

TUGAS AKHIR
POTENSI BAKTERI *INDIGENOUS* DARI TANAH TPA
PIYUNGAN UNTUK BIOREMEDIASI LARUTAN
LOGAM KADMIUM (Cd)

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



AHSANA HASANY RIYADI
19513224

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

TUGAS AKHIR
POTENSI BAKTERI *INDIGENOUS* DARI TANAH TPA
PIYUNGAN UNTUK BIOREMEDIASI LARUTAN
LOGAM KADMIUM (Cd)

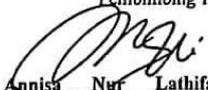
Diajukan Kepada Universitas Islam Indonesia Yogyakarta Untuk Memenuhi
Persyaratan Memperoleh Derajat Sarjana Strata Satu (S1) Teknik
Lingkungan



AHSANA HASANY RIYADI
19513224

Disetujui,

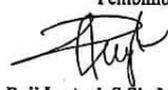
Pembimbing 1


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,
Ketua Prodi Teknik Lingkungan FTSP UII

Any Juliani, S.T., M.Sc., Ph.D.
NIK 045130401
Tanggal: 21/10/23

HALAMAN PENGESAHAN

**POTENSI BAKTERI *INDIGENOUS* DARI TANAH TPA
PIYUNGAN UNTUK BIOREMEDIASI LARUTAN
LOGAM KADMIUM (Cd)**

Telah diterima dan disahkan oleh Tim Penguji

**Hari: Jumat
Tanggal: 20 Oktober 2023**

Disusun Oleh:

**AHSANA HASANY RIYADI
19513224**

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, 27 Juni 2023

Yang membuat pernyataan,



Ahsana Hasany Riyadi

NIM: 19513224

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT. atas rahmat serta karunia-Nya sehingga penulis memiliki kesempatan untuk menyelesaikan penelitian tugas akhir yang berjudul “Potensi Bakteri *indigenous* dari Tanah TPA Piyungan Untuk Bioremediasi Larutan Logam Kadmium (Cd)” dengan baik.

Tugas akhir ini disusun dengan maksud dan tujuan agar pembaca dapat menerima pengetahuan atau wawasan mengenai mikroorganisme bakteri yang ada pada tanah TPA Piyungan dijadikan agen bioremediasi logam kadmium (Cd). Selain itu, tugas akhir ini 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 atas segala nikmat dan berkah yang diberikan kepada penulis;
2. Bapak Imam Riyadi dan Ibu Nurul Khoiriah selaku orang tua penulis 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. Mbak Rina Isnikarita, S.Si. selaku laboran yang telah membimbing penulis saat melakukan penelitian;

7. 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
8. Teman-teman terbaik dan terdekat penulis Wini, Ika, Ameng, Ayyak, Sari, Fetri, Nisa, Ecak, dan Benjo yang selama ini senantiasa menemani, menghibur, mendukung, dan membantu penulis selama SMA dan perkuliahan hingga tersusunnya tugas akhir ini;
9. Teman-teman yang berjasa dalam penyelesaian tugas akhir ini Ameng, Ayyak, Benjo, dan Ikhwanul yang telah menemani, mendukung, membantu dari awal *sampling* hingga akhir penyusunan tugas akhir ini;
10. Teman-teman seperjuangan tugas akhir di Laboratorium Bioteknologi yang telah memberi bantuan dan semangat selama masa penelitian;
11. Teman-teman Program Studi Teknik Lingkungan Angkatan 2019 yang telah memberikan bantuan selama masa perkuliahan;
12. 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.

Pada penghujung prakata, penulis ingin 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, 27 Juni 2023

Ahsana Hasany Riyadi

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

ABSTRAK

AHSANA HASANY RIYADI. Potensi Bakteri *Indigenous* Dari Tanah TPA Piyungan Untuk Bioremediasi Larutan Logam Kadmium (Cd). Dibimbing Oleh Annisa Nur Lathifah S.Si., M.Biotech., M.Agr., Ph.D. dan Puji Lestari S.Si., M.Sc., Ph.D.

Jenis sampah yang masuk ke TPA Piyungan sangat beragam, salah satunya adalah sampah B3 dimana mengandung zat-zat toksik seperti Pb, Cu, Zn, dan Cd. Maka, tujuan penelitian ini dilakukan adalah untuk menganalisis kemampuan dan mengetahui efisiensi bakteri *indigenous* dari tanah TPA Piyungan dalam menurunkan kadar larutan logam kadmium. Pengujian bakteri dilakukan dengan pengambilan sampel tanah dari TPA Piyungan, kemudian dilakukan isolasi bakteri menggunakan media *Dilute Nutrient Broth* (DNB) + *bacteriological agar* 2% dengan metode *pour plate*, kemudian dilakukan pemurnian koloni pada media *Nutrient Agar* (NA) miring. Dari beberapa jenis bakteri yang terpilih untuk proses seleksi bakteri di *agar plate* menggunakan media padat (*Dilute Nutrient Broth* (DNB) + *bacteriological agar* 2% + logam Cd 2 ppm) dan media cair (*Dilute Nutrient Broth* (DNB) + logam Cd 2 ppm), terpilih 1 bakteri untuk menjadi agen proses bioremediasi terhadap logam Cd. Konsentrasi logam Cd yang digunakan pada proses bioremediasi adalah 2 ppm dan 12 ppm. Hasil removal logam Cd menggunakan bakteri S₁ pada konsentrasi 2 ppm sebesar 25% dengan konsentrasi penurunan sebesar 1,4 ppm, dan konsentrasi 12 ppm sebesar 34% dengan konsentrasi penurunan 7,8 ppm.

Kata kunci: Bakteri, Bioremediasi, Logam Kadmium (Cd), TPA Piyungan,

ABSTRACT

AHSANA HASANY RIYADI. *The Potential of Indigenous Bacteria from Piyungan Landfill Soil for Bioremediation of Cadmium (Cd) Metal Solutions.* Supervised by Annisa Nur Lathifah S.Si., M.Biotech., M.Agr., Ph.D. and Puji Lestari S.Si., M.Sc., Ph.D.

The types of waste that enter the Piyungan landfill are very diverse, one of which is hazardous and toxic waste which contains toxic substances such as Pb, Cu, Zn, and Cd. This study aims to analyze the ability and determine the efficiency of indigenous bacteria from Piyungan landfill soil in reducing cadmium metal solution levels. Bacterial testing was carried out by taking soil samples from Piyungan Landfill, then isolating bacteria using Dilute Nutrient Broth (DNB) media with the pour plate method, then purifying the colony on Nutrient Agar (NA) media. From the several types of bacteria selected for the bacterial selection process on the agar plate using solid media (Dilute Nutrient Broth (DNB) + bacteriological agar 2% + metal Cd 2 ppm) and liquid media (Dilute Nutrient Broth (DNB) + metal Cd 2 ppm), 1 bacteria was selected to be an agent of the bioremediation process against metal Cd. The concentration of Cd metal used in the bioremediation process is 2 ppm and 12 ppm. The results of Cd metal removal using S1 bacteria at a concentration of 2 ppm of 25% with a decrease concentration of 1.4 ppm, and a concentration of 12 ppm of 34% with a decrease concentration of 7.8 ppm.

Keywords: Bacteria, Bioremediation, Cadmium Metal (Cd), Piyungan Landfill.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	3
PERNYATAAN.....	4
PRAKATA.....	5
ABSTRAK.....	8
DAFTAR ISI.....	11
DAFTAR TABEL.....	14
DAFTAR GAMBAR.....	16
DAFTAR LAMPIRAN.....	18
BAB I.....	19
1.1 Latar Belakang.....	19
1.2 Perumusan Masalah.....	21
1.3 Tujuan Penelitian.....	21
1.4 Manfaat Penelitian.....	21
1.5 Ruang Lingkup.....	22
BAB II.....	24
2.1 TPA Piyungan.....	24
2.2 Bakteri <i>Indigenous</i>	24
2.3 Logam Kadmium.....	25
2.4 Dampak Logam Kadmium Terhadap Kesehatan Manusia dan Lingkungan.....	26
2.5 Bioremediasi Logam.....	26
2.6 Penelitian Sebelumnya.....	30
BAB III.....	34
3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian.....	34

3.2 Jenis Variabel	35
3.3 Tahapan Penelitian	35
3.4 Alat dan Bahan	37
3.5 Pengambilan Sampel Tanah	37
3.6 Pembuatan Media	39
3.7 Sterilisasi Alat Uji dan Media	41
3.8 Isolasi dan Karakterisasi Bakteri	41
3.9 Uji Bioremediasi Logam Menggunakan Bakteri	43
3.10 Uji Kadar Logam Menggunakan Alat <i>Atomic Absorption Spectrofotometry</i> (AAS)	46
3.11 Analisis Data Penelitian	47
3.10.1 Perhitungan Koloni Bakteri	47
BAB IV	50
4.1 Pengambilan Sampel Tanah di TPA Piyungan	50
4.2 Uji Bioremediasi Logam Kadmium	51
4.3 Proses Pemilihan Bakteri Untuk Bioremediasi Terhadap Logam Cd	52
4.3.1 Isolasi dan Karakterisasi Jumlah Koloni Bakteri	52
4.3.2 Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri	54
4.3.3 Karakterisasi Morfologi Sel Bakteri	55
4.3.4 Seleksi Bakteri	58
4.4 Pengaplikasian Bioremediasi Logam Cd Menggunakan Bakteri Pada Skala Besar	59
BAB V	61
5.1 Kesimpulan	61
5.2 Saran	61
DAFTAR PUSTAKA	63
LAMPIRAN	68
RIWAYAT HIDUP	71

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Hasil studi penelitian terdahulu	30
Tabel 4. 1 Jumlah koloni bakteri.....	53
Tabel 4. 2 Hasil karakterisasi morfologi koloni bakteri.....	55
Tabel 4. 3 Hasil karakterisasi morfologi sel bakteri	57

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Morfologi koloni bakteri (Sumber: ATCC, 2023)	25
Gambar 3. 1 Peta lokasi pengambilan sampel tanah (TPA Piyungan)	34
Gambar 3. 2 Diagram alir proses penelitian.....	36
Gambar 3. 3 Proses pengambilan sampel tanah.....	38
Gambar 3. 4 Proses pengenceran tanah.....	39
Gambar 3. 5 Proses pembuatan media NB, DNB, dan DNB + <i>bacteriological agar</i> 2%	40
Gambar 3. 6 Proses pembuatan logam Cd konsentrasi 100 ppm.....	40
Gambar 3. 7 Proses isolasi bakteri dari larutan pengenceran tanah TPA Piyungan	42
Gambar 3. 8 Proses pewarnaan gram bakteri.....	43
Gambar 3. 9 Proses seleksi bakteri pada media padat	45
Gambar 3. 10 Proses seleksi bakteri pada media cair	45
Gambar 3. 11 Proses bioremediasi.....	46
Gambar 4. 1 Grafik hasil bioremediasi oleh bakteri S ₁ terhadap logam Cd	51
Gambar 4. 2 Total koloni bakteri dari masing-masing titik sampling	53

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Nilai OD seleksi bakteri	68
Lampiran 2. Nilai hasil uji konsentrasi logam Cd menggunakan AAS pada proses bioremediasi oleh bakteri S ₁ terhadap logam Cd	68
Lampiran 3. Nilai OD bioremediasi oleh bakteri S ₁ terhadap logam Cd.....	69
Lampiran 4. Hasil nilai perhitungan koloni bakteri	69
Lampiran 5. Seleksi bakteri yang tumbuh di <i>plate agar</i>	70

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Aktivitas yang manusia lakukan akan selalu menghasilkan residu seperti sampah padat dan sampah cair. Meningkatnya jumlah penduduk dan berubahnya pola konsumsi manusia menjadi faktor meningkatnya sampah yang ada karena tidak adanya penyeimbangan pada pengelolaan sampah yang baik. Semakin banyak manusia melakukan aktivitas atau mengonsumsi sesuatu, maka makin besar pula volume sampah yang timbul (Sucipto, 2012). Sementara itu, sistem pembuangan sampah tidak meningkat sebagaimana meningkatnya timbulan sampah yang terjadi. Mikroorganisme terutama bakteri banyak ditemukan di media tanah karena tanah kaya akan bahan organik seperti di Tempat Pemrosesan Akhir (TPA) sehingga nutrisi yang didapat oleh mikroorganisme sangat banyak yang menyebabkan berkembang dengan cepat. Bakteri yang ada di tanah memiliki bermacam ragam yang dapat dimanfaatkan untuk lingkungan dan manusia. Bakteri *indigenous* merupakan salah satu jenis bakteri yang hidup bebas di alam dan dapat bermanfaat bagi lingkungan dan manusia. Bakteri *indigenous* juga dapat digunakan untuk bioremediasi logam (Rahadi *et al.*, 2019).

Peningkatan sampah yang terjadi pada masyarakat menyebabkan peningkatan penumpukan sampah juga di TPA. Sampah yang masuk ke TPA tidak hanya satu jenis, yaitu berupa sampah organik, anorganik, dan sampah Bahan Berbahaya dan Beracun (B3). Sampah B3 yang tidak dipilah dari rumah akan berakhir di TPA tanpa ada tindakan yang seharusnya dilakukan pada sampah B3 yaitu dipisahkan karena sampah B3 memiliki zat berbahaya yang dapat terserap tanah dan/atau air secara tidak langsung akan berpengaruh buruk terhadap lingkungan dan kesehatan manusia yang terkena paparan zat berbahaya tersebut. Sampah B3 yang dapat memiliki kandungan kadmium contohnya baterai bekas, pelapisan, zat warna, peralatan elektronik, dan PVC (Setyoningrum *et al.*, 2014). Sampah-sampah yang masuk ke TPA akan mengalami oksidasi dan pembusukan yang akan menghasilkan air lindi (*leachate*) (Muyassar & Budianta, 2021). Air lindi yang mengandung zat

logam diserap ke tanah dan menyebabkan pencemaran tanah dan air. Logam berbahaya yang terkandung pada sampah yang ada di TPA berupa Pb, Cu, Zn, dan Cd (Muyassar & Budianta, 2021). Logam kadmium yang mencemari tanah dan air dapat menyebabkan permasalahan terhadap lingkungan seperti peningkatan kadar logam pada tanah dan air yang akan mengakibatkan terganggunya makhluk hidup di dalamnya dan juga terhadap kesehatan manusia. Logam kadmium yang terakumulasi ke dalam tubuh dapat menyebabkan sakit perut, diare, mual dan muntah, kerusakan pada ginjal, menurunkan kualitas tulang, resiko kanker paru-paru, bahkan kematian (Departemen Kesehatan dan Layanan Kemanusiaan Amerika Serikat, 2012).

