

LAPORAN TAHUNAN
PENELITIAN FUNDAMENTAL



**PEMANFAATAN BERBAGAI JENIS BAKTERI DALAM
PROSES BIOLEACHING LIMBAH LOGAM BERAT**

Tahun ke 1 Dari Rencana 2 Tahun

TIM PENGUSUL

Prof. DR. Ishak Isa, M.Si (NIDN: 0026056106) (Ketua)

Yuliana Retnowati, S.Si., M.Si (NIDN: 0017077710) (Anggota)

UNIVERSITAS NEGERI GORONTALO

Oktober 2013

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Kegiatan : Pemanfaatan Berbagai Jenis Bakteri Dalam Proses Bioleaching Limbah Logam Berat

Peneliti / Pelaksana

Nama Lengkap : Prof. Dr. ISHAK ISA M.Si

NIDN : 0026056106

Jabatan Fungsional :

Program Studi : Pendidikan Biologi

Nomor HP : 081356139399

Surel (e-mail) : isi@ung.ac.id

Anggota Peneliti (1)

Nama Lengkap : YULIANA RETNOWATI

NIDN : 0017077710

Perguruan Tinggi : UNIVERSITAS NEGERI GORONTALO

Institusi Mitra (jika ada)

Nama Institusi Mitra :

Alamat :

Penanggung Jawab :

Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun

Biaya Tahun Berjalan : Rp. 46.500.000,00

Biaya Keseluruhan : Rp. 100.000.000,00



Gorontalo, 16 - 10 - 2013,
Ketua Peneliti,

(Prof. Dr. ISHAK ISA M.Si)
NIP/NIK196105261987031005

ABSTRAK

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah ditemukannya berbagai jenis bakteri tertentu yang mampu menghilangkan dan membersihkan limbah logam berat yang berbahaya di lingkungan seperti logam merkuri (Hg), timbal (Pb), dan kadmium (Cd). *Bioleaching* merupakan suatu proses pelarutan/pelepasan logam atau pengambilan (ekstraksi) logam dari sedimen atau mineral sukar larut menjadi bentuk yang larut dengan menggunakan bakteri. Bakteri yang akan digunakan adalah bakteri hasil isolasi dari kawasan tambang emas di desa Hulawa kecamatan Sumalata Timur. Proses *Bioleaching* merupakan teknologi alternative yang dapat dikembangkan sebagai salah satu teknologi untuk memperoleh (*recovery*) logam di masa datang. Salah satu penerapan proses ini adalah untuk melepaskan dan mengekstraksi logam berat yang ada dalam sedimen, sehingga sedimen tersebut bebas logam berat dan aman terhadap lingkungan. Proses bioleaching dilakukan dengan memasukan sedimen yang mengandung logam berat ke dalam wadah (botol) dan diinokukulasi dengan 10% (v/v) bakteri *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Thiobacillus ferrooxidans* dan *Bacillus sp*. Pengambilan sampel di lakukan setiap 5 hari sekali selama 15 minggu, sampel sentrifugasi dan supernatant di gunakan untuk mengukur pH dan menentukan kadar logam berat yang terlarut dengan menggunakan *Flame Atomic Absorption Spectroscopy* (FAAS). Pada peneltian tahun pertama akan dicari isolat beberapa jenis bakteri yang memiliki kemampuan untuk menguraikan dan menghilangkan toksisitas logam berat. Tahun ke dua isolat bakteri yang telah didapat digunakan untuk bioleaching limbah logam berat artifisial.

Kata kunci: *Bioleaching*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Thiobacillus ferrooxidans*, *Bacillus sp*

KATA PENGANTAR

Punji syukur saya panjatkan ke hadirat Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik.

Tujuan penelitian ini adalah ditemukannya berbagai jenis bakteri tertentu yang mampu menghilangkan dan membersihkan limbah logam berat yang berbahaya di lingkungan seperti logam merkuri (Hg). *Bioleaching* merupakan suatu proses pelarutan/ pelepasan logam atau pengambilan (ekstraksi) logam dari sedimen atau mineral sukar larut menjadi bentuk yang larut dengan menggunakan bakteri. Bakteri yang akan digunakan adalah bakteri hasil isolasi dari kawasan tambang emas di desa Hulawa kecamatan Sumalata Timur. Proses *Bioleaching* merupakan teknologi alternative yang dapat dikembangkan sebagai salah satu alternatif untuk membersihkan limbah logam berat di masa datang.

Hasil yang telah diperoleh pada penelitian awal adalah ditemukannya beberapa isolat bakteri yang resisten terhadap logam berat merkuri hingga konsentrasi 10 ppm. Jenis bakteri ini masih dalam tahap identifikasi di LIPI Jakarta. Setelah diketahui jenis isolat murni selanjutnya bakteri tersebut digunakan untuk proses bioleaching logam merkuri. Dari bererapa penelitian yang ada umumnya bakteri yang terdapat daerah tambang adalah jenis *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Thiobacillus ferrooxidans* dan *Bacillus sp.*

Pada peneltian tahun pertama akan dicari isolat beberapa jenis bakteri yang memiliki kemampuan untuk menguraikan dan menghilangkan toksisitas logam berat.Tahun ke dua isolat bakteri yang telah didapat digunakan untuk bioleaching limbah logam berat artifisial.

