setelah itu dihomogenkan agar media tercampur dengan sempurna. Selanjutnya pada pembuatan DNB + *bacteriological agar* sama dengan pembuatan DNB, yang membedakan yaitu

pada penambahan *Bacteriological Agar* sebanyak 3%. Untuk pembuatan media NA yaitu tuangkan bubuk NA ke dalam aquades yang telah mendidih, lalu aduk menggunakan *magnetic stirrer*. Kemudian larutan NA dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan disterilisasikan di dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama ± 1 jam, setelah itu disimpan di kulkas agar media NA terjaga (Napitupulu *et al.*, 2019).

Pada proses pembuatan larutan logam Pb dibuat konsentrasi awal 200 ppm. Pembuatan media kali ini hampir sama dengan pembuatan media yang sudah dijelaskan diatas, yang membedakan hanya penambahan logam Pb pada media. Berikut merupakan diagram alir tahapan yang dilakukan pada saat pembuatan media NB, DNB, dan DNB + *bacteriological agar*, dapat dilihat pada **Gambar 6**.

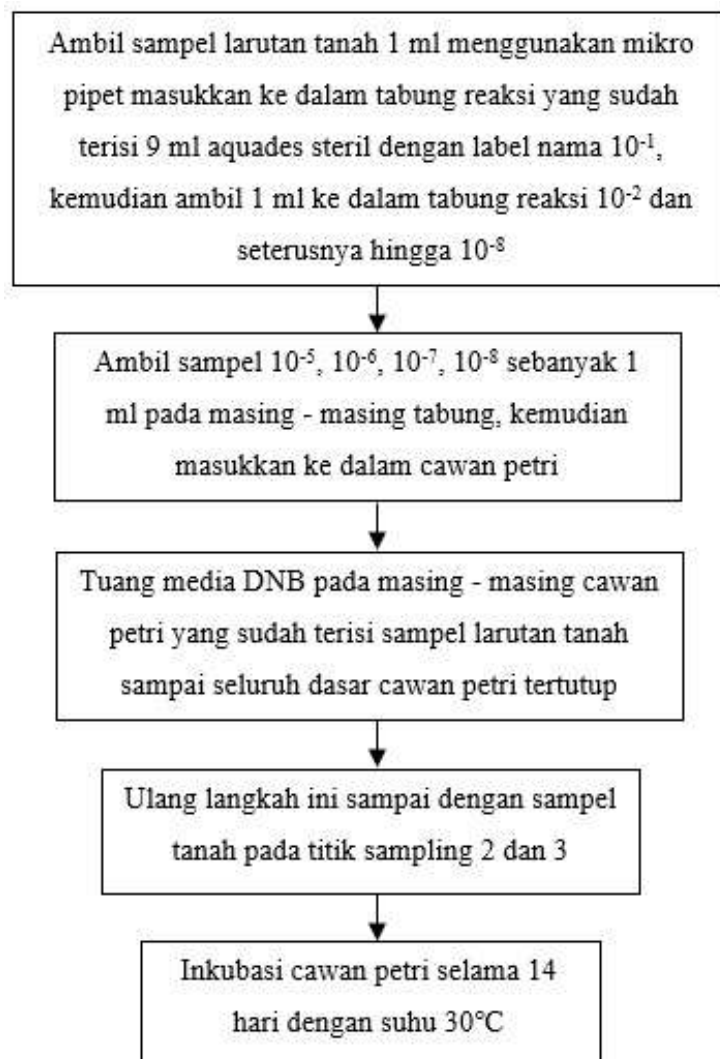


Gambar 6 Proses pembuatan media NB, DNB, dan DNB + *bacteriological agar*

3.5.5 Isolasi Bakteri

Pada proses pengenceran, sampel tanah TPA Piyungan diencerkan menggunakan Erlenmeyer 50 ml dengan sampel tanah sebanyak 5 gr dan aquades 45 ml lalu homogenkan. Kemudian larutan yang sudah dihomogenkan diambil 1 ml menggunakan pipet ukur ke dalam tabung reaksi yang sudah di isi oleh 9 ml aquades untuk membuat pengenceran sampai 10^{-8} . Kemudian larutan dari pengenceran 10^{-5} hingga 10^{-8} diambil masing – masing 1 ml secara duplo lalu tambahkan media DNB (*Dilute Nutrient Broth*) untuk di isolasi di cawan petri menggunakan metode pour plate (Widiatmono, 2020).

Pada isolasi bakteri posisi cawan petri dalam keadaan terbalik untuk menghindari terjadinya kontaminan akibat proses metabolisme bakteri. Setelah itu dilakukan inkubasi pada inkubator selama 2 minggu dengan suhu 30°C sampai terbentuknya koloni bakteri (Widiatmono, 2020). Berikut merupakan diagram alir tahapan yang dilakukan pada saat proses isolasi bakteri dari larutan pengenceran tanah TPA piyungan, dapat dilihat pada **Gambar 7**.

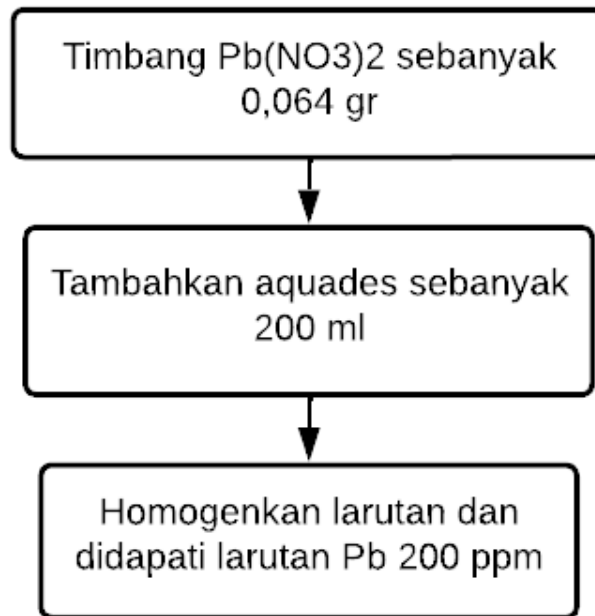


Gambar 7 Proses isolasi bakteri dari larutan pengenceran tanah TPA Piyungan

3.5.6 Pembuatan Larutan Logam Timbal (Pb)

Pada proses pembuatan larutan logam timbal yaitu, siapkan 0,064 gram serbuk Pb(NO₃)₂ kemudian dilarutkan ke dalam 200 ml larutan aquades sehingga

diperoleh larutan $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ dengan konsentrasi 61 ppm (Januar *et al.*, 2013). Berikut merupakan diagram alir tahapan yang dilakukan pada saat proses pembuatan larutan logam Timbal (Pb), dapat dilihat pada **Gambar 8**.



Gambar 8 Proses pembuatan larutan logam timbal (Pb)

3.5.7 Metode Karakterisasi Bakteri

Pada karakterisasi bakteri menggunakan 2 metode yaitu metode makroskopik dan mikroskopis. Metode mikroskopis yaitu mengamati bakteri melalui mikroskop menggunakan pewarnaan gram dengan perbesaran 1000x, sedangkan untuk metode makroskopis yaitu mengamati bakteri melalui mata telanjang (Male *et al.*, 2020). Koloni yang tumbuh dengan jenis mayoritas dipindahkan ke dalam NA miring kemudian diinkubasi untuk proses duplikasi pada bakteri untuk stok bakteri. Mayoritas koloni yang berada di NA miring tersebut diambil dan dikarakterisasi menggunakan metode mikroskopis dengan menggunakan mikroskop setelah dilakukannya pewarnaan gram dengan perbesaran 1000x.