Meminimalisir tercemarnya logam kadmium maupun logam lain terhadap lingkungan dan kesehatan manusia dapat menggunakan metode bioremediasi. Bioremediasi adalah salah satu teknologi remediasi yang menggunakan mikroorganisme atau agen-agen biologis untuk menetralkan air maupun tanah dan menurunkan kadar polutan tersebut agar tidak berbahaya untuk lingkungan dan kesehatan manusia. Agen-agen biologis yang digunakan pada proses bioremediasi adalah berupa enzim, sel-sel mikroba, maupun tanaman (Waluyo, 2005). Menggunakan proses bioremediasi untuk mengurangi polutan memiliki keuntungan yaitu aktivitas biologi lain tidak terganggu dan tidak membutuhkan biaya yang mahal dibandingkan dengan cara fisik lainnya. Selain keuntungan yang ada, kerugian yang terjadi apabila melakukan proses bioremediasi adalah apabila limbah yang memiliki konsentrasi tinggi akan memerlukan stimulasi pertumbuhan pada mikroorganisme bioremediator. Mikroorganisme yang dapat digunakan untuk bioremediasi logam adalah *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, dan *Staphylococcus sp.* (Kumar *et al.*, 2010).

Pada penelitian sebelumnya (Kumar *et al.*, 2010), bakteri seperti *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, dan *Staphylococcus sp.* dapat meremediasi logam. Sehingga pada penelitian kali ini, bakteri yang akan digunakan adalah bakteri *indigenous* dari TPA Piyungan. TPA Piyungan menampung sampah sebanyak rata-rata 400 - 500 ton/hari maka, diharapkan banyak jenis bakteri yang dari tanah TPA Piyungan untuk meremediasi logam kadmium. Bakteri yang digunakan untuk bioremediasi

terhadap logam kadmium di penelitian kali ini adalah bakteri *indigenous* dari tanah TPA Piyungan. Diharapkan hasil yang didapat dari penelitian ini akan membantu memberikan informasi dalam pemanfaatan bakteri untuk meremediasi logam kadmium (Cd).

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah bakteri pada tanah TPA Piyungan dapat menurunkan kadar logam kadmium?
2. Berapa besar efisiensi bakteri pada tanah TPA Piyungan untuk menurunkan kadar logam kadmium?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menganalisis kemampuan bakteri *indigenous* dari tanah TPA Piyungan dalam menurunkan konsentrasi larutan logam kadmium.
2. Mengetahui efisiensi bakteri pada tanah TPA Piyungan untuk menurunkan kadar larutan logam kadmium.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari adanya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagi lingkungan
Sebagai langkah awal untuk membuktikan bahwa bakteri dari tanah dapat menurunkan kadar logam kadmium.
2. Bagi mahasiswa
Sebagai sarana pengembangan pengetahuan dan kemampuan dalam bidang remediasi dan diharapkan akan berguna di masa yang akan datang.

1.5 Ruang Lingkup

Ruang lingkup dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pengkarakterisasian sampel bakteri *indigenous* pada tanah TPA Piyungan di lahan tumpukkan sampah yang sudah berusia 1 – 3 tahun dengan 3 titik sampling dan masing-masing titik memiliki 3 titik cabang.
2. Menggunakan sampel larutan logam kadmium (Cd) sebagai objek bioremediasi.
3. Penelitian analisis kemampuan bakteri *indigenous* menurunkan kadar logam kadmium akan dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Lingkungan Jurusan Teknik Lingkungan FTSP UII.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 TPA Piyungan

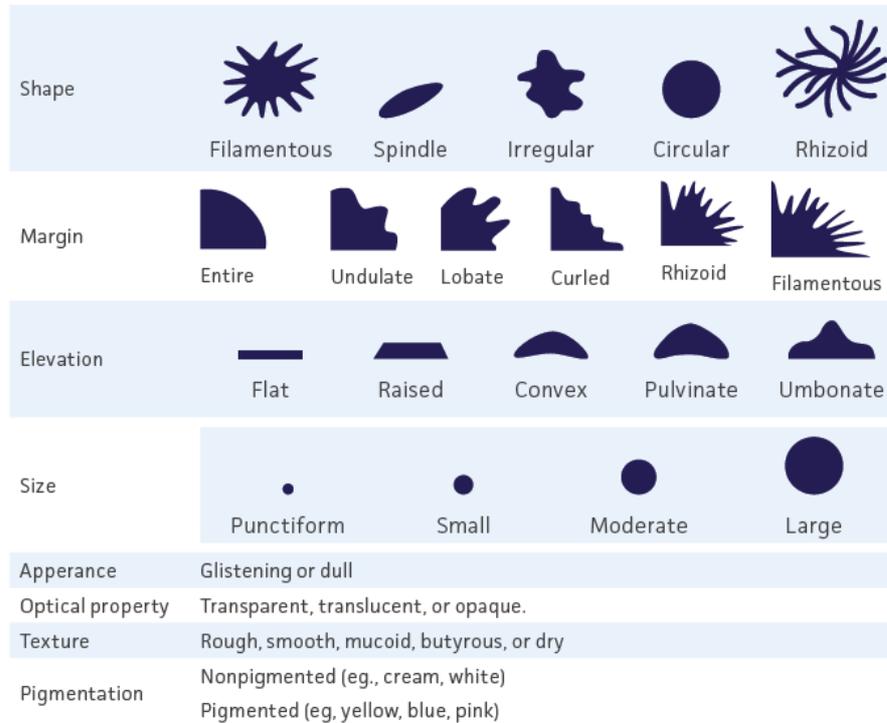
Tempat Pemrosesan Akhir (TPA) merupakan tempat pemrosesan sampah terakhir dari berbagai wilayah di sekitar TPA untuk ditimbun. TPA memiliki banyak dampak negatif terhadap lingkungan dan penduduk sekitar TPA didirikan. Sampah-sampah yang dibuang di TPA akan mengalami oksidasi dan pembusukan yang dapat menghasilkan air lindi (*leachate*) (Muyassar & Budianta, 2021).

TPA Piyungan didirikan pada tahun 1995-1996 dan mulai beroperasi pada tahun 1996 yang berlokasi di Dusun Ngablak Watugender, Desa Sitimulyo, Kecamatan Piyungan, Kabupaten Bantul. TPA Piyungan memiliki luas 12,5 Ha dengan kapasitas volume sampah sebesar 2,7 juta m³, dengan rata-rata volume sampah yang masuk 400-500 ton/hari. Wilayah yang dilayani oleh TPA Piyungan adalah Kabupaten Sleman, Kota Yogyakarta, dan Kabupaten Bantul (Ardila *et al.*, 2018).

2.2 Bakteri *Indigenous*

Mikoorganisme terutama bakteri banyak ditemukan di media tanah karena tanah kaya akan bahan organik sehingga nutrisi yang didapat oleh mikoorganisme sangat banyak yang menyebabkan berkembang dengan cepat. Bakteri yang ada di tanah memiliki bermacam ragam yang dapat dimanfaatkan untuk lingkungan dan manusia. Bakteri *indigenous* merupakan bakteri lokal yang terkandung pada suatu tempat. Selain itu, bakteri *indigenous* merupakan bakteri yang hidup bebas di alam dan bermanfaat bagi lingkungan dan manusia apabila dikembangkan potensinya. Bakteri lokal yang paling banyak ditemukan pada tanah adalah genus *pseudomonas*, *arthobacter*, *clostridium*, *achromobacter*, *bacillus*, *micrococcus*, *flavobacterium*, *corynebacterium*, *sarcina*, dan *mycobacterium* (Babatunde & Zhao, 2007). Bakteri *indigenous* telah dibuktikan dapat menurunkan kadar logam berat (Rahadi *et al.*, 2019).

Menurut (ATCC, 2023), bakteri memiliki bentuk, ukuran, elevasi, tepian, dan warna yang beragam, seperti pada Gambar 2. 1.



Gambar 2. 1 Morfologi koloni bakteri (Sumber: ATCC, 2023)

2.3 Logam Kadmium

Kadmium merupakan unsur kimia yang memiliki lambang Cd dengan nomor atom 48, berat atom 112,4, titik didih 767°C, titik leleh 321°C, dan massa jenis 8,65 g/cm³ (Wahyu *et al.*, 2008). Logam kadmium (Cd) memiliki karakteristik berupa memiliki tekstur lembut, putih keperakan seperti logam aluminium. Konsentrasi logam kadmium di lempengan bumi adalah 0,15 ppm dan mineral kadmium yang paling umum diketahui adalah greenockite (CdS) (Sharma *et al.*, 2015).

Logam kadmium merupakan salah satu logam berat yang terkandung pada sampah B3 seperti baterai bekas, pelapisan, zat warna, peralatan elektronik, dan PVC (Setyoningrum *et al.*, 2014). Logam kadmium dapat dilepaskan ke tanah, air, dan udara lewat tambang logam non-ferro, pembuatan dan penggunaan pupuk fosfat, pembakaran bahan bakar fosil, serta pembakaran dan pembuangan sampah. Selain itu, logam kadmium dapat terakumulasi pada biota akuatik dan tumbuhan.

Logam kadmium dapat bergerak melalui tanah, tetapi tergantung pada beberapa faktor seperti pH tanah dan jumlah bahan organik yang terkandung pada tanah (Departemen Kesehatan dan Layanan Kemanusiaan Amerika Serikat, 2012).

2.4 Dampak Logam Kadmium Terhadap Kesehatan Manusia dan Lingkungan

Kadmium merupakan logam yang memiliki toksisitas yang sangat tinggi bahkan pada konsentrasi yang sangat rendah. Kadmium tidak memiliki sifat fungsi biologis pada sel, tetapi memiliki sifat reaktif yang tinggi sehingga dapat mengaktifkan berbagai macam enzim yang diperlukan pada sel (Verdian, 2015).

Logam kadmium digunakan secara besar di industri pembuatan baterai, pigmen, pelapisan, dan PVC. Pada para pekerja di industri yang telah disebutkan dideteksi memiliki penyakit ginjal dan emfisema yang diperkirakan penyebabnya adalah menghirup debu kadmium oksida pada jangka waktu yang lama. Jumlah kecil logam kadmium yang terakumulasi dalam tubuh akan diserap oleh ginjal yang akan menyebabkan proteinuria. Kadmium juga menyerap dan mendistribusikan kandungan logam ke organ lain dan lapisan *tissue* organ seperti hati, limpa, pancreas, jantung, dan testis untuk para laki-laki (Sharma *et al.*, 2015).

Pada lingkungan, logam kadmium dapat menyebabkan terhambatnya pertumbuhan pada biota perairan maupun pada tanah. Apabila tanah yang tercemar logam Cd digunakan untuk menanam tumbuhan seperti sayur atau padi, tumbuhan tersebut akan mengandung logam Cd dan akan dikonsumsi manusia yang menyebabkan gangguan kesehatan. Selain pada tumbuhan, pada hewan-hewan di tanah maupun air juga dapat mengandung logam Cd apabila habitatnya mengandung logam kadmium (Sharma *et al.*, 2015).

2.5 Bioremediasi Logam

Bioremediasi merupakan salah satu teknologi remediasi dan bekerja mengurangi polutan menggunakan mikroorganisme. Proses bioremediasi dilakukan secara alami oleh mikroorganisme yang digunakan sebagai agen bioremediasi atau

dapat dapat juga dengan penambahan mikroorganisme dan nutrisi. Proses penambahan mikroorganisma tersebut dapat meningkatkan ketersediaan hayati dalam media (Wahyu *et al.*, 2008).

Mikoorganisme yang bekerja dalam bioremediasi disebut bioremediator. Bioremediator merupakan organisme yang berperan dalam proses bioremediasi untuk mengurangi area atau lingkungan yang terkontaminasi oleh polutan. Jenis bioremediator dapat berupa bakteri, jamur atau algae. Mikroorganisme bersifat ramah lingkungan menjadi pertimbangan penting dalam memilih teknologi ini untuk melakukan remediasi.

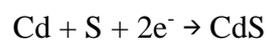
Logam merupakan senyawa yang menjadi salah satu agen pencemar lingkungan, sehingga limbah padat maupun cair yang mengandung logam harus diolah dan dikelola terlebih dahulu sebelum dibuang ke lingkungan agar tidak berdampak buruk untuk lingkungan. Metode remediasi lingkungan yang tercemar dapat menggunakan cara biologi atau biasa disebut bioremediasi, dimana menggunakan bantuan mikroorganisme seperti bakteri, jamur, dan algae. Mikoorganisme dapat mengembangkan kemampuan untuk melindungi dirinya dari racun logam berat dengan berbagai macam mekanisme seperti adsorpsi, serapan, metilasi, oksidasi, dan reduksi. Bioremediasi dapat dilakukan dengan menggunakan mikroba indigen dan dapat ditingkatkan efisiensinya dengan penambahan mikroba eksogen (Sharma *et al.*, 2015). Mekanisme bioremediasi logam berat adalah dimana bakteri dapat mengikat ion logam dan mengubah bentuk kompleks logam menjadi lebih sederhana dengan terjadinya reaksi redoks (Lubis, 2020).

Ada 2 mekanisme pertahanan untuk bioremediasi logam kadmium menggunakan bakteri yaitu biosorpsi dan bioakumulasi. Proses mekanisme ini merupakan proses katabolik yang bersifat biologis, aktif, dan dapat didefinisikan sebagai pemecahan metabolik molekul menjadi partikel-partikel yang lebih kecil, sehingga sangat bergantung pada metabolisme sel dan termasuk bioakumulasi. Sel bakteri terdiri dari peptidoglikan, asam teikoat, fosfolipid, dan lipopolisakarida, dimana menjadi elemen utama untuk penyerapan kadmium karena memiliki kelompok atom anionik.