Laporan ini dibuat sebagai bentuk pertanggungjawaban dana hibah penelitian desntralisasi tahun 2013 dari DP2M Dikti. Untuk itu saya menyampaikan terima kasih kepada Direktur DP2M beserta staf atas bantuan dana diberikan.

DAFTAR ISI

	Halaman
Lembar Pengesahan.....	i
Abstrak.....	ii
Kata Pengantar.....	iii
Daftar Isi.....	iv
Daftar Tabel.....	v
Daftar Gambar.....	vi
Lampiran.....	vii
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Pencemaran Lingkungan.....	5
2.2. Logam Berat.....	5
2.3. Bakteri Leaching.....	7
2.4. Proses Biooilkkeaching Pada Bahan Peqqncemaran.....	10
2.5. Mekanisme Biobleaching.....	11
2.6. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Proses Biobleaching.....	15
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	
3.1 Tujuan Penelitian.....	17
3.2 Manfaat Penelitian.....	17
BAB IV. METODE PENELITIAN	
4.1. Pentahapan Penelitian.....	18
4.2. Bahan dan Alat Penelitian.....	20
4.3. Prosedur Penelitian.....	21
BAB V. HASIL YANG DICAPAI	
5.1. Analisis Logam Hg pada Limbah Tambang.....	24
5.2. Optical Density Bakteri Resisten Merkuri.....	25
BAB VI. RENCANA PENELITIAN SELANJUTNYA.....	26
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN	
7.1 Kesimpulan.....	27
7.2 Saran.....	27
DAFTAR PUSTAKA.....	28
LAMPIRAN.....	30

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil Analisis Kadar Merkuri pada Sampel Tanah.....	24
Tabel 2. Optical Density Bakteri Resisten Merkuri pada Air.....	25
Tabel 3. Optical Density Bakteri Resisten Merkuri pada Tanah.....	25

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Bioleaching of Sphalarite.....	12
Gambar 2.2. Mekanisme Interaksi Bakteri-Logam.....	15
Gambar 3.1. Bagan Alur Penelitian.....	19

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Catatan Harian.....	30
Lampiran 2. Foto Dokumentasi Penelitian.....	

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan dan pertumbuhan industri disamping memberikan kesejahteraan bagi masyarakat, juga menghasilkan limbah. Limbah yang dihasilkan dari proses industri antara lain mengandung logam berat yang dapat berasal dari industri peleburan baja, baterai, dan cat atau pewarna. Di lingkungan perairan logam-logam ini akan mengendap bersama lumpur atau sedimen sebagai sulfide, karbonat dan posfat yang tidak larut. Wong dan Heri (1984) dalam Coullard dan Zhu (1992) mengungkapkan bahwa kandungan logam berat dalam lumpur atau sedimen berkisar 0,5-2% berat kering. Sementara Lester et al (1983) dalam Coullard dan Zhu (1991) mengatakan bahwa beberapa kasus konsentrasi logam berat Cr, Cu, Pb, dan Zn dalam sedimen mencapai 4% (w/w) berat kering.

Logam berat timbal, cadmium, merkuri banyak digunakan dalam industri peleburan besi dan baja, industri baterai, industri electroplating, industri cat, warna/tekstil, kabel listrik dan bahan aditif pada bahan bakar kendaraan bermotor, amalgama gigi (Stokinger, 1981., WHO, 1995). Oleh sebab itu bila limbah industri tersebut dibuang ke lingkungan perairan yaitu sedimen atau lumpur maka akan menyebabkan penyemaran dari logam berat tersebut. Untuk menghilangkan dan mengekstrak logam berat yang terdapat pada lumpur atau sedimen maka diperlukan suatu teknologi baru dengan bantuan bakteri leaching. Dengan proses tersebut kadar logam berat pada lumpur atau sedimen dapat dihilangkan atau diminimalkan sehingga aman terhadap lingkungan (Chendan Lin, 2000).

Saat ini telah berkembang fenomena pemanfaatan mikroba dalam menangani limbah logam berat. Ehrlich (1992) mengungkapkan beberapa bakteri, fungi, alga, dan sebangsa tumbuhan lumut mampu melarutkan mineral, selain itu beberapa mikroba juga mampu untuk menghilangkan atau mengeluarkan logam dari larutan. Melalui proses bacterial leaching (*bioleaching*) dapat diperoleh kembali (*recovery*) dari batuan mineral atau sedimen yang mengandung logam yang berkadar rendah. Teknologi ini pada awalnya digunakan pada proses penambangan logam tembaga (Cu) dan emas (Au) dari bijinya dengan

pertimbangan bahwa mineral yang mengandung logam tersebut mempunyai prospek yang baik (Lawrence,1990). Namun saat ini kebanyakan logam seperti Cd, As, Mo, Ni, Ti, Pb dalam bentuk mineral sulfide atau dalam biji lain dapat diekstraksi atau diperoleh dengan metode bioleaching (Crueger dan Crueger,1984).