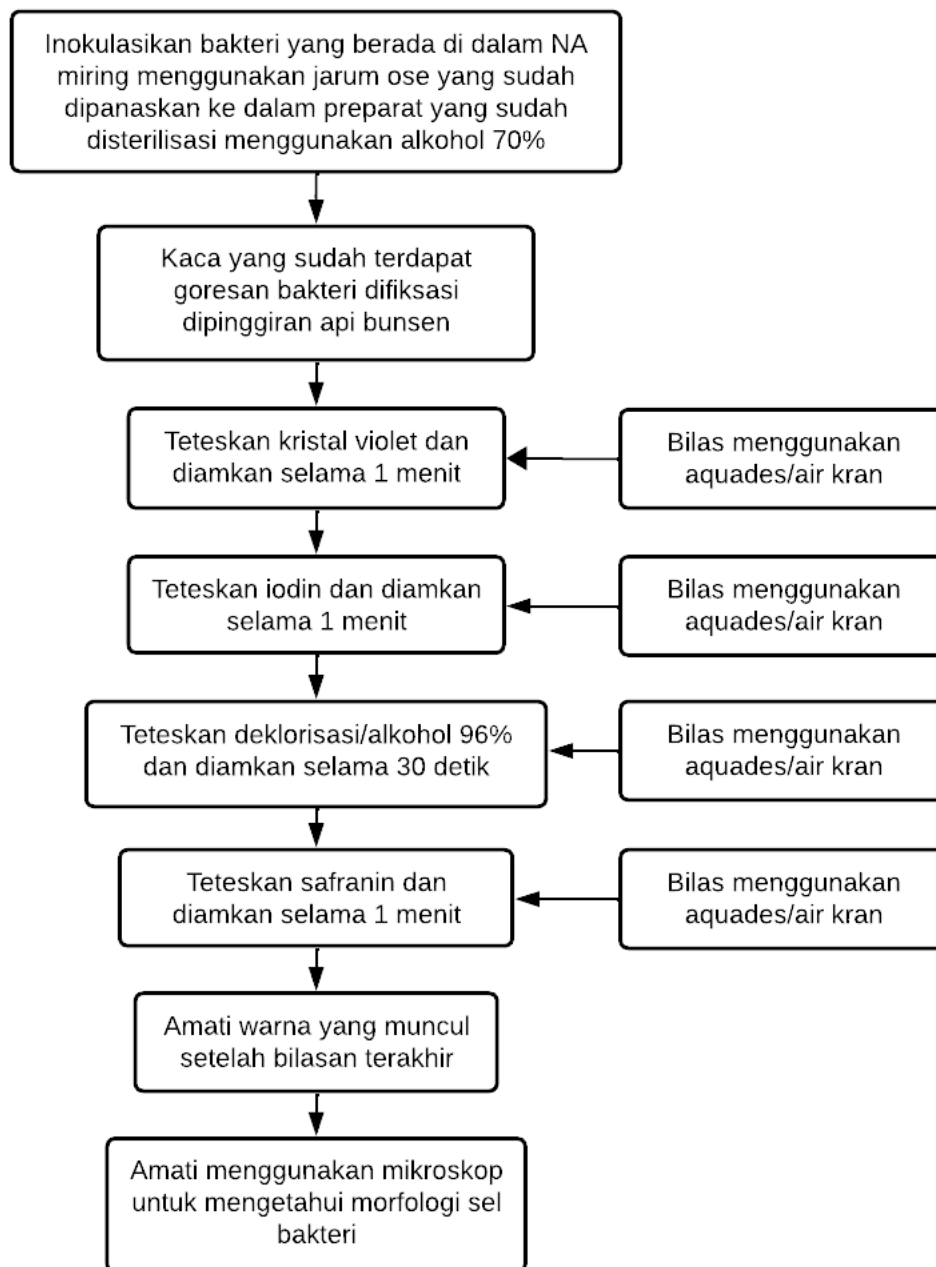
Sebelum dilakukan proses karakterisasi bakteri yaitu dilakukannya proses pewarnaan gram yang bertujuan untuk mengetahui sifat gram dan morfologi bakteri yang dikarakterisasi. Pada proses pewarnaan gram, terdapat 4 jenis reagen yang digunakan, yaitu Kristal violet, iodine, alkohol dan safranin. Proses pewarnaan gram diawali dengan pengambilan isolat bakteri di dalam NA miring menggunakan jarum ose yang sudah dipanaskan, kemudian isolat bakteri diinokulasikan di kaca preparat yang sudah disterilkan menggunakan alkohol 70%. Kaca preparat yang sudah terdapat olesan bakteri tersebut difiksasi di pinggiran api bunsen. Selanjutnya ditetaskan kristal violet sebanyak 3 – 5 tetes diamkan selama 1 menit, setelah itu bilas menggunakan aquades/ air kran, teteskan iodine diamkan selama 1 menit kemudian bilas menggunakan aquades/ air kran, teteskan dekolorisasi/alkohol 96% diamkan selama 30 detik lalu bilas menggunakan aquades/ air kran, teteskan safranin diamkan selama 1 menit lalu bilas menggunakan aquades/ air kran. Kemudian melihat bentuk morfologi bakteri menggunakan mikroskop perbesaran 40x.

Terdapat dua kelompok pada bakteri yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Pada proses pewarnaan gram, hasil yang didapat ditentukan dari komposisi dinding sel bakteri, yaitu ketika ditambahkan dengan pewarnaan Kristal violet maka dinding sel bakteri Gram positif maupun Gram negatif akan menyerap zat warna tersebut akan tetapi ketika diberi alkohol, kristal violet pada Gram negatif akan luntur dikarenakan pada struktur dinding selnya yang sebagian besar tersusun oleh lipid, sehingga jika diberi safranin (zat warna kedua) dinding sel bakteri Gram negatif akan menyerapnya kembali dan membuat hasil pewarnaan bakteri Gram negatif berwarna merah, sedangkan untuk bakteri Gram positif akan tetap berwarna ungu walaupun diberi safranin (zat warna kedua), dikarenakan dinding selnya tersusun oleh lapisan peptidoglikan yang tebal sehingga tidak dapat dicuci oleh alkohol (Mahmudah *et al.*, 2016).

Beberapa bentuk yang dimiliki oleh bakteri yaitu berbentuk bulat/bola, berbentuk batang dan berbentuk melilit. Pada setiap bentuk bakteri memiliki pembeda atau macam. Bakteri berbentuk bulat/bola memiliki macam seperti, *monokokus* (tunggal), *diplokokus* (berpasangan), *sarkina* (berkelompok 4 bola

seperti kubus), *streptokokus* (membentuk untaian), *stafilokokus* (membentuk seperti buah anggur). Macam-macam bakteri berbentuk batang berupa *basil tunggal*, *diplobasil* (bergandengan dua-dua), *streptobasil* (membentuk rantai). Sedangkan macam bakteri berbentuk melilit berupa *spiral* (sel tubuhnya umumnya kaku (misal, *spirillum* yaitu sel tunggal dengan flagella)), *vibrio* (bentuk spiral tak sempurna atau seperti bentuk koma), dan *spirochaeta* (spiral halus dan lentur) (Holderman *et al.*, 2017).

Berikut merupakan diagram alir tahapan yang dilakukan pada saat proses karakterisasi morfologi bakteri menggunakan pewarnaan gram dapat dilihat pada **Gambar 9**.



Gambar 9 Proses karakterisasi morfologi bakteri menggunakan pewarnaan gram

3.5.8 Bioremediasi Logam Timbal (Pb) Menggunakan Bakteri

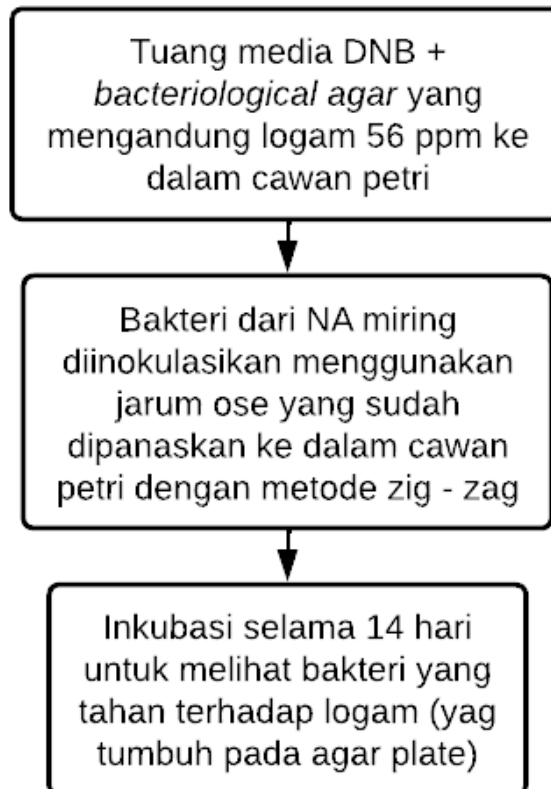
Pada proses bioremediasi logam timbal (Pb) sampel bakteri yang diuji dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang sudah terisikan dengan media DNB cair dan larutan logam timbal menggunakan 2 konsentrasi yaitu 56 ppm dan 61 ppm

yang dilakukan secara duplo. Konsentrasi yang digunakan mengacu pada penelitian (Priyadarshane & Das, 2021) dengan konsentrasi logam Pb sebesar (25, 50, 100, dan 150 ppm) (Irianto, 2016). Pada penelitian terdahulu, didapati kandungan logam timbal yang berada di dalam tanah TPA Piyungan rata – rata sebesar 42,13 ppm (Chalid, 2022). Kemudian larutan yang sudah disiapkan tersebut diinkubasi di dalam incubator shaker (100 rpm) selama 14 hari pada suhu 30°C (Priyadarshane *et al.*, 2021).