Menurut (Jebril *et al.*, 2022), mekanisme bioremediasi menggunakan bakteri bisa dibagi menjadi 4 langkah utama, yaitu: biosorpsi permukaan, pengendapan logam kadmium di permukaan sel bakteri, bioakumulasi logam kadmium di dalam sel bakteri, dan *efflux pump*. Berikut adalah uraian cara kerja pada masing-masing mekanisme:

1. Biosorpsi permukaan

Para pengangkut ion seperti P-type ATPase (*Adenosine triphosphate*), RND (*resistance-nodulation-cell division*), and CDF (*cationdiffusion facilitator*). Biosorpsi permukaan merupakan proses metabolisme yang mandiri/independen. Beberapa mekanisme yang terjadi oleh biosorpsi permukaan seperti khelasi, kompleksasi, dan pengendapan di permukaan. Mekanisme ini terjadi karena adanya pengikatan kadmium ke dinding sel mikroba melalui reaksi elektrostatik. Pada dinding sel bakteri memiliki peptidoglikan, 2 molekul NAG (*N-acetylglucosamine*) dan NAM (*N-Acetylmuramic*), LPS (*lipopolysaccharide*), dan protein, lipoprotein, porins, dan EPS (*extracellular polymeric substance*). Komponen-komponen ini memiliki beberapa gugus fungsi seperti -OH (hidroksil), -COOD (karboksil), -PO₃ (fosfat), -NH₂(ammonia), dan -SH (sulfhidril), dimana komponen-komponen tersebut memiliki muatan negatif, dan di saat yang bersamaan terjadi daya tarik ikatan yang besar terhadap kation Cd melalui ikatan kovalen. Pada proses adsorpsi, kadmium berikatan dengan gugus fungsi bakteri membuat kadmium kompleks dan diserap pada permukaan bakteri. Berikut adalah contoh reaksi kadmium dengan sulfur:



Dari reaksi di atas, terjadi mekanisme yang bernama khelasi. Khelasi pada proses ini yaitu pengikatan dengan ligan seperti EPS dan menghasilkan kadmium kompleks yang stabil.

2. Pengendapan logam kadmium pada permukaan sel bakteri

Muatan positif pada dinding sel hasil dari protonasi gugus fungsi pada pH rendah yang menyebabkan penyerapan kadmium tidak maksimal, sehingga kadmium tetap berada dalam larutan. Sebaliknya, pada pH tinggi, dinding

sel bakteri dapat berasosiasi dengan anion untuk mendekati kation kadmium sehingga terjadi penyerapan. Proses pengendapan pada permukaan sel tidak bergantung pada proses metabolisme yang melibatkan produksi senyawa tertentu ketika sel terpapar kadmium sehingga menghasilkan pengendapan kadmium. Sel bakteri memproduksi berbagai macam senyawa yang dapat bereaksi dengan ion kadmium, dan membentuk senyawa kadmium yang bersifat berbeda. Dengan berkurangnya solubilitas kadmium, toksisitas pada logam berkurang dan terjadi pengendapan.

3. Bioakumulasi kadmium di dalam sel bakteri

Bioakumulasi merupakan proses detoksifikasi kompleks yang melibatkan transformasi logam dalam enzim tertentu. Protein pengikat logam pada bakteri seperti metallothionein yang dapat berikatan dengan ion kadmium. Metallothionein merupakan protein kaya sistein yang mampu membentuk kompleks stabil dengan kation logam berbeda, seperti Cd, Zn, dan Cu. Protein metallothionein dapat menyerap kadmium di dalam sel dan terjadi bioakumulasi dan dapat mendetoksifikasi kadmium.

4. *Efflux pump*

Pengangkutan kadmium dari membran luar ke dalam sitoplasma merupakan proses dinamik. Para pengangkut (protein atau siderofor) yang ada pada permukaan sel, mentransfer dan memusatkannya ke dalam sel. Strategi dasar dari pengurangan konsentrasi kadmium di dalam sel bakteri adalah dengan memompa kadmium keluar dari sel. Pengangkut *P-type ATPase* merupakan pengangkut *efflux pump* utama, dimana dibutuhkan mikroba yang tahan terhadap kadmium untuk mengeksport kadmium dari sitoplasma ke periplasma. Tiga pengangkut yang tahan kadmium untuk proses *efflux pump* adalah RND (*resistance-nodulation-cell division*), CDF (*cationdiffusion facilitator*), ABC (*ATP-binding cassettes*). Pengangkut tersebut dapat terbagi menjadi 2 kelas, yaitu CzcCBA dan Czn systems, tiap kelas membutuhkan pengangkut sesuai dengan mekanisme yang digunakan untuk memompa kadmium keluar sel.

2.6 Penelitian Sebelumnya

Melaksanakan penelitian membutuhkan acuan untuk dijadikan referensi dari penelitian sebelumnya. Dari beberapa referensi yang ditemukan, tidak ada judul yang sama dengan penelitian yang akan dilakukan. Berikut adalah referensi penelitian sebelumnya dapat dilihat di Tabel 2. 1.

Tabel 2. 1 Hasil studi penelitian terdahulu

No.	Nama Peneliti	Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
1	Bambang Rahadi, Liliya Dewi Susanawati, dan Rinda Agustianigrum	2019	Bioremediasi Logam Timbal (Pb) Menggunakan Bakteri <i>Indigenous</i> Pada Tanah Tercemar Air Lindi (<i>Leachate</i>)	Hasil dari isolasi bakteri dari tanah yang tercemar air lindi merupakan bakteri <i>Bacillus</i> . Bakteri <i>Bacillus</i> merupakan bakteri lokal yang memiliki potensi untuk bioremediasi logam berat Pb dengan persentase sebesar 35 – 60% (Rahadi <i>et al.</i> , 2019).
2	Trio Verdian	2015	Resistensi dan Potensi <i>Bacillus</i> Sebagai <i>Bioremoval</i> Logam Kadmium (Cd)	Isolat <i>Bacillus</i> yang digunakan menjadi agen bioremoval dari laboratorium dapat mengurangi konsentrasi Cd ²⁺ hingga 35,81% (Verdian, 2015).
3	Ipung Fitri Purwanti, Setyo Budi Kurniawan,	2019	<i>Aluminium Removal and Recovery from Wastewater</i>	Bakteri yang teridentifikasi setelah isolasi adalah <i>B. thermosphacta</i> dan <i>V.</i>

	Nur ‘Izzati Ismail, Muhammad Fauzul Imron, dan Siti Rozaimah Sheikh Abdullah		<i>and Soil Using Isolated Indigenous Bacteria</i>	<i>alginoliticus</i> . Bakteri <i>B. thermosphacta</i> menurunkan 0,45% kadar Aluminium dari air limbah dan menurunkan 0,44% kadar Aluminium pada tanah yang terkontaminasi Aluminium. Sedangkan bakteri <i>V. alginolyticus</i> dapat menurunkan kadar Aluminium pada air limbah sebesar 0,33% dan menurunkan kadar Aluminium pada tanah yang terkontaminasi Aluminium sebesar 0,58% (Purwanti <i>et al.</i> , 2019).
4	Ahmed Zahoor & Abdul Rehman	2009	<i>Isolation of Cr (IV) Reducing Bacteria from Industrial Effluents and Their Potential Use in Bioremediation of Chromium Containing Wastewater</i>	Bakteri <i>Bacillus</i> sp. Dan <i>S. capitis</i> menunjukkan kemampuan mereduksi kromium heksavalen (Cr (IV)) sampai dengan 81% - 85% (Zahoor & Rehman, 2009).
5	Alfian Maulana,	2017	Bioremediasi Logam Pb	Bakteri eksogen (<i>Staphylococcus aureus</i>)

	Supartono, dan Sri Mursiti		pada Limbah Tekstil dengan <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Bacillus subtilis</i>	dan <i>Bacillus subtilis</i>) merupakan agen bioremediasi yang baik untuk logam Pb. Tingkat persentase penurunan kadar logam pada penambahan <i>Staphylococcus aureus</i> 20% sebesar 95,85% dengan waktu inkubasi 30 hari (Maulana <i>et al.</i> , 2017).
--	----------------------------------	--	---	--

Dari beberapa sumber penelitian terdahulu, dapat diambil kesimpulan bahwa berbagai jenis bakteri dapat meremediasi logam (Cd, Pb, Al, dan Cr). Tetapi dari penelitian terdahulu belum ada untuk penggunaan bakteri *indigenous* dari tanah sebagai agen bioremediasi logam Cd. Maka, untuk memberikan informasi mengenai pemanfaatan bakteri *indigenous* untuk bioremediasi logam Cd, dilakukan penelitian ini.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

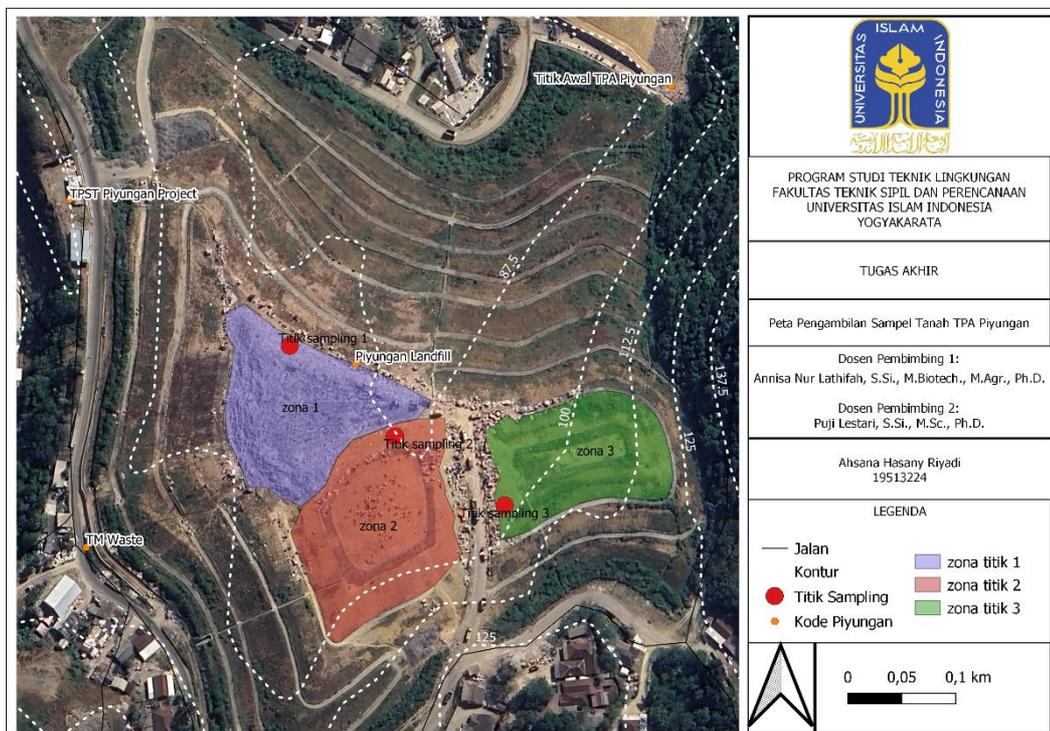
BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian ini ada di beberapa tempat, sesuai dengan data yang dibutuhkan. Lokasi pertama adalah TPA Piyungan sebagai tempat pengambilan sampel tanah. Di TPA Piyungan, diambil sampel tanah di lahan yang tumpukkan sampahnya sudah berusia 1 – 3 tahun yang sudah diratakan tepatnya ada 3 titik dengan jarak yang cukup jauh dan memiliki 3 titik cabang di masing-masing titik yang berjarak 1 meter. Waktu pengambilan sampel tanah ke TPA Piyungan dilaksanakan pada tanggal 20 Maret 2023.

Lokasi kedua adalah laboratorium mikrobiologi FTSP UII sebagai tempat isolasi bakteri, karakterisasi morfologi pada bakteri, jumlah koloni bakteri, pembuatan logam artifisial kadmium dan potensi bioremediasi bakteri pada logam. Kegiatan di laboratorium mikrobiologi FTSP UII akan dilaksanakan pada rentang waktu Maret – Juli 2023.