Bioleaching merupakan suatu proses untuk melepaskan (*remove*) atau mengekstraksi logam dari mineral atau sedimen dengan bantuan organisme hidup atau untuk merubah mineral sulfid yang sukar larut menjadi bentuk yang larut dalam air dengan memanfaatkan mikro organisme (Brandl, 2001). Sementara Bosecker (1987) mengungkapkan bahwa bioleaching merupakan suatu proses ekstraksi logam yang dilakukan dengan bantuan bakteri yang mampu mengubah senyawa logam yang tidak dapat larut menjadi senyawa logam sulfat yang dapat larut dalam air melalui reaksi biokimia. Bioleaching logam berat dapat melalui oksidasi dan reduksi logam oleh mikroba, pengendapan ion-ion logam pada permukaan sel mikroba untuk menyerap ion logam (Chen dan Wilson, 1997). Bioleaching merupakan teknologi alternative yang dapat dikembangkan sebagai salah satu teknologi untuk memperoleh (*recovery*) logam di masa yang akan datang.

Bakteri yang digunakan dalam proses bioleaching antara lain *Thiobacillus ferrooxidans*, *T.thiooxidans*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida* *Bacillus Licheniformis*, *B.Cereus* (Crueger dan Crueger (1984). Bakteri *T. ferrooxidans* diketahui mampu dan telah lama digunakan pada bioleaching tembaga dan emas. Bakteri *T.ferrooxidans* mampu melarutkan sulfide logam (MS) menjadi ion sulfat (SO_4^{2-}) dan ion logam (M^{2+}). Selanjutnya kedua ion ini akan membentuk larutan senyawa logam sulfat (MSO_4). Dari proses tersebut logam dapat dipisahkan dan diperoleh kembali secara bioleaching (Rossi dan Ehrlich, 1990). Beberapa penelitian menunjukkan bakteri lain seperti *P. fluorescens*, *Bacillus sp*, dan *E. coli* mampu melarutkan dan mengakumulasi logam berat. Umumnya bakteri ini ditemukan di lingkungan seperti pada areal tambang.

Beberapa penelitian yang telah memanfaatkan bakteri dalam proses bioleaching antara lain; Duncan dan Trussel, dan Torma dalam Rossi dan Ehrlich (1990) meneliti kemampuan bakteri *T. ferrooxidans* pada *bioleaching* mineral nikel dan hasilnya Ni yang dihasilkan relative tinggi, serta bakteri ini mampu

bertahan pada larutan nikel hingga konsentrasi 72 g/dm³. Suharti (1998) menggunakan mikroba *T ferrooxidans* dengan variasi waktu inkubasi untuk melarutkan senyawa tembaga dari limbah PT. Sier Surabaya, sedangkan Mullen dkk (1989) memanfaatkan *B. cereus*, *B. subtilis*, *E coli*, *P. aeruginosa* untuk menghilangkan ion Ag⁺, Cd²⁺, Cu²⁺, dan ion La³⁺ dari larutan. Wang et al (1997) memanfaatkan bakteri *P. fluorescens* untuk menghilangkan cadmium dari larutan.

Proses bioleaching logam berat terjadi melalui metabolik langsung maupun tidak langsung. Efektifitas proses bioleaching dipengaruhi oleh waktu kontak bakteri dengan permukaan partikel. Waktu kontak inokulan bakteri dapat mempengaruhi pada daya *leaching* bakteri terhadap logam. Seidel *et al* (2001) mengungkapkan waktu kontak bakteri dengan partikel dalam medium sangat berpengaruh pada pelarutan (*leaching*) logam, makin lama kontak bakteri dalam medium makin banyak bakteri yang melekat pada permukaan partikel dengan sendirinya makin banyak bakteri yang dapat melakukan *leaching*. Wang *et al* (1997) menunjukkan waktu kontak bakteri dengan partikel yang mengandung cadmium (Cd) berpengaruh pada pelepasan dan penyerapan Ion Cd dalam larutan. Di samping faktor waktu kontak bakteri, efektifitas proses bioleaching dipengaruhi pula oleh keberadaan dan konsentrasi logam berat lain dalam sampel (jenis limbah), pH, dan jenis bakteri yang dapat meningkatkan atau menghambat proses *bioleaching*. Tingginya kadar logam berat dalam sedimen limbah berpengaruh pada pertumbuhan bakteri bahkan menyebabkan matinya bakteri yang tidak tahan terhadap toksisitas logam tersebut.

Kemampuan bakteri seperti *P.fluorescens*, *E.Coli*, *Bacillus sp* dan *T ferrooxidans* pada bioleaching lo Pb, Hg, Cd relative belum banyak diteliti. Oleh sebab itu peran bakteri ini dalam bioleaching pada logam berat ini merupakan kajian yang masih perlu dikembangkan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan maka penelitian ini di rancang untuk menjawab pertanyaan penelitian sebagai berikut :

1. Apakah isolat bakteri dari kawasan penambangan emas Hulawa Sumalata Timut dapat digunakan pada proses bioleaching limbah?
2. Apakah waktu inkubasi dapat meningkatkan kadar logam berat pada proses bioleaching limbah?