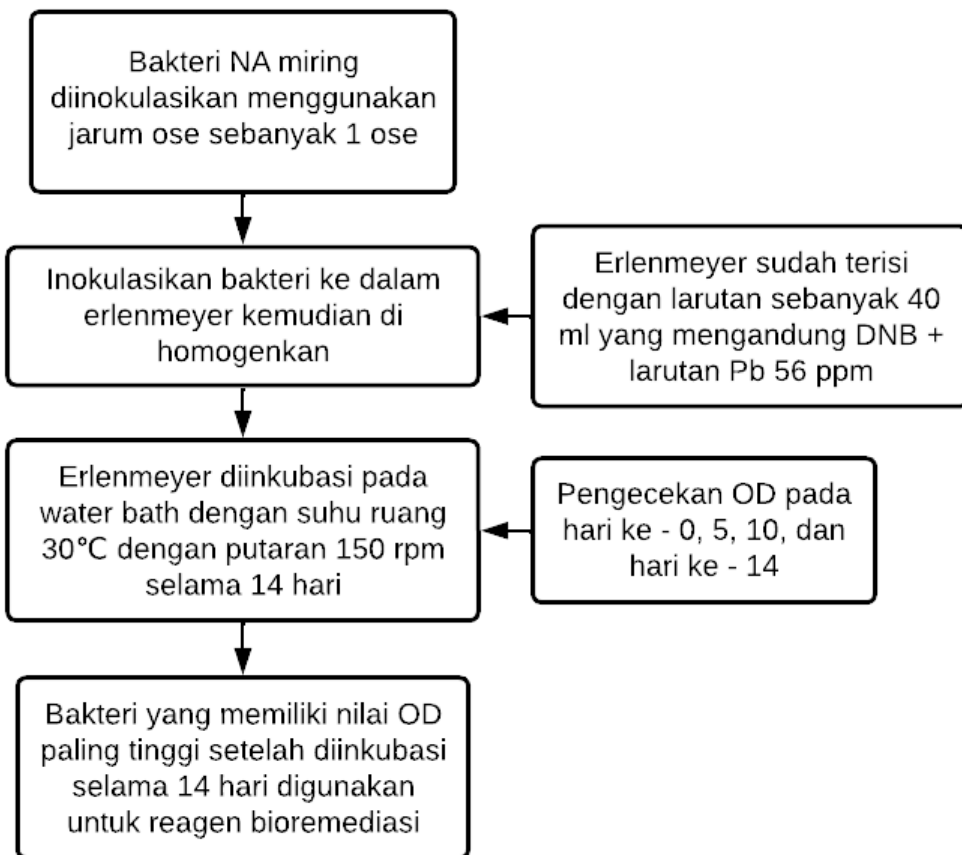
Sebelum melakukan pengujian bioremediasi, dilakukan seleksi bakteri dari beberapa hasil isolasi bakteri tanah TPA Piyungan. Seleksi bakteri dilakukan pada media cair DNB (*Dilute Nutrient Broth*) kemudian dicampur dengan larutan logam timbal (Pb) dengan konsentrasi paling kecil yaitu 56 ppm. Bakteri yang digunakan untuk seleksi bakteri merupakan bakteri yang tumbuh pada percobaan uji tantang logam menggunakan plate agar, yang berisi dengan larutan DNB + *bacteriological agar 2%* + larutan logam timbal (Pb) 56 ppm. Bakteri yang terpilih menjadi agen bioremediasi dari seleksi bakteri merupakan bakteri yang memiliki kekeruhan atau nilai OD (*Optical Density*) tertinggi pada saat uji tantang bakteri terhadap logam timbal (Sholikah, *et al.*, 2012). Uji OD dilakukan untuk menguji kekeruhan pada larutan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 610 nm (Lewaru *et al.*, 2012).

Pada uji bioremediasi, bakteri yang memiliki nilai OD tertinggi pada seleksi bakteri, yaitu sampel A1 diambil 4 ml kemudian dimasukkan ke dalam masing – masing erlenmeyer yang didalamnya sudah terisi dengan 40 ml media DNB dan logam timbal dengan konsentrasi 56 ppm dan 61 ppm dan juga dilakukan secara duplo. Setelah proses tersebut seluruh erlenmeyer diinkubasi di dalam *shaker* dengan suhu ruangan selama 14 hari. Selama masa inkubasi untuk bioremediasi, setiap erlenmeyer akan diambil 2 ml untuk pengecekan nilai OD, dan juga 3 ml untuk uji logam di dalam AAS, kemudian 1 ml untuk uji aktivitas bakteri di dalam plate agar menggunakan metode *pour plate*. Proses pengecekan uji bioremediasi dilakukan pada hari ke- 0, 5, 10, dan hari ke- 14. Berikut merupakan diagram alir tahapan yang dilakukan pada saat proses seleksi bakteri

menggunakan media padat dan media cair, dapat dilihat pada **Gambar 10** dan **Gambar 11**.

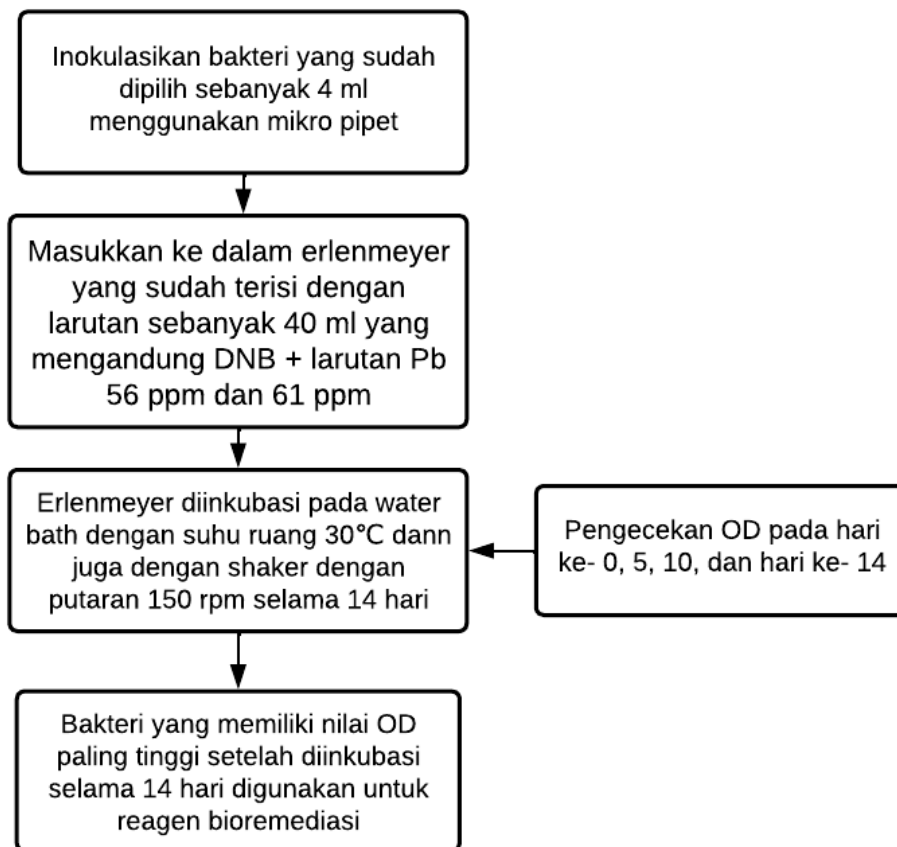


Gambar 10 Proses seleksi bakteri pada media DNB + *bacteriological agar*



Gambar 11 Proses seleksi bakteri pada media cair

Setelah proses seleksi bakteri pada media cair dan padat maka didapati hasil bakteri yang digunakan untuk agen bioremediasi terhadap logam timbal. Berikut merupakan diagram alir tahapan yang dilakukan pada saat proses bioremediasi logam timbal menggunakan bakteri, dapat dilihat pada **Gambar 12**.



Gambar 12 Proses bioremediasi logam timbal (Pb) menggunakan bakteri

Pada masa pertumbuhan bakteri jumlah atau volume dan ukuran sel, bakteri sendiri dapat berkembang biak dengan cepat apabila bakteri tersebut tumbuh dengan keadaan yang menguntungkan. Pada proses pertumbuhan sel bakteri diikuti dengan pola pertumbuhan berupa kurva tumbuh. Kurva pertumbuhan bakteri sendiri dibagi menjadi 4 fase yaitu (Hardisari & Lestari., 2019):

1. Fase Lag (fase penyesuaian)
Merupakan fase penyesuaian bakteri terhadap lingkungan yang baru. Rentan waktu pada fase lag bervariasi, tergantung dengan komposisi, media, pH, suhu, aerasi, dan jumlah sel terhadap inokulum awal.
2. Fase Logaritma/ Eksponensial

Merupakan fase yang ditandai dengan terjadinya pertumbuhan yang cepat. Setiap sel bakteri dalam populasi membelah menjadi dua sel. Pada fase ini pertumbuhan bakteri sangat dipengaruhi dengan sifat genetic yang diturunkannya.