Sumber: Dokumentasi Pribadi

Gambar 3. 1 Peta lokasi pengambilan sampel tanah (TPA Piyungan)

Berikut adalah koordinat titik sampling untuk pengambilan sampel tanah:

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

3.2 Jenis Variabel

Variabel yang digunakan pada penelitian ini menggunakan 2 (dua) variable, yaitu:

1. Variable Terikat

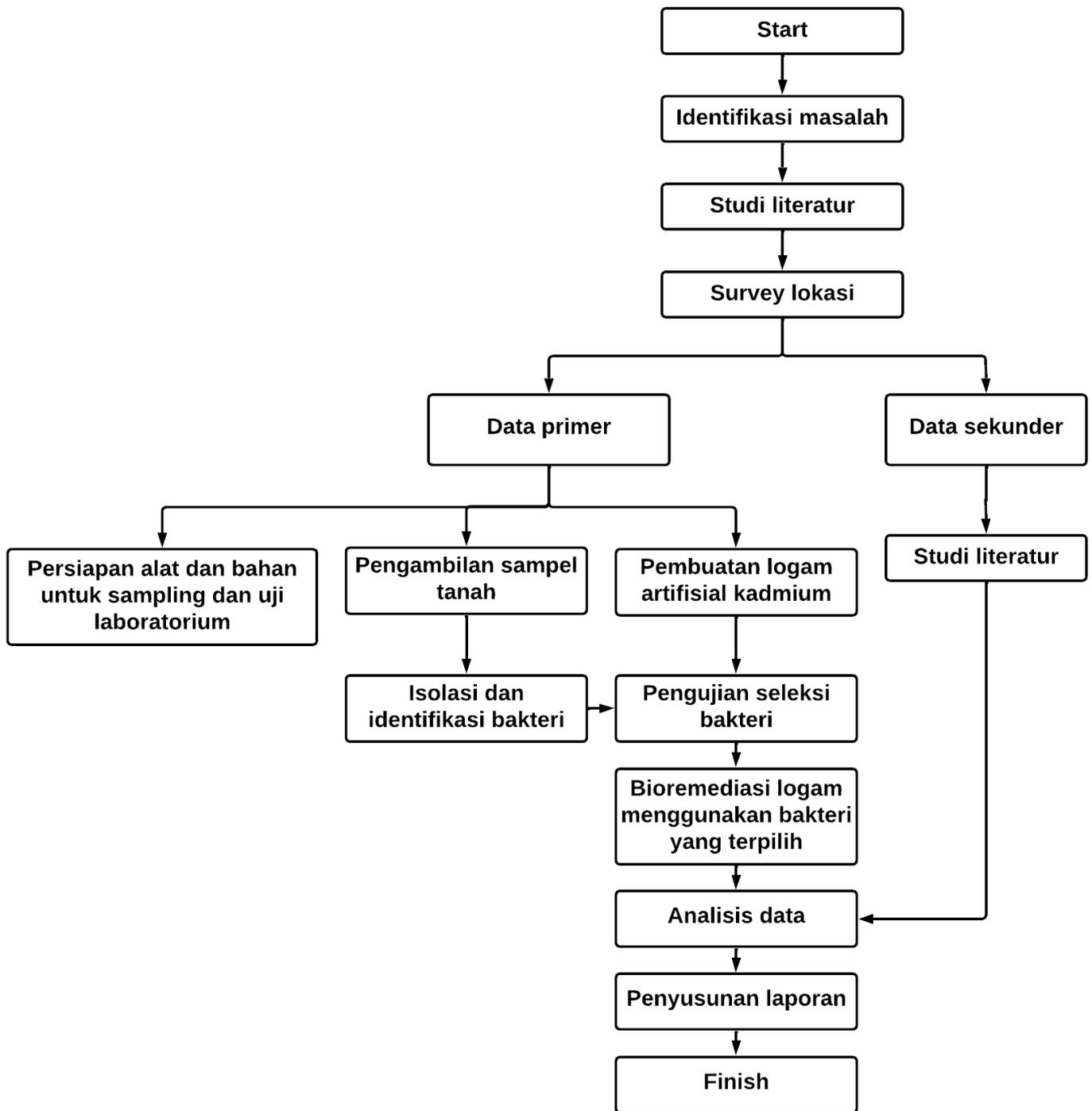
Variabel terikat merupakan variabel yang menjadi hal utama yang diperhatikan pada penelitian. Variabel terikat pada penelitian ini meliputi: Kadar logam kadmium.

2. Variable Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi atau mengakibatkan perubahan dan timbulnya variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini meliputi: Jenis bakteri sebagai agen bioremediasi logam.

3.3 Tahapan Penelitian

Berikut adalah diagram alir tahapan yang dilakukan pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3. 2.



Gambar 3. 2 Diagram alir proses penelitian

3.4 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang diperlukan untuk mendukung kelancaran saat melakukan penelitian di antaranya adalah bor tanah, sekop, meteran, sarung tangan, masker, plastik klip, cawan petri steril, pipet ukur, pipet tetes, *autoclave*, Erlenmeyer, tabung reaksi, rak tabung reaksi, jarum ose, kertas cokelat pembungkus, kapas pembalut, alat penghitung koloni, incubator, timbangan, kompor, *hotplate stirrer*, *magnetic stirrer*, *shaker incubator*, gelas ukur, karet penghisap (*bulb*), Bunsen, mikroskop, *Atomic Absorption Spectrofotometry* (AAS), kulkas, aquades, media NA, media NB, *Agar Bacteriological*, logam kadmium, sampel tanah, dan isolat bakteri.

3.5 Pengambilan Sampel Tanah

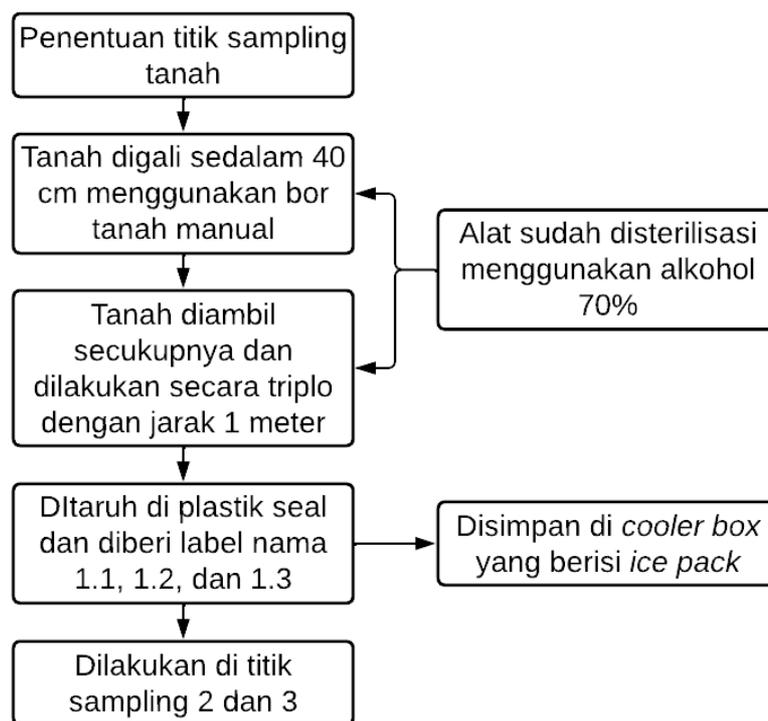
1. Penentuan Titik Sampling

Titik sampling untuk pengambilan tanah pada TPA Piyungan dilakukan dengan mencari tumpukan sampah yang sudah berusia 1 – 3 tahun yang sudah diratakan dengan harapan bakteri yang terkandung pada tanah lebih beragam (Wijaya *et al.*, 2018). Titik sampling terbagi menjadi 3 titik dengan jarak yang cukup jauh agar mencakup seluruh tumpukan/gundukan tanah, kemudian dari masing-masing titik utama bercabang 3 titik dengan jarak 1 meter.

2. Pengambilan Sampel Tanah

Sampel tanah diambil pada timbunan sampah yang sudah berusia 1 – 3 tahun dan sudah diratakan. Metode yang digunakan untuk pengambilan sampel tanah di TPA Piyungan adalah *grab sampling*. Teknik *grab sampling* merupakan teknik pengambilan sampel secara acak tanpa ada seleksi khusus (Wijaya *et al.*, 2018). Tanah pada titik sampling yang sudah ditentukan akan dibor sampai kedalaman 40 cm kemudian tanah diambil untuk menjadi sampel. Dari 3 titik sampling utama dibuat 3 titik cabang dengan jarak 1 meter masing-masing titik dengan total 9 sampel tanah. Sampel tanah dari cabang titik sampling akan dikomposit dan disimpan di plastik klip kemudian diberi label nama. Sebelum mengambil sampel tanah

dilakukan penggalian menggunakan bor tanah dengan kedalaman sekitar 40 cm, tanah diambil menggunakan sekop yang sudah disterilisasi menggunakan alkohol 70% kemudian disimpan di dalam *cool box* menggunakan plastik seal. Pengambilan sampel tanah sedalam 40 cm karena pada titik pengambilan sampel tanah dengan kedalaman 15 cm merupakan tanah urug dan ditambah kedalaman *top soil* memiliki kedalaman 0 – 30 cm (Arifin *et al.*, 2018). Untuk pengambilan sampel tanah kedalaman 40 cm masih pada jangkauan kedalaman *top soil*, karena seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa tanah urug untuk menutupi sampah di TPA Piyungan memiliki kedalaman 15 cm. Menurut (Xu *et al.*, 2013), tanah bagian *top soil* merupakan titik paling baik untuk pertumbuhan mikroba.

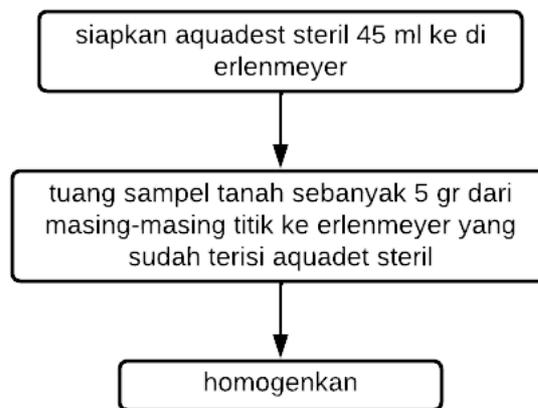


Gambar 3. 3 Proses pengambilan sampel tanah

3. Pengenceran Sampel Tanah

Pada proses pengenceran sampel tanah, menggunakan tanah yang didapatkan dari TPA Piyungan. Pengenceran tanah menggunakan

Erlenmeyer 50 mL dengan sampel tanah yang sudah dikomposit sebanyak 5 gr dan aquades sebanyak 45 mL, kemudian dihomogenkan (Dewi *et al.*, 2016). Setelah itu, larutan yang dihomogenkan diambil sebanyak 1 mL menggunakan pipet ukur kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah terisi aquades sebanyak 9 mL, dihomogenkan dan menjadi larutan 10^{-1} (Rahadi *et al.*, 2019). Kemudian, dari larutan 10^{-1} diambil sebanyak 1 mL dan dituangkan ke tabung reaksi selanjutnya yang sudah berisi aquades sebanyak 9 mL, dihomogenkan dan menjadi larutan 10^{-2} . Dilakukan langkah seperti sebelumnya sampai menghasilkan larutan 10^{-8} .



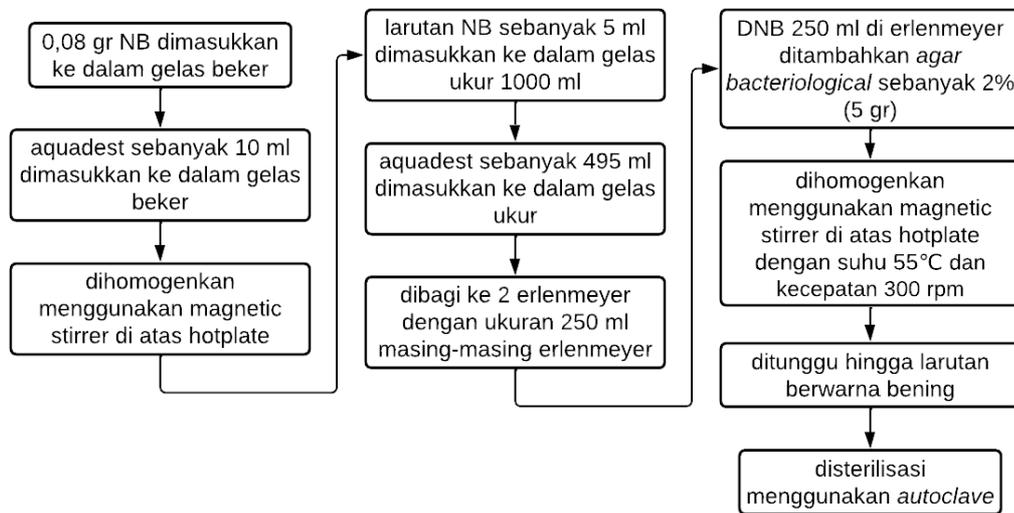
Gambar 3. 4 Proses pengenceran tanah

3.6 Pembuatan Media

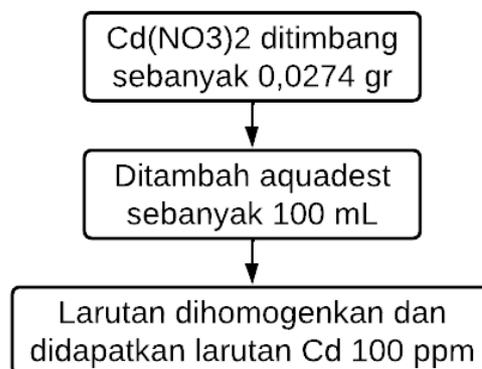
Media yang digunakan pada penelitian ini adalah berupa media *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), *Dilute Nutrient Broth* (DNB), *Dilute Nutrient Broth* (DNB) padat, dan larutan logam kadmium (Cd). Pembuatan media DNB diawali dengan pembuatan *Nutrient Broth* (NB), karena DNB merupakan pengenceran 100x dari NB. Apabila membuat NB sebanyak 100 mL, maka diambil 1 mL ke Erlenmeyer 100 mL dan dicampur aquades sebanyak 99 mL, kemudian dihomogenkan. DNB padat dibuat sama seperti pembuatan DNB, yang membedakan adalah ditambahkan *bacteriological Agar* sebanyak 3%. Pembuatan media NA dengan memasukkan bubuk NA ke air yang mendidih, kemudian diaduk

menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah itu, larutan NA dimasukkan ke tabung reaksi.

Larutan logam Cd dibuat dengan konsentrasi awal 100 ppm untuk mempermudah penggunaan agar tidak melakukan pembuatan logam secara berulang apabila diperlukan. Pembuatan media yang ditambahkan logam tidak jauh berbeda dengan pembuatan media biasa yang sudah dijelaskan di atas, hanya saja ditambahkan logam Cd. Semua media yang telah dibuat harus disterilisasi di *autoclave* dengan suhu 121°C selama \pm 1 jam, kemudian disimpan di kulkas untuk menjaga media tetap steril (Napitupulu *et al.*, 2018).



Gambar 3. 5 Proses pembuatan media NB, DNB, dan DNB + *bacteriological agar* 2%



Gambar 3. 6 Proses pembuatan logam Cd konsentrasi 100 ppm

3.7 Sterilisasi Alat Uji dan Media

Alat yang digunakan untuk sterilisasi alat uji dan media adalah menggunakan alat *autoclave* dengan suhu 121°C selama \pm 1 jam (Napitupulu *et al.*, 2018). Alat yang akan disterilkan dibungkus menggunakan aluminium atau kertas cokelat untuk menghindari masuknya uap air pada alat yang disterilisasi. Sedangkan untuk sterilisasi media juga dibungkus menggunakan kertas cokelat atau aluminium pada bagian bagian alat yang terbuka serta disumpal kapas agar uap air tidak mengontaminasi media.