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pencemaran Lingkungan

Pencemaran lingkungan dapat diartikan sebagai suatu kondisi lingkungan yang telah berubah dari bentuk asal ke keadaan yang lebih buruk sebagai akibat masukan bahan-bahan pencemar (polutan). Menurut Undang-Undang Republik Indonesia nomor 23 tahun 1997 pasal 1 ayat 12 tentang pengelolaan lingkungan hidup, pencemaran lingkungan hidup adalah masuknya atau dimasukkannya makhluk hidup, zat, energi, dan/atau komponen lain ke dalam lingkungan hidup oleh kegiatan manusia sehingga kualitasnya turun sampai ke tingkat tertentu yang menyebabkan lingkungan hidup tidak dapat berfungsi sesuai dengan peruntukannya (Anonimous, 1997). Sementara menurut Palar (1994) lingkungan hidup dikatakan tercemar apabila telah terjadi perubahan-perubahan dalam tatanan lingkungan itu sehingga tidak sama lagi dengan bentuk asalnya, sebagai akibat dari masuknya dan atau dimasukkannya suatu zat atau benda asing ke dalam tatanan lingkungan itu.

Perubahan yang terjadi sebagai akibat dari masuknya benda asing ini memberikan dampak buruk terhadap organisme yang sudah ada dan hidup dengan baik dalam tatanan lingkungan tersebut. Sehingga pada tingkat lanjut atau tingkatan yang lebih tinggi dapat memusnahkan bahkan menghilangkan satu atau lebih jenis organisme yang tadinya hidup secara normal dalam tatanan lingkungan itu. Dengan mengacu pada beberapa pengertian di atas maka dapat disimpulkan bahwa pencemaran lingkungan adalah terjadinya perubahan-perubahan dalam suatu tatanan lingkungan asal ke suatu tatanan baru yang lebih buruk dari tatanan asalnya sehingga lingkungan tidak berfungsi lagi sebagaimana mestinya.

2.2 Logam berat

Logam berat termasuk golongan logam yang mempunyai berat jenis lebih besar dari 5 g/mL dan sebagian besar mempunyai nomor atom 22-34 dan 40-50 serta unsur-unsur Lantanida dan Aktinida (Palar, 1994). Ditinjau dari toksisitasnya logam berat merupakan logam yang mempunyai sifat racun sangat

tinggi dan berbahaya. Beberapa logam berat yang beracun tersebut adalah *As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Se, dan Zn*.

Beberapa logam berat merupakan logam esensial seperti Cu, Zn dan Ni. Logam-logam ini diperlukan oleh tubuh dalam jumlah yang sedikit, bila kebutuhan logam ini tidak terpenuhi dapat menimbulkan gangguan terhadap kelangsungan makhluk hidup. Logam berat ini biasanya dibutuhkan pada reaksi enzimatik sebagai ko-faktor atau aktifator. Enzim plastosiamin yang berfungsi pada proses fotosintesis pada tumbuhan dan enzim ceruplasmin yang berfungsi sebagai penyerapan Fe pada tubuh manusia membutuhkan logam Cu sebagai katalisator agar dapat berfungsi dengan baik (Palar, 1994).

Keberadaan logam berat diperairan selain disebabkan aktivitas manusia yaitu dari limbah industri, dapat juga disebabkan oleh sumber-sumber alamiah yang berasal dari pengikisan batuan mineral. Disamping itu partikel logam di udara yang dihasilkan dari asap kendaraan bermotor yang disebabkan oleh air hujan juga dapat menjadi sumber logam di badan perairan. Dari sumber logam berat tersebut maka polutan yang berasal dari limbah industri merupakan yang paling dominan dan sangat besar pengaruhnya terhadap lingkungan perairan. Limbah industri khususnya logam berat dapat mengendap pada sedimen atau berada dalam larutan, dalam bentuk ion dan dapat membahayakan kehidupan biota perairan seperti ikan, kerang dan biota lainnya serta dapat mengancam kesehatan manusia. Jumlah limbah yang berasal dari industri sangat bervariasi tergantung dari jenis dan besar kecilnya industri, pengawasan pada proses industri, tingkat penggunaan air, dan tingkat pengolahan air limbah yang ada.

Para ahli memperkirakan bahwa limbah industri yang masuk ke lingkungan akuatik mengandung berbagai macam polutan logam berat beracun. Limbah yang sangat beracun ini pada umumnya merupakan limbah kimia, apakah itu berupa persenyawaan kimia atau dalam bentuk unsur atau ion. Senyawa kimia yang terdiri atas bahan aktif dan logam berat sangat besar pengaruhnya dan beracun bagi organisme hidup dan manusia. Hal ini disebabkan oleh daya racun yang dimiliki bahan aktif dan logam berat tersebut akan bekerja sebagai penghalang kerja enzim dalam proses fisiologis atau metabolisme tubuh. Di

samping itu bahan beracun dan senyawa kimia juga dapat terakumulasi atau menumpuk dalam tubuh dan pada akhirnya akan berakibat keracunan kronis.