3. Fase Stasioner

Merupakan fase yang ditandai dengan laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya, yang menyebabkan jumlah bakteri akan tetap. Hal ini terjadi karena terdapat pengurangan derajat pembelahan sel.

4. Fase Kematian

Merupakan fase yang ditandai dengan terjadinya laju kematian bakteri lebih besar.

3.5.9 Uji Kadar Logam Menggunakan Alat *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS)

Mengacu pada SNI Cara uji timbal (Pb) dengan Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) – nyala, metode ini digunakan untuk penentuan logam timbal (Pb) di dalam air dan air limbah secara spektrofotometri serapan atom-nyala (SSA). Untuk prosedur dan pembuatan kurva kalibrasi yaitu optimalkan alat SSA sesuai dengan petunjuk pada penggunaan alat, ukur masing – masing larutan kerja yang telah dibuat pada panjang gelombang 283,3 nm, buat kurva kalibrasi untuk mendapatkan persamaan garis regresi.

Sebelum dilakukan pengujian bioremediasi logam menggunakan AAS, lakukan pengawetan terlebih dahulu sesuai dengan SNI 06 – 6989. 8 – 2004 tentang Air dan Air Limbah – Bagian 8: Cara Uji Timbal (Pb) dengan Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) – nyala. Mengacu pada SNI, larutan bioremediasi logam diawetkan terlebih dahulu dengan menambahkan HNO₃ hingga pH < 2, sehingga dapat tersimpan hingga 6 bulan. Larutan bioremediasi sebelum diuji AAS masih mengandung TSS (*Total Suspended Solid*) dari bakteri sebagai agen bioremediasi, maka dilakukan penyaringan terlebih dahulu menggunakan kertas saring ukuran pori θ 0,42 μ m. Adapun perhitungan konsentrasi logam yaitu sebagai berikut:

$$Pb (mg/L) = C \times fp$$

Dimana:

C = konsentrasi yang didapat dari hasil pengukuran (mg/L);

fp = faktor pengenceran

3.5.10 Analisis Data Penelitian

Menurut (Azizah & Soesetyaningsih, 2020) Pada perhitungan jumlah koloni bakteri pada sampel terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan :

1. Cawan yang dipilih dan dihitung merupakan cawan yang didalamnya mengandung jumlah koloni antara 30 – 300 CFU/g. akan tetapi ketika jumlah koloni pada tiap sampel lebih dari 300 CFU/g dikategorikan sebagai terlalu banyak untuk dihitung (TBUD) atau too numerous to count (TNTC).
2. Koloni yang tumbuh dengan bentuk gabungan menjadi satu atau satu deret rantai koloni yang terikat maka dihitung sebagai satu koloni.
3. Pertumbuhan koloni bakteri yang menutupi lebih besar dari setengah luas cawan petri, tidak termasuk sebagai koloni melainkan *spreader*.
4. Hasil dari perbandingan jumlah koloni bakteri dari hasil pengenceran berturut – turut antara pengenceran yang lebih besar dengan pengenceran terkecil yaitu < 2 maka hasilnya dirata – rata. Akan tetapi jika hasilnya ≥ 2 , maka menggunakan jumlah koloni bakteri dari hasil pengenceran terkecil.

Pada proses analisis data untuk densitas koloni bakteri yang telah ditumbuhkan melalui inkubasi selama 2 minggu dilakukan perhitungan koloni bakteri pada cawan petri yang sudah terisi dengan media DNB dan larutan pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , dan 10^{-8} . Yang mana hasil perhitungan tersebut akan dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Nufus *et al.*, 2016):

$$\text{Total bakteri} = \text{jumlah koloni bakteri} \times \frac{1}{\text{pengenceran}}$$

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Terdapat 4 tahapan dalam pelaksanaan penelitian tugas akhir ini yaitu, pengambilan sampel tanah, isolasi bakteri, karakterisasi bakteri, dan uji biodegradasi logam timbal oleh bakteri yang sudah terpilih. Berikut merupakan hasil dari karakterisasi bakteri dan uji kemampuan bakteri sebagai agen bioremediasi logam timbal (Pb).

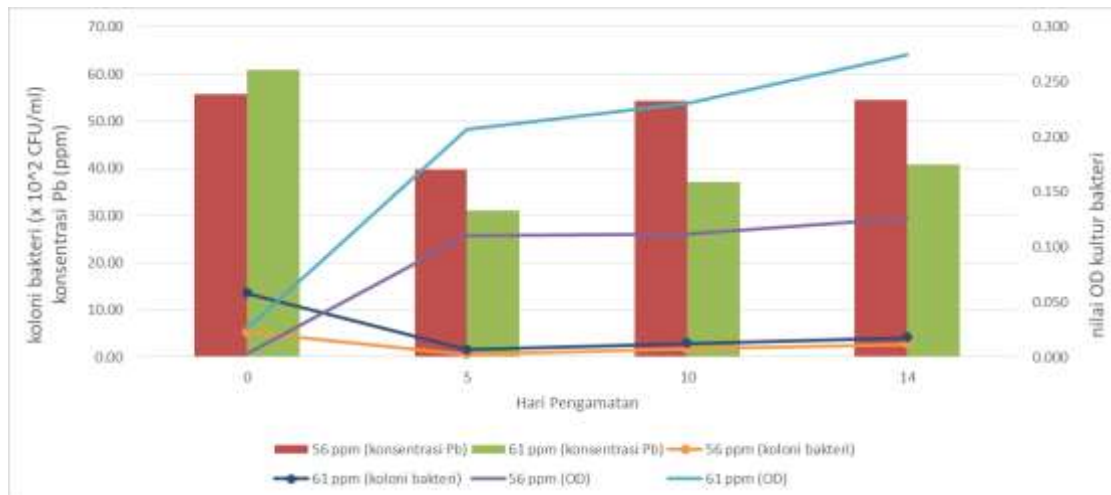
4.1 Karakterisasi Bakteri pada Sampel Tanah TPA Piyungan

Proses pengambilan sampel tanah dilakukan pada tanggal 20 Maret 2023 di TPA Piyungan, Bantul. Pada pengambilan sampel tanah terdapat 3 titik utama yang memiliki jarak cukup jauh dengan setiap titik utama memiliki 3 titik cabang dengan jarak masing – masing 1 meter dengan kedalaman 40 cm. Maka jumlah titik sampling yang diambil terdapat 9 titik sampling. Pada saat pengambilan sampel tanah kondisi cuaca awalnya cerah, kemudian turun hujan dengan durasi yang sebentar, setelah itu cuaca mulai cerah kembali.

Pada lokasi titik sampling 1, memiliki kondisi tanah yang sudah ditumbuhi dengan rerumputan pada titik ini tanah berada di dataran dan tanah memiliki kondisi tanah yang keras pada saat di bor menggunakan bor tanah. Pada lokasi titik sampling 2, kondisi tanah tidak ditumbuhi dengan rumput dan titik sampling ini berada di dekat aliran lindi yang mengalir pada titik ini kondisi tanah berada di lereng tanah yang cukup curam dan terdapat beberapa sampah di permukaan tanah. Sampel tanah yang diambil menggunakan bor tanah memiliki kondisi tanah yang lengket dikarenakan pada pengambilan sampel tanah di titik 2 dilakukan setelah hujan. Pada lokasi titik sampling 3, kondisi tanah tidak ditumbuhi dengan rerumputan pada titik ini kondisi tanah berada di tanah yang landai dan memiliki kondisi tanah yang cukup gembur jika dibandingkan dengan kondisi tanah pada titik sampling 1 dan 2.

4.2 Uji Bioremediasi Logam Timbal

Berikut merupakan hasil dari uji nilai OD, hasil uji konsentrasi logam Pb menggunakan AAS, dan jumlah koloni yang tumbuh pada *agar plate*, dapat dilihat pada **Gambar 13**.