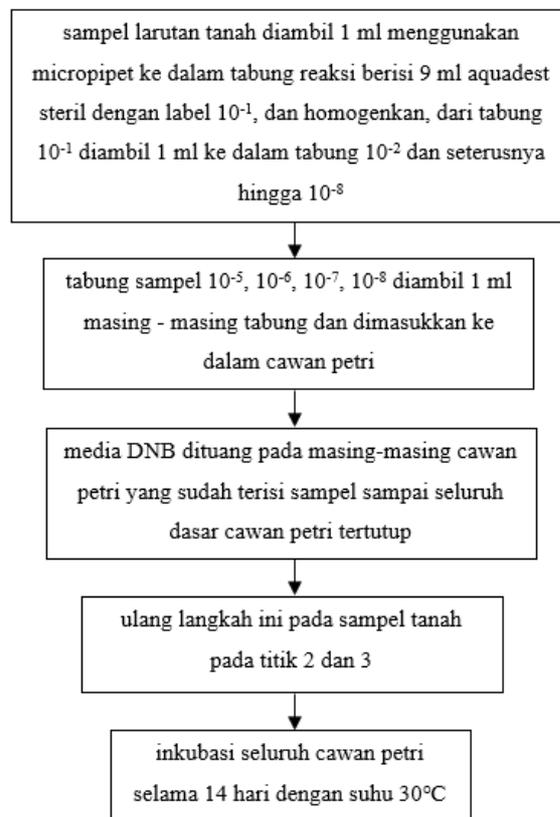
3.8 Isolasi dan Karakterisasi Bakteri

Sampel tanah yang sudah diencerkan akan diisolasi dengan metode *pour plate*. Larutan sampel 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , dan 10^{-8} masing-masing diambil 1 mL menggunakan pipet ukur ke cawan petri secara *duplo* kemudian ditambahkan media DNB dan dibungkus dengan kertas cokelat untuk diinkubasi dengan suhu 30°C selama 14 hari (2 minggu) untuk pengamatan pertumbuhan jumlah koloni (Januar *et al.*, 2013).

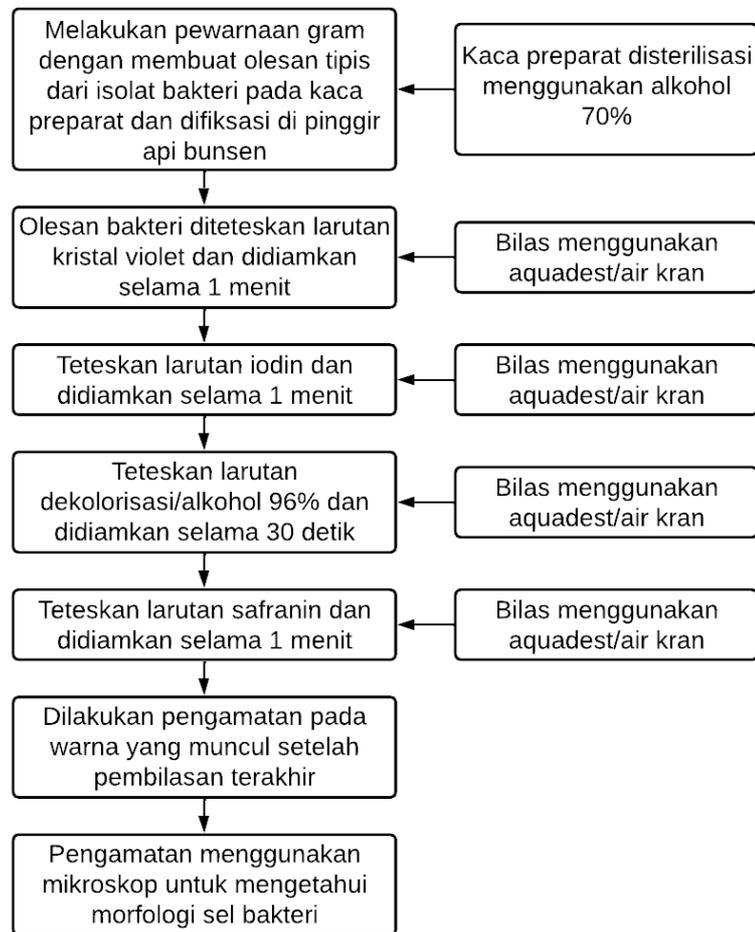
Setelah 2 minggu, proses karakterisasi morfologi bakteri dapat dilakukan. Ada metode makroskopik dapat memperlihatkan bentuk, margin, elevasi, dan warna. Koloni yang tumbuh dengan jenis yang mayoritas akan dipindahkan ke NA miring dan diinkubasi untuk melakukan duplikasi pada bakteri sebagai *stock* bakteri. Mayoritas koloni yang sudah dibuat *stock* bakteri tumbuh pada media NA miring akan diambil dan dilakukan pengamatan menggunakan metode mikroskopik yaitu menggunakan mikroskop setelah melakukan pewarnaan gram dengan perbesaran 1000x (Mahmudah *et al.*, 2016). Sebelum melakukan pengamatan mikroskopik, dilakukan pewarnaan gram pada bakteri yang akan diamati.

Pewarnaan gram merupakan langkah awal karakterisasi bakteri untuk mengetahui sifat gram (positif/negatif) serta morfologi bakteri. Bakteri yang bersifat gram positif akan berwarna ungu karena memiliki peptidoglikan yang lebih tebal, sedangkan bakteri gram negatif akan berwarna merah/merah muda karena memiliki peptidoglikan yang lebih sedikit dan lebih kompleks secara strukturnya

(Sabdaningsih *et al.*, 2013). Larutan yang digunakan pada proses pewarnaan gram ada 4, yaitu kristal violet, iodine, dekolisasi, dan safranin (Gultom *et al.*, 2017). Bakteri memiliki beberapa bentuk yaitu berbentuk bulat/bola, berbentuk batang dan berbentuk melilit. Masing-masing 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) (Irianto, 2006). Langkah isolasi bakteri dari tanah TPA Piyungan dapat dilihat pada Gambar 3. 7 dan karakterisasi bakteri dapat dilihat pada Gambar 3. 8.



Gambar 3. 7 Proses isolasi bakteri dari larutan pengenceran tanah TPA Piyungan



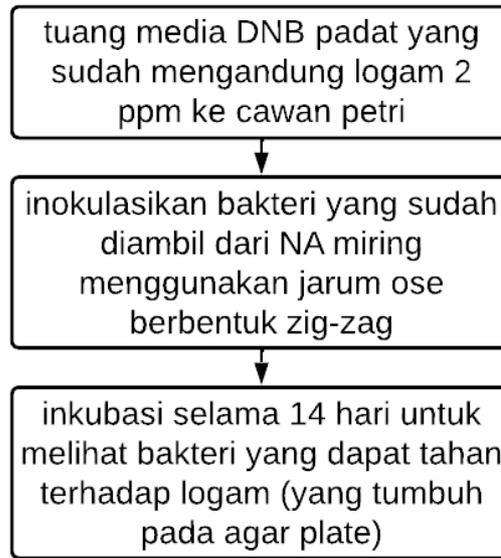
Gambar 3. 8 Proses pewarnaan gram bakteri

3.9 Uji Bioremediasi Logam Menggunakan Bakteri

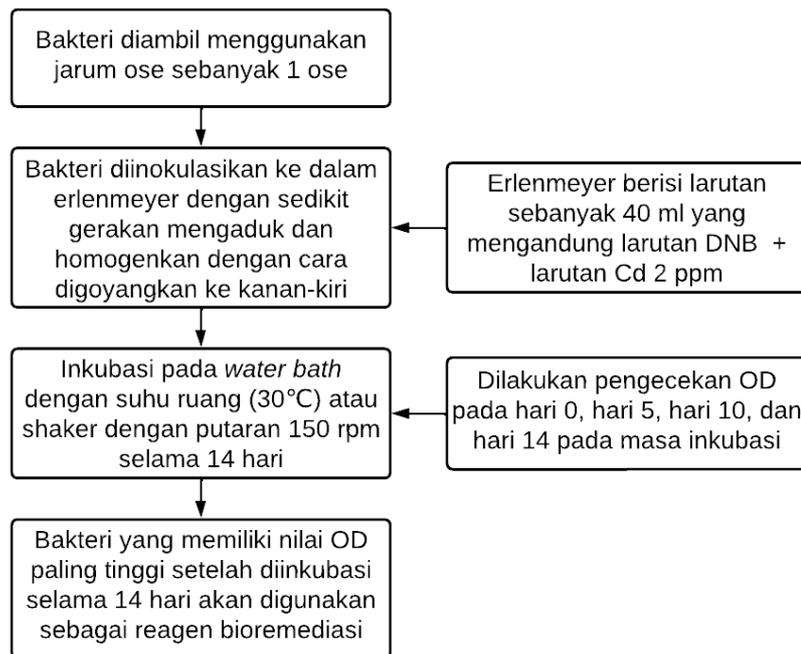
Pengujian bioremediasi logam kadmium menggunakan bakteri adalah menggunakan media cair. Sampel bakteri yang akan digunakan untuk uji dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 50 ml yang berisikan media cair DNB dan logam kadmium dengan 2 konsentrasi yaitu 2 ppm dan 12 ppm dengan total media sebanyak 40 ml yang dilakukan secara duplo. Penggunaan kedua konsentrasi dipilih setelah pertimbangan dengan membaca penelitian-penelitian sebelumnya seperti pada penelitian (Rahmanianda, 2015) yang menggunakan konsentrasi logam 0,7 ppm, 1,3 ppm, 1,9 ppm dan 0 ppm untuk kontrol dan penelitian (Sasmitha, 2018)

yang menggunakan konsentrasi logam sebesar 0,5 ppm, 1 ppm, dan 2 ppm. Menurut (Chalid, 2022), konsentrasi logam kadmium yang ada di TPA Piyungan adalah sebesar 4,21 mg/kg. Konsentrasi pada TPA Piyungan juga menjadi pertimbangan pemilihan tingkat konsentrasi yang digunakan untuk bioremediasi, dipilihnya konsentrasi 2 ppm dan 12 ppm agar ada konsentrasi di bawah nilai konsentrasi kadmium pada tanah TPA Piyungan dan di atasnya. Larutan tersebut akan diinkubasi di *shaker incubator* (100 rpm) pada suhu 30°C selama 14 hari (2 minggu) (Januar *et al.*, 2013).

Pada pengujian bioremediasi, sebelumnya dilakukan seleksi bakteri dari beberapa hasil isolasi bakteri tanah TPA Piyungan. Seleksi bakteri dilakukan pada media cair (*dilute nutrient broth* (DNB)) dan dicampur dengan larutan logam kadmium (Cd) dengan konsentrasi paling kecil yaitu 2 ppm. Bakteri yang digunakan untuk seleksi adalah bakteri yang tumbuh pada percobaan ujiantang logam menggunakan agar plate, yang berisi larutan DNB + *bacto agar* 2% + larutan logam 2 ppm. Bakteri yang terpilih menjadi agen bioremediasi dari seleksi bakteri adalah bakteri yang memiliki kekeruhan atau nilai OD (*Optical Density*) paling tinggi pada saat seleksi bakteri atau ujiantang bakteri terhadap kadmium (Lewaru *et al.*, 2012). Uji OD dilakukan untuk menguji kekeruhan pada larutan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 610 nm (Lizayana *et al.*, 2016). Proses seleksi bakteri dapat dilihat pada Gambar 3. 9 dan Gambar 3. 10.



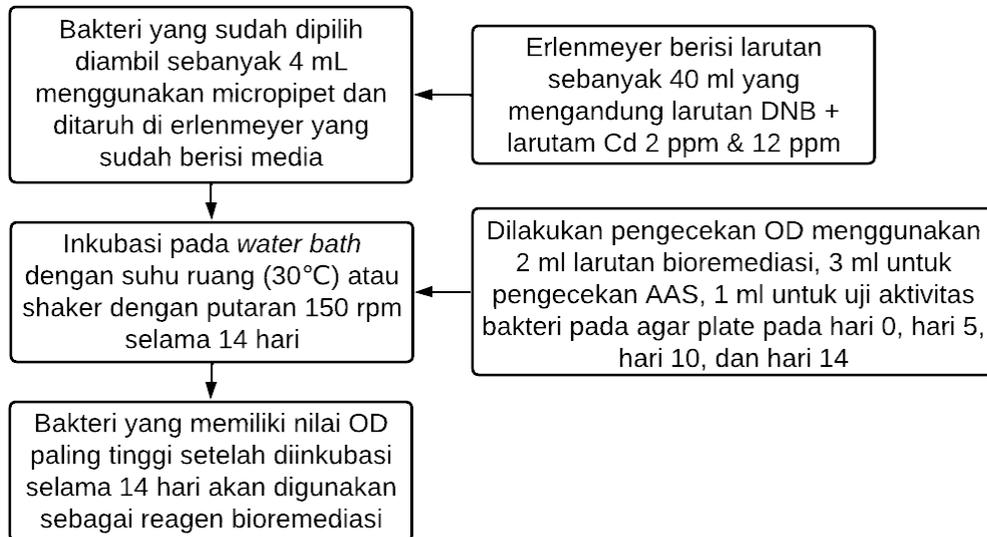
Gambar 3. 9 Proses seleksi bakteri pada media padat



Gambar 3. 10 Proses seleksi bakteri pada media cair

Setelah terpilih bakteri yang akan digunakan sebagai agen bioremediasi terhadap logam kadmium, bakteri akan diambil sebanyak 10% dari jumlah total larutan media dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi larutan DNB + larutan logam Cd dengan konsentrasi 2 ppm dan 12 ppm dan dilakukan secara duplo

(Fibrianti *et al.*, 2019). Pada proses bioremediasi juga dilakukan pengujian OD dengan panjang gelombang 610 nm dengan jangka waktu 5 hari sekali.