Peningkatan kadar merkuri, timbal dan kadmium pada sedimen dan kerang diperairan pantai Kenjeran (Pikir, 1993) menunjukkan bahwa logam berat ini sudah seharusnya mendapat perhatian dari semua pihak. Sebab kalau hal ini dibiarkan terus berlangsung maka dipastikan logam tersebut terakumulasi pada lingkungan perairan termasuk organisme yang hidup di dalamnya, sedimen, dan tidak menutup kemungkinan logam ini akan terakumulasi di dalam tubuh manusia.

2.3 Bakteri Leaching

Bakteri dapat dimanfaatkan untuk menghilangkan atau mengekstrak logam dari lingkungan (tanah, air, sedimen) yang terkontaminasi logam melalui mekanisme perubahan sifat kimia dari struktur pembentuk senyawa sebagai bioakumulasi, biotransformasi dan bioremediasi. Melalui mekanisme tersebut bakteri dapat menurunkan atau menghilangkan sifat toksik dari bahan pencemar (detoksifikasi). Demikian pula melalui mekanisme *bioleaching*, bakteri dapat menghasilkan produk berupa asam organik atau anorganik dan ligan yang mampu memobilisasi logam sehingga logam dalam sedimen limbah dapat dikeluarkan (Lloyd, 2002). Dilain pihak proses *bioleaching* pada limbah logam berat dapat menyebabkan toksisitas terhadap lingkungan, karena pada proses ini dihasilkan logam yang larut dalam bentuk ion yang lebih bersifat toksik (Tuttle dan Dugan, 1976 dalam Atlas dan Barha, 1993).

Beberapa bakteri yang dapat melakukan *leaching* pada lingkungan tercemar antara lain *P. fluorescens*, *E. coli*, *Bacillus sp* dan *T. ferrooxidans*.

a Pseudomonas fluorescens

Bakteri *P. fluorescens* dapat diklasifikasikan ke dalam klas Schazomycetes, ordo Pseudomonadales, famili *Pseudomonadaceae*, genus *Pseudomonas*, spesies *P. fluorescens*. Bakteri *P. fluorescens* merupakan bakteri sel tunggal, gram negatif berbentuk batang lurus atau melengkung, mempunyai ukuran 0,5-1,0 x 1,5-5 μm , dapat bergerak karena flagela atau motil, tidak membentuk spora dan tumbuh secara aerob. Bakteri ini dapat menggunakan H_2

atau CO₂ sebagai sumber energi, terdapat di tanah, air limbah, dan mampu mengolah sejumlah substrat organik, umumnya banyak berperan dalam proses biotrans-formasi misalnya dalam mendegradasi minyak.

P. fluorescens resisten tertiadap logam berat seperti Pb, Cd dan Cr, mampu menurunkan toksisitas Cr⁶⁺ menjadi Cr³ yang kurang toksik. Bakteri ini menghasilkan produk metabolit seperti asam organik dan metabolit lain seperti H₂S dan ligan yang dapat menghilangkan (*remove*) ion-ion logam berat dari larutan dan atau merubah menjadi spesies yang kurang toksik, bakteri tersebut juga telah bertiasil digunakan dalam meremediasi ion kadmium dalam larutan (Misra dalam Lederberg 1992). Malekzadeh *et al* (1996) mengisolasi bakteri *P. fluorescens* dari limbah elektroplating dan bakteri tersebut mampu mengikat kation logam uranium, tembaga, timbal dan ion-ion lain dari limbah tercemar logam berat.

b. *Escherichia coli*

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

E. coli dalam aktivitas metabolitnya menghasilkan produk asam organik, pigmen, ligan dan H₂S yang dapat menghilangkan (remove) ion-ion logam berat dari larutan dan merubah menjadi spesies yang kurang toksik. Bakteri ini telah terbukti mampu menghilangkan Hg²⁺, Cd²⁺, Cu²⁺ dari limbah, tanah dan sedimen atau larutan yang tercemar logam berat tersebut (Chen dan Wilson, 1997).

c. *Thiobacillus ferrooxidans*

Bakteri *T. ferrooxidans* dapat digolongkan ke dalam bakteri kemotrofik gram negatif, sel-selnya kecil berbentuk batang mempunyai ukuran 0,5 x 1-4 µm, dapat bergerak, autotrof fakultatif, aerob. Bakteri ini mampu mendapatkan energi yang berasal dari oksidasi satu atau lebih senyawa sulfur tereduksi seperti sulfida, tiosulfat atau dari oksidasi besi ferro (Fe²⁺) menjadi feri (Fe³⁺). Produk akhir dari bakteri ini menghasilkan senyawa sulfat dari senyawa sulfur yang dioksidasi. Temperatur optimum sekitar 28-30 30°C, pH untuk pertumbuhan 1,4-6,0 dengan pH optimum 2,5-5,8. Bakteri ini dijumpai pada lumpur, air laut, air tanah, tanah, limbah, daerah perairan asam dari tambang biji logam yang mengandung sulfida logam, seperti FeS, PbS, serta dapat merubah biji logam sulfida dan unsur belerang menjadi sulfat logam berat yang dapat larut dalam air. Bakteri *T. ferrooxidans* dalam metabolismenya menghasilkan asam organik, anorganik dan ligan, berhasil digunakan untuk meremediasi logam Cu, Ni dan mengekstrak emas (Au) dan krom (Cr) yang tercemar logam.