Gambar 13 Grafik hasil bioremediasi oleh bakteri A1 terhadap logam Pb

Dapat dilihat pada grafik di atas didapati hasil uji nilai OD, hasil uji konsentrasi logam Pb menggunakan AAS, dan jumlah koloni yang sudah tumbuh pada *agar plate*. Hasil nilai uji OD sendiri bertujuan untuk mengetahui fase kehidupan bakteri. Bakteri sendiri memiliki 4 fase kehidupan yaitu, fase lag, fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian Hardisari & Lestari., 2019). Diawali dengan konsentrasi 56 ppm pada hari ke- 0 sampai dengan hari ke- 10 mengalami fase lag atau fase penyesuaian pada lingkungan yang baru ditandai dengan peningkatan pertumbuhan bakteri yang lambat, kemudian masuk ke dalam fase eksponensial fase dimana ditandai dengan peningkatan pada pertumbuhan bakteri pada hari ke- 10 menuju hari ke- 14 pada konsentrasi 56 ppm memasuki fase eksponensial.

Kemudian dilanjut dengan konsentrasi 61 ppm, pada hari ke- 0 sampai dengan hari ke 10 mengalami fase lag atau fase penyesuaian pada lingkungan yang baru ditandai dengan peningkatan pertumbuhan bakteri yang lambat, kemudian masuk ke dalam fase eksponensial fase dimana ditandai dengan peningkatan pada pertumbuhan bakteri pada hari ke- 10 menuju hari ke- 14 pada

konsentrasi 61 ppm memasuki fase eksponensial. Dapat disimpulkan bahwa pertumbuhan bakteri pada proses bioremediasi dengan kedua konsentrasi 56 ppm dan 61 ppm memiliki fase pertumbuhan bakteri yang hampir sama.

Untuk hasil pertumbuhan bakteri pada *agar plate* terjadi penurunan dari hari ke- 0 sampai dengan hari ke- 14, akan tetapi pada nilai OD terjadi kenaikan dikarenakan logam yang digunakan untuk diremediasi mengendap sehingga membuat larutan menjadi keruh dan juga dikarenakan bakteri yang telah mati kemudian mengendap.

Selanjutnya untuk hasil uji konsentrasi logam Pb menggunakan AAS. Untuk data hasil uji konsentrasi logam Pb menggunakan AAS dapat dilihat pada **Lampiran 2**. Pada grafik diatas untuk nilai konsentrasi 56 ppm mengalami masa penurunan pada hari ke- 5 akan tetapi pada hari ke- 10 dan hari ke- 14 mengalami kenaikan. Untuk konsentrasi 61 ppm pada hari ke- 5 mengalami masa penurunan sedangkan untuk hari ke- 10 dan hari ke- 14 mengalami kenaikan. Untuk kedua konsentrasi tersebut dapat disimpulkan bahwa pada hari ke- 5 mengalami penurunan dan untuk hari ke- 10 dan hari ke- 14 mengalami kenaikan. Pada saat proses bioremediasi logam mengalami kenaikan dikarenakan waktu inkubasi terlalu lama yang mengakibatkan kemampuan biosorpsi pada bakteri mengalami penurunan, sehingga kurangnya kecenderungan bakteri dalam mengikat logam yang berada disekitarnya bahkan bakteri cenderung mengeluarkan kembali logam yang telah diabsorpsi (Khoiroh, 2014).

4.3 Proses Pemilihan Bakteri Untuk Bioremediasi Terhadap Logam Pb

Untuk proses bioremediasi bakteri yang digunakan telah melalui proses isolasi, karakterisasi koloni bakteri, karakterisasi morfologi sel bakteri, dan seleksi bakteri.

4.3.1 Isolasi dan Identifikasi Jumlah Koloni Bakteri

Menghitung koloni bakteri yang sudah tumbuh di dalam cawan petri dengan media minim nutrisi atau DNB (*Dilute Nutrient Broth*) + *bacteriological agar* sebanyak 3% dicampur dengan tanah yang sudah diencerkan 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , dan 10^{-8} di setiap masing – masing cawan petri dituang menggunakan metode

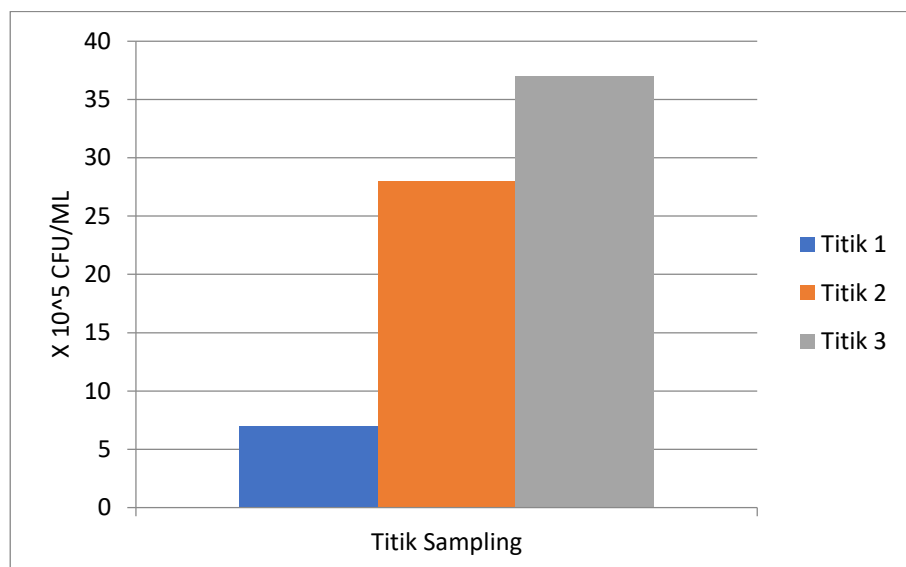
pour plate kemudian diisolasi di inkubator dengan suhu 30°C dalam kurun waktu 14 hari. Pada ketiga titik sampling tanah mengandung bakteri, akan tetapi bakteri yang berhasil tumbuh hanya pada pengenceran 10^{-5} dan 10^{-6} . Lokasi titik sampling 3 merupakan lokasi yang pertumbuhan koloni bakterinya paling tinggi, sedangkan untuk pertumbuhan koloni bakteri paling sedikit ada pada titik sampling 1. Berikut merupakan jumlah koloni bakteri yang sudah di dapat, dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2 Jumlah koloni bakteri

Titik Sampling	Pengenceran	Jumlah Koloni	TPC (CFU/ml)	Keterangan
1.1	10^{-5}	7	7×10^5	$7 < 30$
1.2	10^{-5}	3		$3 < 30$
2.1	10^{-5}	21	28×10^5	$21 < 30$
2.2	10^{-5}	28		$28 < 30$
	10^{-6}	2		$2 < 30$
3.1	10^{-5}	30	37×10^5	$30 = 30$
	10^{-6}	2		$2 < 30$
3.2	10^{-5}	44		$44 > 30$

Sumber: Hasil Penelitian

Berikut merupakan jumlah koloni yang terdapat di tiga titik sampling, dapat dilihat pada **Gambar 14**.



Gambar 14 Total koloni bakteri dari masing-masing titik sampling

Berdasarkan gambar di atas, jumlah koloni bakteri yang pertumbuhannya paling banyak terletak pada titik 3 yang memiliki jumlah 37×10^5 CFU/ml. sedangkan untuk jumlah koloni bakteri yang pertumbuhannya paling sedikit terletak pada titik 1 dengan jumlah 7×10^5 CFU/ml. Menurut (Wibowo, 2012) pada jurnal (Supriatin & Rahayyu, 2016), pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh berbagai faktor yang berasal dari zat kimiawi (beberapa unsur logam, pH, suhu, waktu). Berdasarkan pH, bakteri dibagi menjadi 3 golongan yaitu, bakteri asidofil bakteri yang tumbuh pada pH antara 2,0 – 5,0, bakteri mesofil dapat tumbuh pada pH antara 5,5 – 8, bakteri alkalifil bakteri yang dapat tumbuh pada pH antara 8,5 - 9,5 (Pratiwi, 2018).

Berdasarkan rentang suhu dimana terjadinya pertumbuhan, bakteri dibagi menjadi 3 yaitu, Psikrofilik -5°C sampai 30°C , optimum pada 10°C - 20°C , Mesofilik, 10°C - 45°C , optimum pada 20°C - 40°C , dan Termofilik, 25°C - 80°C , optimum pada 50°C - 60°C . Pada pertumbuhan bakteri jika bakteri tumbuh di dalam suhu yang sangat tinggi mengakibatkan kematian pada bakteri dikarenakan terjadinya denaturasi yang tidak dapat dipulihkan (*irreversible*) (Riskawati, 2016), sementara untuk suhu yang sangat rendah akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan karena terganggunya proses pada transport nutrient (Putri, 2022). Selain itu tanah yang memiliki pori yang lebar memiliki kandungan

oksigen yang tinggi sehingga dapat merangsang pertumbuhan bakteri pada tanah (Awaluddin & Tangahu, 2020). Pada hasil dari pertumbuhan koloni. Dapat disimpulkan pada perbedaan jumlah koloni di setiap titik sampling dikarenakan pengaruh dari kondisi tanah.