Gambar 3. 11 Proses bioremediasi

Pada tahap bioremediasi, bakteri S_1 yang telah diinkubasi selama 12 hari diambil sebanyak 10% dari jumlah larutan yaitu 4 ml dan dimasukkan kepada masing-masing erlenmeyer berisi larutan sebanyak 40 ml yang mengandung media DNB dan logam dengan konsentrasi 2 ppm dan 12 ppm yang dilakukan secara duplo. Semua Erlenmeyer yang sudah tercampur dengan bakteri diinkubasi di *shaker* dengan suhu ruangan selama 14 hari. Pada tahap inkubasi bioremediasi, masing masing erlenmeyer akan dilakukan pengambilan larutan sebanyak 2 ml untuk pengecekan nilai OD, 3 ml untuk uji logam di AAS, dan 1 ml untuk uji aktivitas bakteri pada agar plate dengan metode *pour plate*. Hal-hal tersebut dilakukan pada hari ke-0, hari ke-5, hari ke-10, dan hari ke-14.

3.10 Uji Kadar Logam Menggunakan Alat *Atomic Absorption Spectrofotometry* (AAS)

Konsentrasi total logam kadmium dengan metode destruksi basah yang akan dianalisis dengan *Atomic Absorption Spectrofotometry* (AAS) (Az-Zahra *et al.*, 2014). Kemudian data hasil dari pengukuran kadar logam awal dan akhir akan

dihitung untuk menemukan jumlah persentase efisiensi pengurangan logam kadmium oleh bakteri yang telah diseleksi.

Larutan pada proses bioremediasi yang akan diuji logam menggunakan AAS harus dilakukan pengawetan terlebih dahulu sesuai SNI 06-6989.16-2004 tentang Air dan Air Limbah Bagian 16: Cara Uji Kadmium (Cd) dengan metode Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) – nyala. Pada SNI tersebut, larutan yang tidak langsung diuji harus diawetkan dengan cara menambahkan HNO₃ hingga pH kurang dari 2, sehingga dapat disimpan hingga waktu 6 bulan. Pada larutan bioremediasi yang akan diuji pada AAS masih mengandung TSS (*Total Suspended Solid*) dari bakteri sebagai agen bioremediasi, maka harus disaring terlebih dahulu dengan menggunakan kertas saring dengan ukuran pori θ 0,42 μ m sesuai dengan SNI tersebut. Perhitungan konsentrasi logam sesuai dengan SNI tersebut adalah sebagai berikut:

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

Dimana:

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

fp = faktor pengenceran

3.11 Analisis Data Penelitian

3.10.1 Perhitungan Koloni Bakteri

Perhitungan koloni bakteri untuk metode *pour plate* memiliki *range* jumlah koloni sebanyak 30 - 300 CFU/ml (Sutton, 2011). Menurut (Azizah & Soesetyaningsih, 2020), ada beberapa hal yang perlu diperhatikan saat menghitung koloni bakteri pada sampel seperti:

- Apabila jumlah koloni pada cawan berjumlah > 300 CFU/ml maka dikategorikan TBUD (Terlalu Banyak Untuk Dihitung) atau TNTC (*Too Numerous to Count*) dan hanya pengenceran yang paling besar yang dilaporkan;
- Apabila jumlah koloni < 30 maka hanya pengenceran yang paling kecil yang dilaporkan;

- Apabila ada 2 cawan dari pengenceran besar dan kecil memiliki jumlah koloni antara 30 – 300 dan hasil pembagian jumlah koloni dari kedua cawan tersebut ≤ 2 , maka jumlah koloni yang dilaporkan adalah nilai rata-rata, apabila hasil pembagian dari kedua cawan adalah > 2 , maka jumlah koloni yang dilaporkan adalah jumlah koloni dari cawan dengan pengenceran kecil.

Analisis data untuk densitas koloni bakteri dari isolasi bakteri yang ditumbuhkan lewat inkubasi selama 2 minggu dengan menggunakan media *Dilute Nutrient Broth* (DNB) dan melakukan perhitungan koloni bakteri menggunakan *Total Plate Count* (TPC). Perhitungan koloni bakteri dilakukan pada cawan petri yang berisi media DNB dan larutan pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , dan 10^{-8} . Kemudian, hasil perhitungan akan dihitung dengan 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

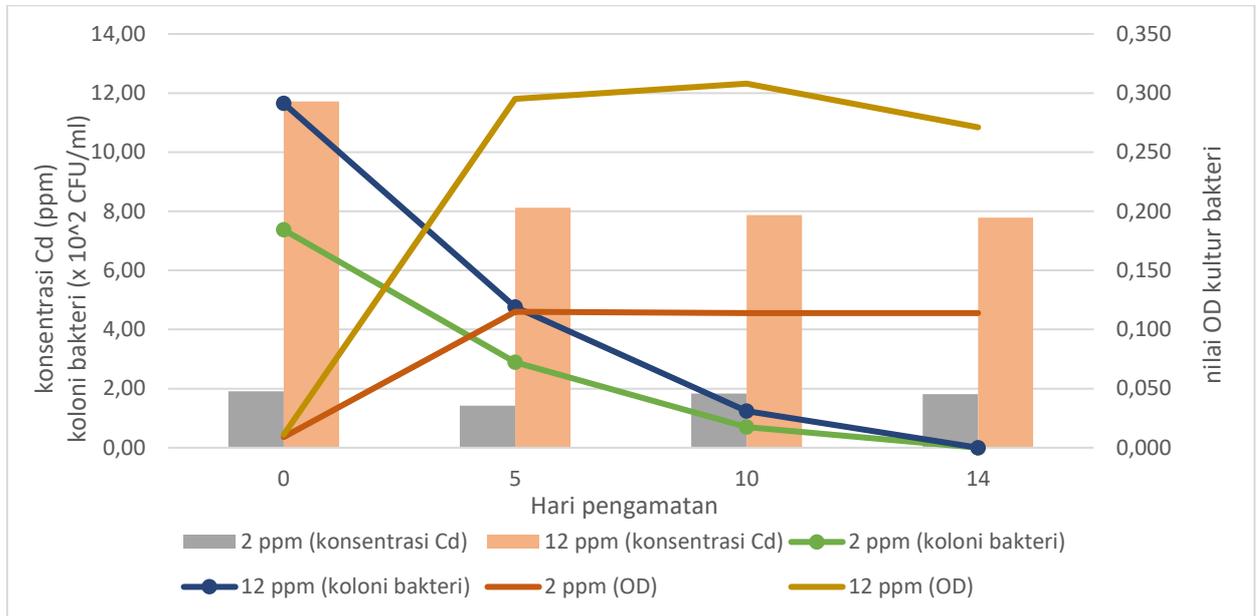
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian tugas akhir ini dilakukan dengan 4 tahap pengerjaan yaitu, pengambilan sampel tanah, isolasi bakteri, karakterisasi bakteri, dan uji biodegradasi logam kadmium oleh bakteri terpilih. Berikut merupakan hasil karakterisasi bakteri dan uji kemampuan bakteri agen bioremediasi logam kadmium.

4.1 Pengambilan Sampel Tanah di TPA Piyungan

Pengambilan sampel tanah dilakukan pada tanggal 20 Maret 2023 di TPA Piyungan, Bantul. Sampel tanah diambil dari 3 titik utama yang berjarak cukup jauh dari masing-masing titik yang kemudian di masing-masing titik utama memiliki 3 titik cabang dengan total 9 titik sampling. Kondisi cuaca pada saat pengambilan sampel tanah pada awalnya cerah, kemudian turun hujan, dan cerah kembali. Pada titik 1, lokasi diambilnya sample tanah memiliki kondisi yang sudah ditumbuhi rumput dan kondisi tanah cukup keras saat dibor menggunakan bor tanah, lokasi ini memiliki kondisi tanah yang datar. Pada titik 2, keadaan tanah tidak ditumbuhi rumput sama sekali dan titik sampling ini berada dekat dengan aliran lindi yang mengalir dan terdapat potongan sampah di permukaannya, selain itu sampel tanah yang diambil memiliki tekstur yang lengket karena kondisi pengambilan sampel tanah pada titik sampling ke-2 dilakukan setelah hujan, selain itu tempat pengambilan sampling ini memiliki kondisi tanah yang cukup curam. Pada titik ke 3, kondisi tanah juga tidak ditumbuhi tumbuhan, lokasinya yang berada di tanah landau dan memiliki tekstur tanah yang cukup lebur dibandingkan tekstur tanah pada titik sampling 1 dan 2.

4.2 Uji Bioremediasi Logam Kadmium



Gambar 4. 1 Grafik hasil bioremediasi oleh bakteri S_1 terhadap logam Cd

Mekanisme biosorpsi pada proses bioremediasi terhadap logam kadmium (Cd) terjadi karena adanya bantuan dari protein yang ada pada bakteri, ion logam kadmium yang bermuatan positif akan berikatan dengan protein bakteri yang memiliki ion bermuatan negatif sehingga muatan pada ion logam dapat berkurang dan tidak terlalu berbahaya apabila akan dilepas ke lingkungan (Verdian, 2015).

Pada grafik di atas mengandung 3 informasi yaitu hasil uji konsentrasi logam Cd menggunakan AAS, hasil uji OD, dan jumlah koloni yang tumbuh pada *agar plate*. Data hasil uji konsentrasi logam Cd menggunakan AAS dapat dilihat di Lampiran 2. Terlihat pada grafik untuk nilai konsentrasi logam dengan konsentrasi 2 ppm terjadi penurunan pada hari ke-5 dan kenaikan pada hari ke 10 dan 14. Sedangkan untuk nilai konsentrasi 12 ppm terjadi penurunan yang terus-menerus dari hari ke-0 hingga hari ke-14. Menurut (Khoiroh, 2014), kenaikan logam pada masa bioremediasi dapat terjadi karena terlalu lama waktu inkubasi yang menyebabkan kemampuan bakteri dalam biosorpsi akan berkurang atau bakteri berada di titik jenuh, sehingga dapat disimpulkan bakteri tidak dapat mengabsorpsi logam atau bahkan mengeluarkan kembali logam yang sudah diabsorpsi.

Sedangkan nilai OD adalah untuk mengetahui fase kehidupan bakteri. Bakteri memiliki empat fase kehidupan, yaitu fase lag atau fase penyesuaian, fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian (Setiawati *et al.*, 2014). Untuk mengetahui pertumbuhan atau fase kehidupan bakteri pada proses bioremediasi, dilakukan pengecekan uji kekeruhan atau uji OD serta dilakukan pengujian Isogam menggunakan AAS untuk mengetahui aktivitas bakteri dalam mendegradasi logam Cd. Hasil pengecekan nilai OD pada larutan bioremediasi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 610 nm dapat dilihat pada Lampiran 3. Pada hasil uji OD konsentrasi 2 ppm mengalami fase lag atau penyesuaian pada hari ke-0, dari hari ke-0 hingga hari ke-5 diyakini terjadi fase eksponensial yang dimana terjadi peningkatan bakteri, kemudian pada hari ke-10 terjadi penurunan nilai yang berlanjut hingga hari ke-14 dimana sudah memasuki fase kematian bakteri. Sedangkan untuk konsentrasi 12 ppm, terjadi fase lag atau penyesuaian pada hari ke-0, hari ke-0 hingga hari ke-10 telah memasuki fase eksponensial dimana terjadinya peningkatan bakteri, namun pada hari ke-14 telah terjadi penurunan nilai yang dapat diartikan telah menuju fase kematian.

Pada grafik di atas, terlihat bahwa hasil pertumbuhan bakteri pada *agar plate* semakin menurun semakin lama waktu inkubasi. Sedangkan untuk nilai OD menunjukkan kenaikan pada hari ke 5 dan 10, tetapi pada pengecekan pertumbuhan bakteri di *agar plate* menunjukkan adanya penurunan. Maka dari itu, dapat disimpulkan bahwa nilai OD atau kekeruhan yang naik pada hari ke-5 dan hari ke-10 disebabkan oleh bakteri yang sudah mati dan kemudian mengendap.

4.3 Proses Pemilihan Bakteri Untuk Bioremediasi Terhadap Logam Cd

Pada proses bioremediasi yang telah dibahas, bakteri yang digunakan untuk proses bioremediasi telah melewati proses isolasi, karakterisasi koloni bakteri, karakterisasi morfologi sel bakteri, dan seleksi bakteri.

4.3.1 Isolasi dan Karakterisasi Jumlah Koloni Bakteri

Koloni bakteri yang sudah tumbuh pada cawan petri dengan media minim nutrisi atau *Dilute Nutrient Broth* (DNB) + *bacteriological agar* sebanyak 3% dan dicampurkan dengan larutan tanah yang sudah diencerkan 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , dan 10^{-8}

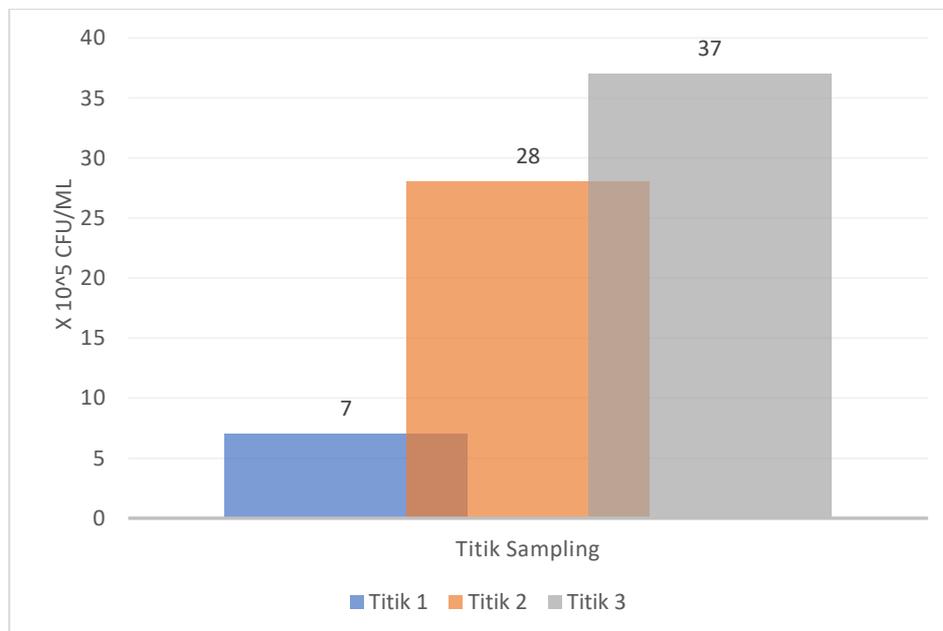
sebanyak 1 ml pada masing-masing cawan petri dengan metode *pour plate* yang kemudian diinkubasi dengan suhu 30°C selama 14 hari. Setelah pengecekan satu kali setiap minggu, banyak bakteri yang tumbuh pada hari ke 14.