d. *Bacillus sp*

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

Bakteri *Bacillus sp* sangat toleran terhadap toksisitas logam berat serta mampu menghilangkan logam berat dari lingkungan yang tercemar dan kemampuan menyerap logam berat tinggi. Bakteri ini biasanya ditemui pada tanah yang tercemar logam berat dan resisten terhadap Pb dan Cr serta dapat mereduksi Cr⁶⁺ menjadi Cr³⁺ yang kurang toksik, dapat mengekstrak logam berat dari biji

logam dan dalam aktivitas metabolitnya menghasilkan produk asam-asam organik, kelat (Yilmaz, 2003).

2.4 Proses *Bioleaching* Pada Bahan Pencemaran

Pengolahan limbah industri secara biologi dengan tumbuhan eceng gondok, kangkung, selada air sudah lama diterapkan. Namun penanganan limbah dengan tumbuhan ini dapat menimbulkan masalah baru, yaitu perkembangan dari tumbuhan ini, misalnya eceng gondok yang begitu cepat dan sulit diatasi. Akan tetapi saat ini telah berkembang penggunaan mikroba untuk meleaching logam berat, yaitu suatu metode alternatif yang relatif lebih potensial dan ekonomis dibandingkan dengan metode yang telah ada sebelumnya. Hal ini disebabkan karena adanya interaksi antara logam berat dengan sel-sel mikroba yang tidak hanya mengakibatkan hilangnya logam berat dari limbah industri (sedimen), tetapi juga dimungkinkannya proses diperolehnya kembali (*recovery*) logam-logam tersebut. Bila ditinjau dari segi biaya maka proses pengolahan limbah industri dengan menggunakan mikroba ini lebih menguntungkan dan lebih murah karena tidak membutuhkan alat-alat yang canggih (Avery dan Tobin, 1992; Gray, 1989; Shunate dan Strandberg, 1985). Oleh sebab itu untuk masa yang akan datang sudah saatnya teknologi ini diterapkan pada pengolahan limbah industry, tambang emas, dan cemaran logam lainnya.

Keberadaan bakteri di lingkungan umumnya dapat mempercepat proses degradasi zat pencemar menjadi senyawa yang lebih sederhana. Bakteri mampu memecah senyawa kompleks yang berbahaya bagi lingkungan menjadi senyawa yang lebih sederhana yang ramah lingkungan. Selain membantu menurunkan toksisitas, keberadaan bakteri pada limbah atau polutan logam dapat juga menyebabkan toksisitas terhadap lingkungan yaitu melalui proses *bioleaching*. Bagi kalangan industri yang menghasilkan limbah logam berat khususnya logam Pb, kehadiran bakteri ini sangat tidak dikehendaki karena dapat melepaskan atau melarutkan logam berat dalam sedimen limbah ke lingkungan perairan.

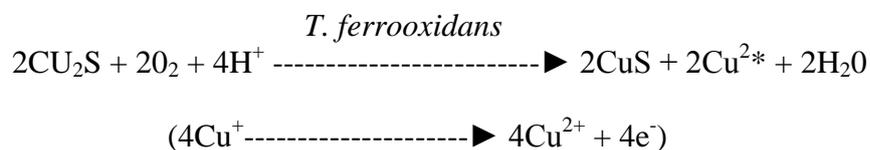
Bakteri yang digunakan atau dapat melakukan *leaching* pada limbah logam berat umumnya memiliki kemampuan mengakumulasi dan meng-hilangkan senyawa-senyawa kompleks logam berat. Jenis bakteri yang memiliki

kemampuan atau aktivitas *leaching* yang baik antara lain *T. ferrooxidans*, *P. fluorescens*, *E. coli* dan *Bacillus sp.* Bakteri *T. ferrooxidans* dapat hidup pada semua jenis batuan dan memiliki pilihan makanan yang paling aneh di antara banyak mikroba (Prentis, 1990). *T. ferrooxidans* memperoleh energi yang dipergunakan untuk aktivitas hidupnya dari senyawa anorganik melalui oksidasi besi (II) menjadi besi (III) (fero menjadi feri) dan oksidasi sulfur menjadi asam sulfat (Norris, 1990).

2.5 Mekanisme *Bioleaching*

Dalam proses metabolismenya bakteri mampu memobilisasi dan melakukan *leaching* logam berat melalui pembentukan asam organik dan anorganik, oksidasi dan reduksi, ekskresi agen kompleks. Pada proses *bioleaching* ini dihasilkan asam sulfat dan besi sulfat (Tuovinen, 1990, Brandl, 2001). Selanjutnya asam sulfat dan besi sulfat yang dihasilkan akan menyerang batuan disekelilingnya dan melepaskan atau melarutkan (*leaching*) mineral logam. Aktivitas bakteri ini akan mengubah mineral sulfida (MS) seperti tembaga sulfida (CuS), timbal sulfida (PbS) yang tidak larut menjadi senyawa tembaga sulfat (CuSO₄) dan menjadi timbal sulfat (PbSO₄) yang larut.