4.3.2 Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri

Pada karakterisasi morfologi koloni bakteri dilakukan pengamatan menggunakan mata atau bantuan kaca pembesar pada *colony counter*. Secara morfologi, koloni bakteri dibagi beberapa kelompok berdasarkan bentuk, *margin*, elevasi, dan ukuran (Mahmudah *et al.*, 2016). Hasil karakterisasi morfologi koloni bakteri yang telah diamati dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3 Hasil karakterisasi morfologi koloni bakteri

Titik	Pengenceran	Warna	Bentuk	Margin	Elevasi
1.1	10^{-5}	Putih	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>
			<i>Spindle</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>
		Orange	<i>Spindle</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>
1.2	10^{-5}	Putih	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>
		Orange	<i>Spindle</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>
2.1	10^{-5}	Putih	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>
			<i>Spindle</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>
2.2	10^{-5}	Putih	<i>Spindle</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>
	10^{-6}	Putih	<i>Spindle</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>
		Orange	<i>Spindle</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>
3.1	10^{-5}	Putih	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>
			<i>Spindle</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>
		Orange	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>
	10^{-6}	Putih	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>
3.2	10^{-5}	Putih	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>
			<i>Spindle</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>
		Orange	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>


Sumber: Hasil Penelitian

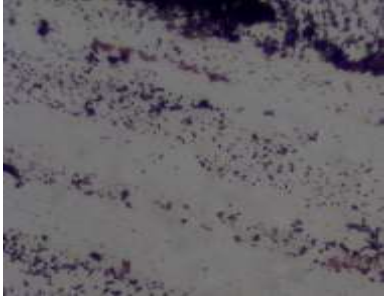



Isolat bakteri yang telah dijelaskan karakteristik morfologi koloni diambil yang dominan dan dibuat *stock* pada NA miring. Selanjutnya, dilakukan proses pewarnaan gram pada *stock* bakteri yang tumbuh di NA miring yaitu untuk mengetahui karakterisasi morfologi sel bakteri. Terdapat bakteri yang tidak tumbuh pada saat dipindahkan ke dalam NA miring sehingga tidak digunakan sebagai agen pada proses seleksi bakteri untuk bioremediasi.




4.3.3 Karakterisasi Morfologi Sel Bakteri

Tujuan dari pewarnaan gram sendiri yaitu untuk mengetahui golongan bakteri ketika bakteri gram positif akan berwarna ungu sedangkan untuk bakteri gram negatif akan berwarna merah (Fitri & Yasmin, 2011). Setelah dilakukan pewarnaan gram, dilakukan karakterisasi morfologi sel menggunakan mikroskop. Bentuk bakteri apakah berbentuk bulat (*coccus*), batang (*bacil*), dan bergelombang (*spiral*) (Mahmudah *et al.*, 2016). Berikut merupakan hasil dari karakterisasi morfologi sel bakteri dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 4 Hasil karakterisasi morfologi sel bakteri

No.	Bakteri	Jenis Bakteri Gram	Bentuk Bakteri	Foto
1	1.1 10 ⁻⁵ (putih)	Gram negatif	<i>Coccus</i>	
2	1.2 10 ⁻⁵ (orange)	Gram positif	<i>Coccus</i>	

				
3	$1.2 \cdot 10^{-5}$ (putih)	Gram negatif	<i>Bacil</i>	
4	$2.1 \cdot 10^{-5}$ (putih)	Gram negatif	<i>Coccus</i>	
5	$2.2 \cdot 10^{-6}$ (orange)	Gram positif	<i>Coccus</i>	
6	$2.2 \cdot 10^{-6}$ (putih)	Gram negatif	<i>Coccus</i>	

				
7	$3.1 \cdot 10^{-5}$ (orange)	Gram positif	<i>Coccus</i>	
8	$3.1 \cdot 10^{-5}$ (putih)	Gram negatif	<i>Bacil</i>	

Sumber: Hasil Penelitian

Dapat disimpulkan berdasarkan hasil karakterisasi morfologi sel bakteri, terdapat 3 isolat dengan jenis bakteri gram negatif dan berbentuk *coccus*, 3 isolat dengan jenis bakteri gram positif dan berbentuk *coccus*, serta 2 isolat dengan jenis bakteri gram negatif dan berbentuk *Bacil*.

4.3.4 Seleksi Bakteri

Pada proses seleksi bakteri terdapat 2 tahap yang harus dilakukan. Pada tahap pertama menggunakan media padat dan tahap kedua menggunakan media cair. Pada tahap pertama seleksi bakteri menggunakan media padat, bakteri yang sudah tumbuh di dalam NA miring diinokulasikan di plate agar yang di dalamnya

mengandung media DNB + *bacteriological agar 2%* + larutan Pb 56 ppm kemudian diinkubasi selama 14 hari. Didapati hasil dari inkubasi selama 14 hari yaitu terdapat 4 jenis isolate dengan konsentrasi logam sebesar 56 ppm isolate A1, A2, A3, dan A4 tumbuh pada ujiantang logam timbal, sedangkan untuk isolate A5, A6, A7, A8 tidak mengalami pertumbuhan koloni.

Tahap kedua pada seleksi bakteri menggunakan media DNB (*Dilute Nutrient Broth*) + larutan logam 56 ppm, didapati hasil OD dari seleksi bakteri selama 12 hari maka bakteri yang digunakan sebagai agen untuk bioremediasi merupakan bakteri yang memiliki nilai OD tertinggi, yaitu pada bakteri A1 yang merupakan bakteri dari titik sampling 3 dengan pengenceran 10^{-5} dengan koloni bakteri berwarna orange, jenis bakteri *coccus* gram positif dengan nilai OD sebesar 0,229.

4.4 Pengaplikasian Bioremediasi Logam Pb Menggunakan Bakteri Pada Skala Besar

Metode Bioaugmentasi merupakan proses bioremediasi dengan cara menambahkan bakteri ke dalam lingkungan yang tercemar. Dengan melakukan metode ini, dapat meningkatkan kapasitas media tercemar dengan cara mengubah senyawa pencemar dari yang bersifat toksik menjadi tidak toksik, sehingga dapat mengurangi dampaknya terhadap lingkungan. Bioaugmentasi dipilih karena merupakan alternatif penyisihan kontaminan yang efektif, murah, mudah dilakukan, dan ramah lingkungan karena tidak menambahkan bahan kimia yang bisa mencemari lingkungan. Salah satu mikroorganisme yang dapat digunakan untuk bioaugmentasi logam berat timbal adalah bakteri. Bakteri merupakan sel prokariotik, uniseluler, bereproduksi dengan membelah diri, dan habitatnya beragam. Bakteri memiliki fungsi mendegradasi yaitu menurunkan, memecahkan, serta menguraikan rangkaian kompleks menjadi lebih sederhana. Teknik bioaugmentasi sangat cocok digunakan untuk menghilangkan pencemar logam berat di dalam sedimen dengan melakukan penambahan mikroorganisme berupa bakteri (Rahayu & Mangkoediharjo 2022).

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh peneliti diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Bakteri terpilih yakni A1 mampu meremediasi kandungan logam berat yang terbukti adanya pertumbuhan bakteri pada media yang mengandung logam timbal serta pada agar plate yang menunjukkan aktivitas pada bakteri.
2. Proses bioremediasi menggunakan bakteri A₁ yang telah melewati uji tantang pada logam timbal (Pb), pada konsentrasi 56 ppm terjadi removal logam Pb sebesar 29%, sedangkan pada 61 ppm terjadi removal logam Pb sebesar 49%.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh peneliti, berikut saran yang dapat diberikan, yaitu:

1. Perlu dilakukan pengecekan nilai uji OD secara berkala agar dapat mengetahui perkembangan fase kehidupan bakteri secara mendetail.
2. Perlu dilakukan pengecekan AAS larutan logam timbal pada saat dilakukannya penelitian.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Gheethi, A. A., Norli, I., Lalung, J., Megat Azlan, A., Nur Farehah, Z. A., & Ab. Kadir, M. O. (2014). Biosorption of heavy metals and cephalixin from secondary effluents by tolerant bacteria. *Clean Technologies and Environmental Policy*, *16*, 137-148.
- Amaral, J. H., Rezende, V. B., Quintana, S. M., Gerlach, R. F., Barbosa Jr, F., & Tanus-Santos, J. E. (2010). The relationship between blood and serum lead levels in peripartum women and their respective umbilical cords. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, *107*(6), 971-975.
- Arifin, M., Putri, N. D., Sandrawati, A., & Harryanto, R. (2018). Pengaruh posisi lereng terhadap sifat fisika dan kimia tanah pada inceptisols di Jatinangor. *soilrens*, *16*(2).
- Ariyanto. 2009. Ilmu tanah. [internet]. Diunduh pada 25 September 2023. Tersedia pada <http://ariyanto.staff.uns.ac.id/files/2009/06/Bab-01-Pendahuluan.pdf>.
- Awaluddin, M., & Tangahu, B. V. (2021). Studi Literatur Bioremediasi Tanah Terkontaminasi Kromium di Kecamatan Jetis, Kabupaten Mojokerto Menggunakan Bakteri Azotobacter S8 dan Bacillus substillis. *Jurnal Teknik ITS*, *9*(2), F185-F190.
- Batubara, U. M., Susilawati, I. O., & Riany, H. (2015). Isolasi dan karakterisasi bakteri indigenus tanah di kawasan kampus Universitas Jambi. *SEMIRATA* 2015, *4*(1).
- Chalid, L. M. F. (2022). Analisis Kandungan Logam Berat Cd, Cu Dan Pb Menggunakan Metode Spektrometer Serapan Atom Pada Tanah Tpa Piyungan, Bantul.
- Darmono. (2006). Lingkungan hidup dan pencemaran: hubungannya dengan toksikologi senyawa logam: Universitas Indonesia.
- Dixit, R., Wasiullah, X., Malaviya, D., Pandiyan, K., Singh, U. B., Sahu, A., ... & Paul, D. (2015). Bioremediation of heavy metals from soil and aquatic environment: an overview of principles and criteria of fundamental processes. *Sustainability*, *7*(2), 2189-2212.

- Effendi, F., Tresnaningsih, E., Sulistomo, A. W., Wibowo, S., & Hudoyo, K. S. (2012). Penyakit Akibat Kerja Karena Paparan Logam Berat. *Jakarta: Direktorat Bina Kesehatan Kerja dan Olahraga Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*.
- Estioningsih, Y. (2014). Remediasi Air Terkontaminasi Logam Berat Dengan Nanopartikel Magnetik-Kitosan. *Doctoral Dissertation*. Universitas Airlangga.
- Ekamaida, E. (2017). Counting Total Bacteria In Land Organic Waste Household and Land Inorganic With Total Plate Count Method (TPC). *Jurnal Penelitian Agrisamudra*, 4(2), 87-91.
- Fitri, L., & Yasmin, Y. (2011). Isolasi dan pengamatan morfologi koloni bakteri kitinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*. 3(2), 20-25.
- Gandjar, I. (2006). Mikologi dasar dan terapan. Yayasan Obor Indonesia.
- Gusnita, D. (2012). Pencemaran logam berat timbal (Pb) di udara dan upaya penghapusan bensin bertimbal. *Berita Dirgantara*, 13(3).
- Hanafiah, A. S., Sabrina, T., & Guchi, H. (2009). Biologi dan ekologi tanah. Universitas Sumatera Utara. Medan, 184.
- Holderman, M. V., de Queljoe, E., & Rondonuwu, S. B. (2017). Identifikasi bakteri pada pegangan eskalator di salah satu pusat perbelanjaan di kota Manado. *Jurnal Ilmiah Sains*, 17(1), 13-18.
- Indonesia, S. N. (2004). Air dan air limbah—Bagian 8: Cara uji timbal (Pb) dengan Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)-nyala. SNI 06-6989.8-2004.
- Irianto, K. (2006). Mikrobiologi menguak dunia mikroorganisme. Bandung. *Yrama Widya*.
- Januar, W., Khotimah, S., & Mulyadi, A. (2013). Kemampuan Isolat Bakteri Pendegradasi Lipid dari Instalasi Pengolahan Limbah Cair PPKS PTPN-XIII Ngabang Kabupaten Landak. *Jurnal Protobiont*, 2(3).
- Kasam, I. (2011). Analisis resiko lingkungan pada tempat pembuangan akhir (TPA) sampah (Studi kasus: TPA Piyungan Bantul). *Jurnal Sains & Teknologi Lingkungan*, 3(1), 19-30.

- Khoiroh, Z. (2014). Bioremediasi logam berat timbal (Pb) dalam lumpur Lapindo menggunakan campuran bakteri (*Pseudomonas pseudomallei* dan *Pseudomonas aeruginosa*). *Doctoral dissertation*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Lestari, P. B. (2016). Biodegradasi Limbah Cair Tahu Dari Mikroorganisme Indigen Sebagai Bahan Ajar Mikrobiologi Lingkungan Di Perguruan Tinggi. *JEMS: Jurnal Edukasi Matematika dan Sains*, 2(1), 84-94.
- Lestari, W., Ariyanti, N., Pandu, J., Saifuddin, F., Utama, W., Bahri, A. S., & Wijaya, I. P. K. (2018). Studi kelayakan perangkap CO₂ berdasarkan analisa fisik sedimen (studi kasus: formasi kabuh, cekungan Jawa Timur Utara). *IPTEK Journal of Proceedings Series*, (2).
- Lestari, W., Ariyanti, N., Pandu, J., Saifuddin, F., Utama, W., Bahri, A. S., & Wijaya, I. P. K. (2018). Studi kelayakan perangkap CO₂ berdasarkan analisa fisik sedimen (studi kasus: formasi kabuh, cekungan Jawa Timur Utara). *IPTEK Journal of Proceedings Series*, (2).
- Lewaru, S., Riyantini, I., & Mulyani, Y. (2012). Identifikasi bakteri indigenous pereduksi logam berat Cr (VI) dengan metode molekuler di Sungai Cikijing Rancaekek, Jawa Barat. *Jurnal Perikanan Kelautan*, 3(4).
- Lubis, B., Rosdiana, N., Nafianti, S., Rasyianti, O., & Panjaitan, F. M. (2013). Hubungan keracunan timbal dengan anemia defisiensi besi pada anak. *CDK-200*, 40(1), 17-21.
- Mahmudah, R., Baharuddin, M., & Sappewali, S. (2016). Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Lejja, Kabupaten Soppeng. *Al-Kimia*, 4(1), 31-42.
- Male, Y. T., Seumahu, C. A., & Malle, D. (2020). Bioremediation of Pb and Cd Metal from Inner Ambon Bay Sediment Which Contaminated With Heavy Metal Using *Aspergillus niger*. *Indonesian Journal of Chemical Research*, 7(2), 183-188.
- Melati, I. (2020, June). Teknik Bioremediasi: Keuntungan, Keterbatasan dan Prospek Riset. In *Prosiding Seminar Nasional Biotik* (Vol. 8, No. 1).
- Muyassar, M. (2021). Pencemaran Tanah Oleh Pb, Cu, Zn Dan Cd Di Sekitar

- Tempat Pembuangan Akhir (Tpa) Sampah Piyungan, Kabupaten Bantul, Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. *Doctoral Dissertation*. Universitas Gadjah Mada.
- Napitupulu, H. G., Rumengan, I. F. M., Wullur, S., Ginting, E. L., Rimper, J. R. T. S. L., & Toloh, B. H. (2019). *Bacillus* sp. sebagai Agensia Pengurai dalam Pemeliharaan *Brachionus rotundiformis* yang Menggunakan Ikan Mentah sebagai Sumber Nutrisi. *Jurnal Ilmiah Platax*, 7(1), 158-169.
- Nufus, B. N., & Tresnani, G. (2016). Populasi bakteri normal dan bakteri kitinolitik pada saluran pencernaan lobster pasir (*Panulirus homarus* L.) yang diberi kitosan. *Jurnal Biologi Tropis*.
- Palar H. (2008). Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat. Jakarta. *Rineka Cipta*.
- Parawita, D., Insafitri, I., & Nugraha, W. A. (2009). Analisis konsentrasi logam berat timbal (Pb) di muara sungai Porong. *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology*, 2(2), 117-124.
- Paul, E.A. and F.E. Clark. (1989). *Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, Inc. London.
- Pratiwi, A. L. (2018). Evaluasi Variasi Metode dan Lama Pengeringan Kelopak Bunga Rosela (*Hibiscus Sabdariffa* Linn) Terhadap Karakteristik Fisik, Kimia dan Aktivitas Antimikroba.
- Priyadarshanee, M., & Das, S. (2021). Bioremediation potential of biofilm forming multi-metal resistant marine bacterium *Pseudomonas chengduensis* PPSS-4 isolated from contaminated site of Paradip Port, Odisha. *Journal of Earth System Science*, 130(3), 125.
- Putri, A. S. (2022). Keragaman Bakteri yang Berpotensi dalam Mendegradasi Mikroplastik di TPA Piyungan, Bantul, DIY [Universitas Islam Indonesia].
<https://dspace.uui.ac.id/bitstream/handle/123456789/40611/18513136.pdf?sequence=1>.
- Rahayu, D. R., & Mangkoedihardjo, S. (2022). Kajian Bioaugmentasi untuk Menurunkan Konsentrasi Logam Berat di Wilayah Perairan Menggunakan