Tabel 4. 1 Jumlah koloni bakteri

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

Sumber: Hasil Penelitian

Pada Tabel 4. 1 dapat disimpulkan bahwa tanah di ketiga titik sampling mengandung bakteri, tetapi hanya pada pengenceran 5 dan 6 yang berhasil menumbuhkan bakteri. Pertumbuhan bakteri paling tinggi sesuai jumlah koloni yang terhitung ada pada lokasi titik sampling ke-3. Jumlah koloni yang ada pada ketiga titik dapat dilihat pada Gambar 4. 2.



Gambar 4. 2 Total koloni bakteri dari masing-masing titik sampling

Berdasarkan gambar diagram di atas, jumlah koloni bakteri yang paling banyak tumbuh berada pada titik 3 dengan jumlah 37×10^5 CFU/ml. Sedangkan jumlah koloni bakteri yang paling sedikit tumbuh adalah pada titik 1 dengan jumlah 7×10^5 CFU/ml. Menurut (Batubara *et al.*, 2015), pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh suplai gizi, kebutuhan oksigen, suhu, dan pH. Bakteri terbagi menjadi 4 jenis berdasarkan suhu, yaitu psikofilik (hidup di suhu 0 - 30°C dengan suhu optimum untuk hidup di suhu 15°C), mesofilik (hidup di suhu 15 - 55°C dengan suhu optimum untuk hidup di suhu 25 - 40°C), dan termofilik (hidup di suhu 40 - 75°C dengan suhu optimum untuk hidup di suhu 50 - 65°C) (Wardhani *et al.*, 2020). Apabila bakteri hidup di suhu yang terlalu tinggi dari seharusnya maka akan menyebabkan pertumbuhan terhambat karena adanya denutrisi protein, sedangkan apabila bakteri hidup di suhu yang lebih rendah dari seharusnya maka akan menyebabkan pertumbuhan terhambat karena terganggu proses transport nutrient (Putri, 2022). Sedangkan untuk bakteri yang terbagi berdasarkan pH ada 3 jenis, yaitu asidofilik (tumbuh di pH 2 – 5), mesofilik (tumbuh di pH 5,5 – 8), dan alkalifilik (tumbuh di pH 8,4 – 9,5) (Arisandi *et al.*, 2016). Selain itu, tanah yang berpori lebar memiliki kandungan oksigen yang tinggi sehingga dapat merangsang pertumbuhan bakteri pada tanah (Awaluddin & Tangahu, 2020). Dari jenis-jenis bakteri berdasarkan kadar oksigen, suhu dan pH, disimpulkan bahwa perbedaan jumlah koloni pada setiap titik dipengaruhi oleh keadaan kondisi tanah dan masing-masing jenis bakteri pada tanah tersebut.

4.3.2 Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri

Karakterisasi morfologi koloni dapat dilakukan dengan cara pengamatan dengan mata atau bantuan kaca pembesar pada *colony counter*. Secara morfologi, koloni bakteri bisa dibagi beberapa kelompok berdasarkan bentuk, *margin*, elevasi, dan ukuran (ATCC, 2023). Morfologi koloni bakteri yang telah diamati dapat dilihat pada Tabel 4. 2.

Tabel 4. 2 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

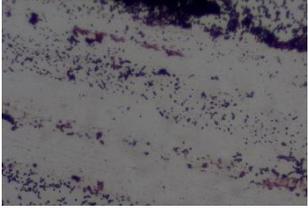
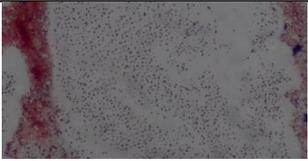
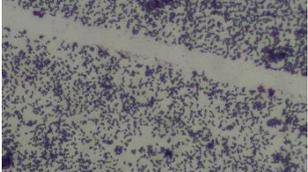
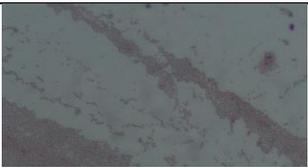
Isolat bakteri yang telah dijabarkan karakteristik morfologi koloni akan diambil dan dibuat *stock* pada NA miring. Kemudian, *stock* bakteri yang tumbuh di NA miring akan dilakukan pewarnaan gram untuk mengetahui morfologi sel bakteri. Setelah pemurnian koloni bakteri, ada beberapa bakteri yang tidak tumbuh sehingga dieliminasi untuk dijadikan kandidat agen bioremediasi pada seleksi bakteri untuk bioremediasi.

4.3.3 Karakterisasi Morfologi Sel Bakteri

Karakterisasi morfologi sel bakteri dapat dilakukan setelah melakukan pewarnaan gram dan mikroskop. Pada proses ini, bakteri yang digunakan adalah bakteri yang tumbuh dan tidak terkontaminasi pada kultur murni di NA miring.

Pewarnaan gram dilakukan pada masing-masing bakteri yang sudah dilakukan pemurnian koloni pada NA miring. Pewarnaan gram menggunakan larutan kristal violet, iodine, *decolorization*, dan safranin (Gultom *et al.*, 2017). Pada pewarnaan gram, akan terlihat jenis gram pada bakteri. Indikasi warna pada bakteri gram negatif akan berwarna merah, sedangkan bakteri gram positif akan berwarna ungu. Bakteri gram negatif memiliki dinding sel peptidoglikan yang tipis dengan kandungan lipid yang tinggi, maka warna violet/ungu dari larutan kristal violet tidak tertahan dan meninggalkan warna merah dari larutan safranin (Nurhidayati *et al.*, 2015). Sedangkan bakteri gram positif memiliki dinding sel peptidoglikan yang tebal sehingga menahan warna violet/ungu dari larutan kristal violet dan tidak terhapus oleh dekolorisasi sehingga bertahannya warna ungu pada bakteri (Nurhidayati *et al.*, 2015). Setelah dilakukan pewarnaan gram, dilakukan karakterisasi morfologi sel dengan menggunakan mikroskop. Bentuk bakteri apakah berbentuk bulat (*coccus*), batang (*bacil*), dan bergelombang (*spiral*) (Irianto, 2006). Hasil karakterisasi morfologi sel bakteri dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4. 3 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 10 ⁻⁵ (putih)	Gram negatif	<i>Bacil</i>	
4	2.1 10 ⁻⁵ (putih)	Gram negatif	<i>Coccus</i>	
5	2.2 10 ⁻⁶ (orange)	Gram positif	<i>Coccus</i>	
6	2.2 10 ⁻⁶ (putih)	Gram negatif	<i>Coccus</i>	
7	3.1 10 ⁻⁵ (orange)	Gram positif	<i>Coccus</i>	
8	3.1 10 ⁻⁵ (putih)	Gram negatif	<i>Bacil</i>	

Sumber: Hasil Penelitian

Dari tabel di atas, dapat disimpulkan bahwa mayoritas bakteri yang ada pada titik sampling 1 memiliki mayoritas jenis bakteri *coccus* dengan jenis gram negatif dan positif serta ada bakteri *bacil* gram negatif. Pada titik sampling 2 memiliki jenis bakteri *coccus* gram positif dan negatif, sedangkan pada titik sampling 3 memiliki jenis bakteri *bacil* gram negatif dan *coccus* gram positif.

4.3.4 Seleksi Bakteri

Seleksi bakteri dilakukan dengan 2 tahap, yaitu tahap pertama menggunakan media padat dan tahap kedua menggunakan media cair. Pada tahap pertama seleksi bakteri, ke-6 bakteri yang tumbuh pada NA miring diinokulasi ke agar plate yang mengandung media DNB + *bacto agar* 2% + larutan Cd 2 ppm dan diinkubasi selama 14 hari. Hasil inkubasi menyatakan bahwa hanya 4 jenis bakteri yang berhasil tumbuh pada ujiantang logam kadmium. Pada media dengan konsentrasi logam sebesar 2 ppm isolat S₁, S₂, S₃, dan S₄ tumbuh dengan baik, sedangkan isolat S₅, S₆, S₇, dan S₈ pada media yang memiliki konsentrasi sama yaitu 2 ppm tidak terjadi pertumbuhan koloni sama sekali. Hasil inkubasi dapat dilihat pada Lampiran 5.

Tahap kedua seleksi bakteri, 4 jenis bakteri yang tumbuh pada tahap pertama dilakukan inkubasi pada media cair yang berisi media DNB + larutan logam 2 ppm dan diinkubasi di *water bath* dengan suhu 30°C selama 14 hari dengan putaran 100 rpm. Pada inkubasi tahap kedua dilakukan pengecekan nilai OD menggunakan spektrofotometer selama 5 hari sekali. Hasil pengecekan nilai OD dapat dilihat pada Lampiran 1.

Bakteri yang digunakan untuk agen bioremediasi adalah bakteri yang memiliki nilai OD paling tinggi karena pertumbuhan bakteri berjalan dengan baik. Inkubasi diberhentikan pada hari ke-12 karena nilai OD dari hari ke 5 ke hari ke 10 turun cukup banyak, dikhawatirkan bakteri sudah memasuki fase kematian. Maka dapat disimpulkan bahwa, bakteri yang digunakan adalah bakteri S₁ yang memiliki nilai OD paling besar yaitu 0,279. Bakteri S₁ merupakan bakteri dari titik sampling 3 dengan pengenceran 10⁻⁵ dan koloni berwarna orange dengan jenis bakteri *coccus* gram positif.

4.4 Pengaplikasian Bioremediasi Logam Cd Menggunakan Bakteri Pada Skala Besar

Bioremediasi dapat dilakukan secara *in-situ* dengan bakteri yang sudah dikembangkan sebelumnya di laboratorium. Bakteri yang sudah dikembangkan di laboratorium diinokulasikan untuk meremediasi logam pada tanah yang tercemar logam (Suryani, 2011). Semakin luas tanah atau lahan yang akan dibioremediasi akan semakin banyak juga kebutuhan bakteri yang akan digunakan. Pada proses bioremediasi secara *in-situ*, yang perlu diperhatikan adalah porositas tanah yang akan dibioremediasi. Porositas tanah dapat mempengaruhi persentase pada proses bioremediasi tanah yang tercemar logam, karena porositas atau ruang pada tanah dapat menjadi tempat hidup bakteri, dengan oksigen, air, dan zat lainnya yang terdapat pada tanah (Awaluddin & Tangahu, 2020).

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berikut adalah kesimpulan berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan:

1. Bakteri isolat S₁ yang merupakan bakteri *indigenus* dari tanah TPA Piyungan dinilai mampu untuk menurunkan konsentrasi larutan logam kadmium.
2. Hasil removal logam Cd menggunakan bakteri S₁ pada konsentrasi 2 ppm sebesar 25% dengan konsentrasi penurunan sebesar 1,4 ppm, dan konsentrasi 12 ppm sebesar 34% dengan konsentrasi penurunan 7,8 ppm.

5.2 Saran

Berikut adalah saran yang dapat diberikan berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan:

1. Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut dengan limbah logam yang digunakan berasal dari tanah TPA Piyungan.
2. Dilakukan perencanaan bioremediasi pada tanah TPA Piyungan secara *in situ*.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

- Ardila, R., Setyaji, G. W., Lalasati, N. A., Novendi, E., & Ilma, I. S. (2018). Pengelolaan Sampah TPST Piyungan: Potret Kondisi Persampahan Kota Yogyakarta, Kabupaten Bantul, dan Kabupaten Sleman. *Pengelolaan Lingkungan*.
- Arifin, M., Putri, N. D., Sandrawati, A., & Harryanto, R. (2018). Pengaruh posisi lereng terhadap sifat fisika dan kimia tanah pada inceptisols di Jatinangor. *Jurnal Soilrens*, 16.
- Arisandi, A., Tamam, B., & Yuliandari, R. (2016). Jumlah Koloni pada Media Kultur Bakteri yang Berasal dari Thallus DAN Perairan Sentra Budidaya Kappaphycus Alvarezii di Sumenep. *Jurnal Ilmiah Rekayasa*, 9(1), 43–48.
- ATCC. (2023). Introduction to microbiology. In *Biochemistry and Molecular Biology Education*. <https://doi.org/10.1002/bmb.2002.494030029997>
- Awaluddin, M., & Tangahu, B. V. (2020). Studi Literatur Bioremediasi Tanah Terkontaminasi Kromium di Kecamatan Jetis, Kabupaten Mojokerto Menggunakan Bakteri Azotobacter S8 dan Bacillus substillis. *Jurnal Teknik*, 9(2), 2–6.
- Az-Zahra, S., Dj, R. S., & Wardhani, E. (2014). Karakteristik Kualitas Air Baku & Lumpur sebagai Dasar Perencanaan Instalasi Pengolahan Lumpur IPA Badak Singa PDAM Tirtawening Kota Bandung. *Jurnal Rekayasa Lingkungan*, 2(2).
- Azizah, A., & Soesetyaningsih, E. (2020). Akurasi Perhitungan Bakteri pada Daging Sapi Menggunakan Metode Hitung Cawan. *Jurnal Berkala Sainstek*, 8(3), 75–79. <https://doi.org/10.19184/bst.v8i3.16828>
- Babatunde, A. O., & Zhao, Y. Q. (2007). Constructive approaches toward water treatment works sludge management: An international review of beneficial reuses. In *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* (Vol. 37, Issue 2, pp. 129–164). <https://doi.org/10.1080/10643380600776239>
- Batubara, U. M., Susilawati, I. O., & Riany, H. (2015). Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Indigenous Tanah Di Kawasan Kampus Universitas Jambi Isolation and Characterization of Indigenous Soil Bacteria in. *Prosiding Semirata 2015*

Bidang MIPA BKS-PTN Barat, 243–250.