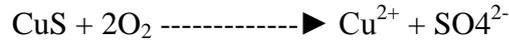
Mekanisme *bioleaching* logam berat oleh bakteri dari sulfida logam (MS) dapat dicapai melalui jalur metabolik langsung dan tidak langsung. Dalam mekanisme langsung sulfida logam dioksidasi menjadi logam sulfat yang larut, mekanisme tidak langsung melalui oksidasi sulfur dan sulfida logam menjadi senyawa sulfat (Atlas dan Bartha, 1993., Gadd, 1990). Mekanisme langsung sulfida logam chalcosit (Cu₂S) dapat ditunjukkan menurut reaksi:



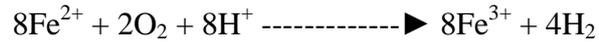
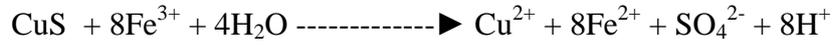
Mekanisme tidak langsung dapat melalui oksidasi sulfur dan ion ferro. Oksidasi melalui oksidasi sulfur mengikuti reaksi:



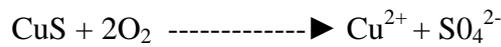
Keseluruhan reaksi terjadi adalah :



Mekanisme tidak langsung melalui oksidasi mineral sulfida oleh ion ferri (Fe^{3+}) mengikuti reaksi:

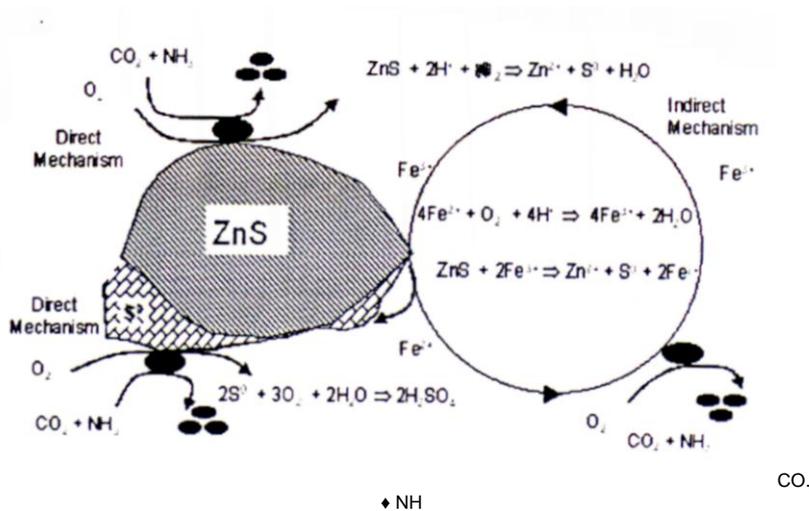


Keseluruhan reaksi adalah:



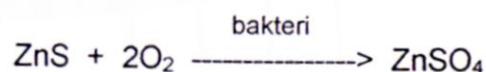
Sumber: Atlas dan Bartha (1993)

Hal yang sama dapat dilihat pada mekanisme *bioleaching* sphalerite yang ditunjukkan pada gambar 2.1 (Blake dan Shute dalam Brandl, 2001).

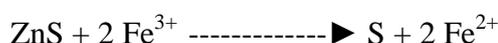


Gambar 2.1 Bioleaching of Sphalerite (Blake and Shute dalam Brandl, 2001)

Dari gambar 2.1 dapat digambarkan mekanisme sphalerite melalui mekanisme langsung dan tidak langsung. Mekanisme langsung sulfida logam (sphalerite) dioksidasi menjadi logam sulfat yang larut menurut reaksi:



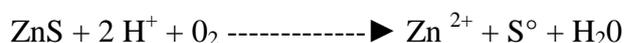
Mekanisme tidak langsung sulfida logam dioksidasi oleh ion feri menurut reaksi:



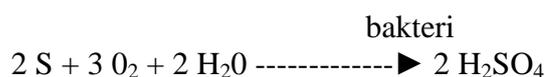
Ion fero yang terbentuk dioksidasi kembali oleh bakteri menurut reaksi:



Keberadaan H^+ dan O_2 dalam medium digunakan kembali untuk melarutkan ZnS menurut reaksi:



Sulfur bebas S^0 dioksidasi menjadi H_2SO_4 menurut reaksi:



Mengacu pada *bioleaching* sphalerite seperti ditunjukkan pada gambar 2.1, maka dapat dianalogikan bahwa mekanisme *bioleaching* logam berat Pb dapat melalui mekanisme langsung maupun mekanisme tidak langsung.