- Bakteri (Studi Kasus: Pencemaran Merkuri di Sungai Krueng Sabee, Aceh Jaya). *Jurnal Teknik ITS*, 11(1), F15-F22.
- Rahayu, S. P. (2006). Penelitian bioremediasi (ex-situ) tanah terkontaminasi limbah B3 yang mengandung logam berat. *Jurnal Kimia dan Kemasan*, 8-17.
- Riskawati, R. (2016). Isolasi dan karakterisasi bakteri patogen pada tanah di lingkungan tempat pembuangan akhir sampah (TPAS) kota Makassar. *Doctoral dissertation*. Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar.
- Sanjaya, I., & Yuanita, L. (2007). Adsorption of Pb (II) by Chitosan Resulted from Bakau Crab's Shell (*Scylla* sp) Chitin Isolation. *Jurnal Ilmu Dasar*, 8(1), 30-36.
- Sholikah, U., & Dwianita, K. N. (2012). Uji potensi genera *Bacillus* sebagai bioakumulator merkuri. *Tugas akhir Jurusan Biologi Fmipa ITS*.
- Soesetyaningsih, E., & Azizah, A. (2020). Akurasi perhitungan bakteri pada daging sapi menggunakan metode hitung cawan. *Berkala sainstek*, 8(3), 75-79.
- Supriatin, Y., & Rahayyu, M. (2016). Modification of carry-blair transport media for storage *Salmonella typhi*. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 5(2), 72-73.
- Suryanto, T. (2016). Penggunaan Media Tumbuh Dan Jenis Wadah Alternatif Untuk Pertumbuhan Bibit Kelapa Sawit (*Elaeis Guineensis* Jacq) di Pembibitan. *Doctoral dissertation*. Bogor Agricultural University (IPB).
- Tiquia-Arashiro, S. M. (2018). Lead absorption mechanisms in bacteria as strategies for lead bioremediation. *Applied microbiology and biotechnology*, 102(13), 5437-5444.
- Wibowo, MS. (2012). Pertumbuhan dan kontrol Bakteri. *Jurnal Pertumbuhan bakteri*.
- Widiatmono, B. R., Susanawati, L. D., & Agustianingrum, R. (2020). Bioremediasi Logam Timbal (Pb) Menggunakan Bakteri Indigenous Pada Tanah Tercemar Air Lindi (Leachate). *Jurnal Sumberdaya Alam dan Lingkungan*, 6(3), 11-18.
- Yadi, S. Yolandar, N. M. (2012). Pemanfaatan Bioorganik Campuran Pakis

Gleichenia linearis (Burm.) Clarke dan Serasah Daun (pinus merkusii Jungh et de Vriese) Sebagai Media Bibit Jabon (Anthocephalus cadamba Miq.). *Jurnal Silviculture Tropika*. 3(2):114 – 120.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Nilai OD Bioremediasi oleh Bakteri A1 Terhadap Logam Pb

Hari	56 ppm	61 ppm
0	0,003	0,023
5	0,110	0,097
10	0,112	0,119
14	0,126	0,149

Sumber: Hasil Penelitian

Lampiran 2 Nilai Hasil Uji Konsentrasi Logam Pb Menggunakan AAS Pada Proses Bioremediasi oleh Bakteri A1 Terhadap Logam Pb

Hari	56 ppm	61 ppm
0	55,73	60,88
5	39,80	31,15
10	54,42	37,10
14	54,51	40,80

Sumber: Hasil Penelitian

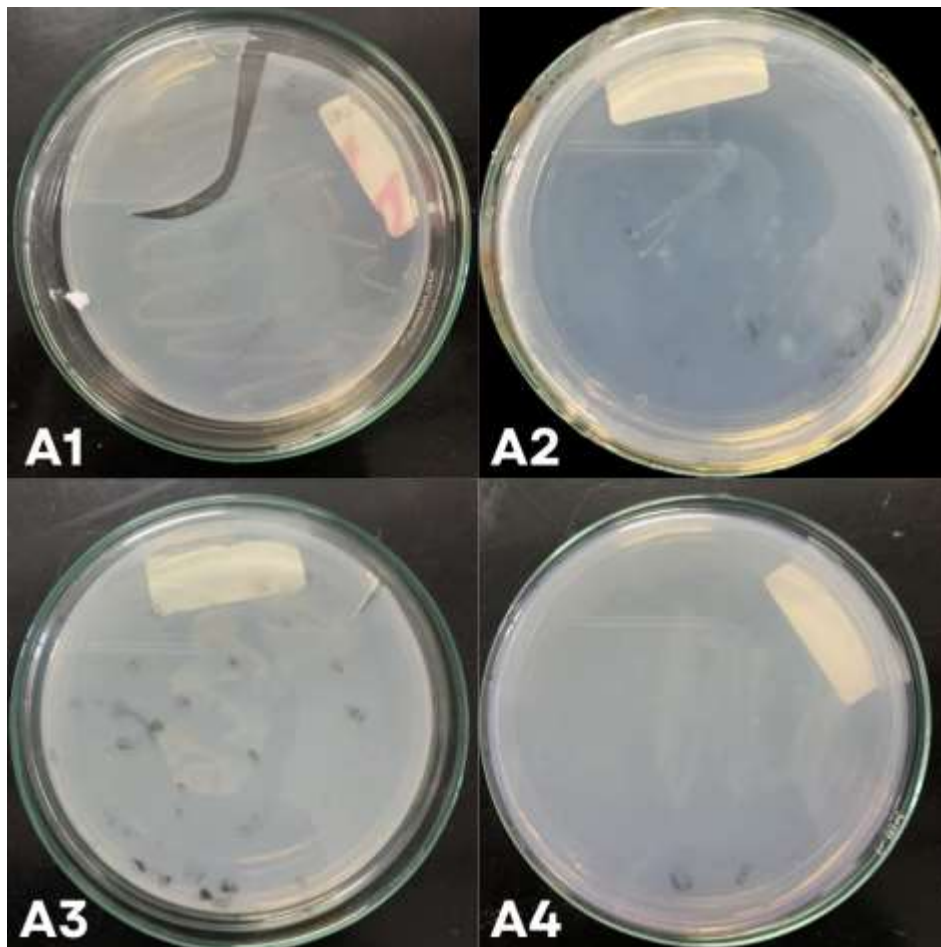
Lampiran 3 Nilai OD dari Seleksi Bakteri

Hari ke – 0	
A1	0,003
A2	0,004
A3	0,023
A4	0,007
Hari ke – 5	
A1	0,033
A2	0,133
A3	0,109
A4	0,032

Hari ke – 10	
A1	0,229
A2	0,194
A3	0,116
A4	0,211
Hari ke – 12	
A1	0,229
A2	0,222
A3	0,092
A4	0,184

Sumber: Hasil Penelitian

Lampiran 4 Hasil Proses Seleksi Bakteri yang Tumbuh Pada Plate Agar



Sumber: Hasil Penelitian

Lampiran 5 Hasil Nilai Perhitungan Koloni Bakteri

Hari	56 ppm	61 ppm
0	824	472
5	146	372
10	118	215

14	96	86
----	----	----

Sumber: Hasil Penelitian

RIWAYAT HIDUP

Nama penulis pada penelitian tugas akhir ini adalah Emilya Sausan Qothrunnada yang lahir pada tanggal 15 April 2001 tepat di Kabupaten Brebes, Jawa Tengah. Penulis merupakan anak ke 4 dari 5 bersaudara. Ibu penulis bernama Betha Afina dan Bapak penulis bernama Abdul Aris Assa'ad. Riwayat pendidikan yang dimiliki penulis yaitu TK di Aisyiah Bustanul Alfa Kabupaten Brebes pada tahun 2005. Sekolah Dasar di SD Negeri 02 Brebes pada tahun 2007 – 2013, kemudian Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 02 Brebes pada tahun 2013 – 2016, Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 01 Brebes pada tahun 2016 – 2019, dan melanjutkan perkuliahan di Universitas Islam Indonesia pada Program Studi Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan pada tahun 2019-2023.

Penulis memiliki kegiatan aktif di bidang akademik yaitu mengikuti kegiatan asisten praktikum Mikrobiologi Lingkungan pada tahun 2023. Di luar akademik penulis pernah mengikuti kepanitiaan Lintas Lingkungan pada tahun 2020 dan Envirolympics (EPIC) pada tahun 2021.