- Chalid, L. M. F. (2022). *Analisis Kandungan Logam Berat Cd, Cu, dan Pb menggunakan Metode Spektrofotometer Serapan Atom Pada Tanah TPA Piyungan, Bantul* [Skripsi Sarjana, Universitas Islam Indonesia]. <https://dspace.uui.ac.id/bitstream/handle/123456789/41274/18513052.pdf?sequence=1>
- Departemen Kesehatan dan Layanan Kemanusiaan Amerika Serikat. (2012). Toxicological Profile for Cadmium. *ATSDR's Toxicological Profiles*. https://doi.org/10.1201/9781420061888_ch48
- Dewi, T. K., Suryanggono, J., & Agustyani, D. (2016). Isolasi dan uji aktivitas bakteri penghasil hormon tumbuh IAA (Indole-3-Acetic Acid) dan Bakteri Perombak Protein dari Tanah Pertanian Tual, Maluku Tenggara. *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON*, 2(2), 271–276. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m020226>
- Fibrianti, B. L., Fatzuarni, R., & Puspitasari, N. (2019). Biosorpsi Logam Berat Cadmium (Cd) Menggunakan Biomassa Bakteri Asam Laktat Lokal Riau. *Prosiding Seminar Nasional Pelestarian Lingkungan*.
- Gultom, E. S., Nasution, M. Y., & Ayu, A. (2017). Seleksi Bakteri Pendegradasi Plastik Dari Tanah. *Jurnal Generasi Kampus*, 10(2).
- Irianto, K. (2006). *Mikrobiologi: Menguak Dunia Mikroorganisme Jilid 1*. 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), 136–140.
- Jebriil, N., Boden, R., & Braungardt, C. (2022). Cadmium resistant bacteria mediated cadmium removal: a systematic review on resistance, mechanism and bioremediation approaches. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 1002, Issue 1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1002/1/012006>
- Khoiroh, Z. (2014). *Bioremediasi Logam Berat Timbal (Pb) dalam Lumpur Lapindo Menggunakan Campuran Bakteri (Pseudomonas pseudomallei dan*

- Pseudomonas aeruginosa*). <https://doi.org/10.1002/ejoc.201200111>
- Kumar, A., Bisht, B. S., & Joshi, V. D. (2010). Biosorption of Heavy Metals by Four Microbial Species, *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp., and *Aspergillus niger*. *Biology Environmental Science*, 4(12), 97–108.
- 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 Dan Kelautan*, 3(4), 81–92.
- Lizayana, Mudatsir, & Iswadi. (2016). Densitas Bakteri pada Limbah Cair Pasar Tradisional. *Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Biologi*, 1(1), 95–106.
- Lubis, S. S. (2020). Bioremediasi Logam Berat Oleh Fungi Laut. *Amina*, 1(2), 91–102. <https://doi.org/10.22373/amina.v1i2.411>
- Mahmudah, R., Baharuddin, M., & Sappewali. (2016). Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Lejja Kabupaten Soppeng. *Jurnal Al-Kimia*, 4(1), 31–42.
- Maulana, A., Supartono, & Mursiti, S. (2017). Bioremediasi Logam Pb pada Limbah Tekstil dengan *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(3), 256–261.
- Muyassar, M., & Budianta, W. (2021). Pencemaran Logam Berat Pada Tanah Di Sekitar Tempat Pembuangan Akhir (Tpa) Sampah Piyungan, Bantul, Yogyakarta. *Kurvatek*, 6(1), 11–22. <https://doi.org/10.33579/krvtk.v6i1.2146>
- Napitupulu, H., Rumengan, I. F., Wullur, S., & Ginting, E. L. (2018). *Bacillus* sp. Sebagai Agenia Pengurai dalam Pemeliharaan *Brachionus rotundiformis* yang Menggunakan Ikan Mentah Sebagai Sumber Nutrisi. *Jurnal Ilmiah Platax*, 6(1), 29–41.
- Nufus, B. N., Tresnani, G., & Faturrahman. (2016). Populasi Bakteri Normal dan Bakteri Kitinolitik Pada Saluran Pencernaan Lobster Pasir (*Panulirus homarus* L.) yang diberi Kitosan. *Jurnal Biologi Tropis*, 16(1), 15–23.
- Nurhidayati, S., Faturrahman, F., & Ghazali, M. (2015). Deteksi Bakteri Patogen yang Berasosiasi dengan *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Bergejala Penyakit Ice-Ice. *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan*, 1(2), 24–30. <https://doi.org/10.29303/jstl.v1i2.53>

- Purwanti, I. F., Kurniawan, S. B., Ismail, N. 'Izzati, Imron, M. F., & Abdullah, S. R. S. (2019). Aluminium removal and recovery from wastewater and soil using isolated indigenous bacteria. *Journal of Environmental Management*, 249(August), 109412. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109412>
- 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>
- Rahadi, B., Susanawati, L. D., & Agustianingrum, R. (2019). Bioremediasi Logam Timbal (Pb) Menggunakan Bakteri Indigenous Pada Tanah Tercemar Air Lindi (Leachate). *Jurnal Sumberdaya Alam Dan Lingkungan*, 6(3), 11–18. <https://doi.org/10.21776/ub.jsal.2019.006.03.2>
- Rahmanianda, A. (2015). *Bioremediasi Logam Berat Kadmium (Cd) Oleh Skeletonema Sp.* Universitas Airlangga.
- Sabdaningsih, A., Budiharjo, A., & Kusdiyantini, E. (2013). Isolasi Dan Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri Asosiasi Alga Merah (Rhodophyta) Dari Perairan Kutuh Bali. *Jurnal Biologi*, 2(2), 11–17.
- Sasmitha, R. D. (2018). *Uji Potensi Bioremediasi Logam Berat Kadmium (Cd) dan Tembaga (Cu) oleh Mikroalga Skeletonema costatum.* Universitas Brawijaya.
- Setiawati, M. R., Suryatmana, P., Herdiyantoro, D., & Ilmiyati, Z. (2014). Karakteristik Pertumbuhan dan Waktu Generasi Isolar Azotobacter sp. dan Bakteri Endofilik Asal Ekosistem Lahan Sawah. *Jurnal Agroekotek*, 6(1), 12–20.
- Setyoningrum, H. M., Hadisusanto, S., & Yuniyanto, T. (2014). Kandungan Kadmium (Cd) Pada Tanah dan Cacing Tanah di TPAS Piyungan, Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta. *Jurnal Manusia Dan Lingkungan*, 21(2), 149–155.
- Sharma, H., Rawal, N., & Mathew, B. B. (2015). the Characteristics, Toxicity and Effects of Cadmium. *International Journal of Nanotechnology and Nanoscience*, 3(January), 1–9.
- Sucipto, C. D. (2012). *Teknologi Pengolahan Daur Ulang Sampah* (Cet. 1). Gosyen

Publishing.

- Suryani, Y. (2011). Bioremediasi Limbah Merkuri Dengan Menggunakan Mikroba Pada Lingkungan Yang Tercemar. *Istek*, 5(1–2), 139–148.
- Sutton, S. (2011). Accuracy of Plate Counts. *Journal of Validation Technology*, 17(3), 42–46. <http://connection.ebscohost.com/c/articles/65302618/accuracy-plate-counts>
- Verdian, T. (2015). *Resistensi dan Potensi Bacillus Sebagai Bioremoval Logam Kadmium (Cd)*. Institut Teknologi Sepuluh November.
- Wahyu, W., Astiana, S., & Raymond, J. R. (2008). *Efek Toksik Logam: Pencegahan dan Penanggulangan Pencemaran*. Andi.
- Waluyo, L. (2005). *Mikrobiologi Lingkungan*. UMM Press.
- Wardhani, A. K., Uktolseja, J. L. ., & Djohan. (2020). Identifikasi Morfologi Dan Pertumbuhan Bakteri Padapada Cairan Terfermentasi Silase Pakan Ikan. *Seminar Nasional Pendidikan Biologi Dan Saintek (SNPBS) Ke-V*, 5(1), 411–419.
- Wijaya, I. P. K., Lestari, W., Ariyanti, N., Pandu, J., Saifuddin, F., Utama, W., & Bahri, A. S. (2018). Studi Kelayakan Perangkap CO₂ Berdasarkan Analisa Fisik Sedimen (Studi Kasus : Formasi Kabuh, Cekungan Jawa Timur Utara). *IPTEK Journal of Proceedings Series*, 0(1). <https://doi.org/10.12962/j23546026.y2018i1.3386>
- Xu, Y., Xu, Z., Cai, Z., & Reverchon, F. (2013). Review of denitrification in tropical and subtropical soils of terrestrial ecosystems. *Journal of Soils and Sediments*, 13(4), 699–710. <https://doi.org/10.1007/s11368-013-0650-1>
- Zahoor, A., & Rehman, A. (2009). Isolation of Cr(VI) reducing bacteria from industrial effluents and their potential use in bioremediation of chromium containing wastewater. *Journal of Environmental Sciences*, 21(6), 814–820. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(08\)62346-3](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(08)62346-3)

LAMPIRAN

Lampiran 1. Nilai OD seleksi bakteri

Hari 0	
S ₁	0,009
S ₂	0,007
S ₃	0,008
S ₄	0,007
Hari 5	
S ₁	0,322
S ₂	0,088
S ₃	0,165
S ₄	0,141
Hari 10	
S ₁	0,290
S ₂	0,115
S ₃	0,140
S ₄	0,118
Hari 12	
S ₁	0,279
S ₂	0,100
S ₃	0,140
S ₄	0,109

Sumber: Hasil Penelitian

Lampiran 2. Nilai hasil uji konsentrasi logam Cd menggunakan AAS pada proses bioremediasi oleh bakteri S₁ terhadap logam Cd

Hari	2 ppm	12 ppm
0	1,90	11,71
5	1,42	8,12
10	1,83	7,87
14	1,81	7,78

Sumber: Hasil Penelitian

Lampiran 3. Nilai OD bioremediasi oleh bakteri S₁ terhadap logam Cd

Hari	2 ppm	12 ppm
0	0,009	0,002
5	0,115	0,180
10	0,114	0,194
14	0,114	0,157

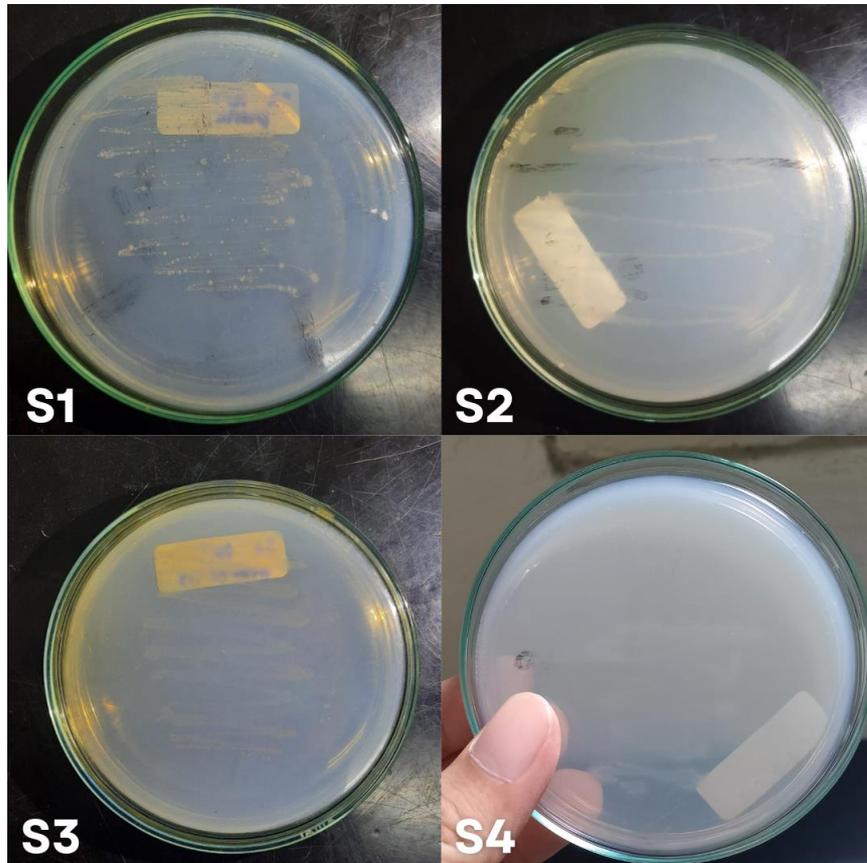
Sumber: Hasil Penelitian

Lampiran 4. Hasil nilai perhitungan koloni bakteri

Hari	2 ppm	12 ppm
0	737	428
5	298	187
10	70	54
14	0	0

Sumber: Hasil Penelitian

Lampiran 5. Seleksi bakteri yang tumbuh di *plate agar*



RIWAYAT HIDUP

Nama penulis pada penelitian tugas akhir ini adalah Ahsana Hasany Riyadi yang lahir pada 23 Mei 2001 di Ponorogo, Jawa Timur. Penulis merupakan anak pertama dari 3 bersaudara. Ayah penulis bernama Imam Riyadi dan Ibu penulis bernama Nurul Khoiriah. Riwayat Pendidikan yang dimiliki penulis yaitu TK A di TK Al-Athfal Jakarta Selatan pada tahun 2005, TK B di Al-Husna Kota Tangerang pada tahun 2006, sekolah dasar di Sekolah Dasar Islam Annajah Jakarta Selatan pada tahun 2007-2013, kemudian sekolah menengah pertama di Madrasah Tsanawiyah Annajah Jakarta Selatan pada tahun 2013-2016, sekolah menengah atas di Madrasah Aliyah Annajah Jakarta Selatan 2016-2019, dan meneruskan perkuliahan di Universitas Islam Indonesia pada Program Studi Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan pada tahun 2019-2023.

Penulis memiliki kegiatan aktif di luar kegiatan akademik yaitu sempat mengikuti Komunitas Bakti Desa (KBD) pada tahun 2019 dan Himpunan Mahasiswa Teknik Lingkungan (HMTL) periode 2022-2023 sebagai staff Departemen Informasi dan Komunikasi. Untuk kegiatan di kegaitan akademik, penulis sempat mengikuti kegiatan asisten praktikum Mikrobiologi Lingkungan pada tahun 2023. Selain itu, penulis turut aktif dalam mengikuti kepanitiaan seperti Lintas Lingkungan 2020 dan Envirolympics (EPIC) 2021.