Mekanisme lain dari *Bioleaching* adalah melalui pelekatan tidak langsung oleh ligan organik yang dihasilkan bakteri dan membentuk suatu kompleks logam yang larut. Ligan organik yang dihasilkan bakteri ini berupa senyawa asam sitrat atau asam oksalat pada pH netral, di mana ligan ini akan membentuk ikatan yang kuat dengan ion logam sehingga logam tersebut dapat diekstrak dari mineral (Ehrlich, 1992). Disamping itu bakteri dapat memproduksi asam laktat, asam asetat, asam suksinat, asam piruvat, dan asam format yang menyebabkan asidolisis. Produk organik lain yang dihasilkan bakteri pada suasana alkalis antara lain asam amino atau peptida yang juga efektif sebagai ligan untuk melarutkan logam.

Blake dan Shute dalam Brandl (2001) menjelaskan mekanisme pelekatan bakteri pada proses *bioleaching* yaitu sel-sel bakteri menempel atau melekat pada permukaan mineral melalui kontak fisik bagian permukaan. Sel yang terbentuk

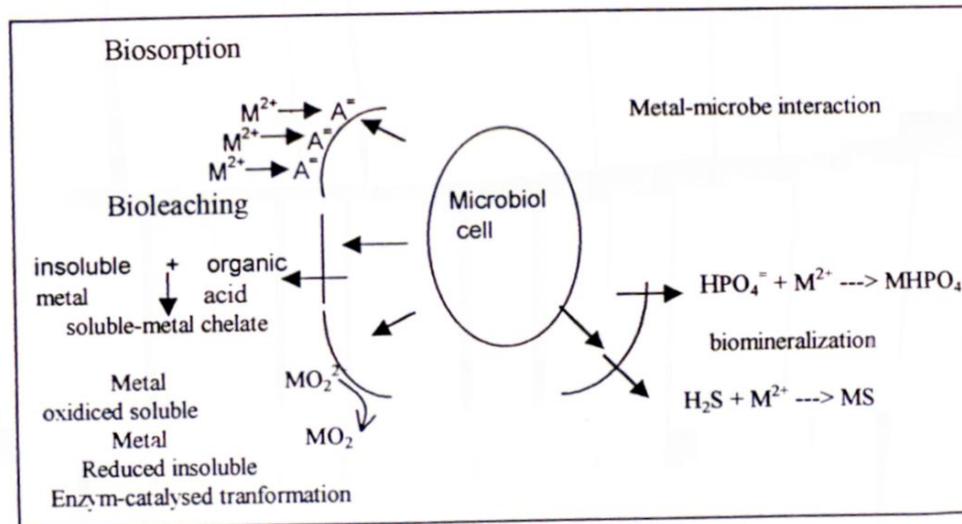
mengeluarkan exopolimer, exopolimer ini membungkus atau menjerap senyawa besi (Fe^{3+}) dan membentuk kompleks asam glukuronat. Tahap ini merupakan bagian utama dari proses mekanisme pelekatan. Tiosulfat yang terbentuk merupakan produk antara (*inter-mediate*) selama oksidasi senyawa sulfur. Sulfur atau politionat terbentuk di dalam periplasmatik (*periplasmatic space*) atau di dalam sel dioksidasi kembali. Di dalam periplasmatik ini ditempatkan enzim rusticyanin, cytochrome dan protein iron-sulfur, dengan demikian keberadaan sel bebas dalam medium yang habis digunakan mengoksidasi senyawa logam tereduksi.

Pembentukan exopolimer sangat penting dalam pelekatan mikroba pada permukaan mineral. Berkurangnya exopolimer dapat menghambat pelekatan dan menurunkan efisiensi *leaching* logam. Kontak langsung antara sel dengan permukaan padatan mineral adalah suatu prasyarat efektifnya mobilisasi logam. Interaksi antara bakteri dengan logam terjadi dalam 2 level, pertama penyerapan secara fisika karena gaya elektrostatik, sel bakteri menjerap muatan positif yang berguna untuk interaksi elektrostatik dengan fasa mineral. Ke dua, penyerapan secara kimia dimana ikatan kimia antara sel dengan mineral membentuk jembatan disulfida. Metabolit ekstraselular terbentuk dan dikeluarkan selama fase tersebut saat mendekati tempat pelekatan,

Lloyd (2002) mengemukakan bahwa mekanisme interaksi antara logam dengan bakteri dapat terjadi melalui *biosorption*, *bioleaching*, *biomineralization* dan *enzyme-catalysed transformation* seperti ditunjukkan pada gambar 2.2. Melalui mekanisme *biosorption*, logam dalam bentuk larutan dapat dihilangkan dengan diserap ke dalam biomassa. Permukaan sel menerima muatan negatif dari gugus karbonil, hidroksil, fosfat dan gugus sulfhidril, kemudian sel menyerap muatan positif kation logam. Pada mekanisme *biomineralization* fosfat-logam yang sedikit larut, bakteri mampu mengikat logam toksik ini sebagai biomineral fosfat tidak larut.

Suhendrayatna (2001) mengungkapkan mekanisme bioremoval ion logam berat melibatkan mekanisme *active uptake* dan *passive uptake*. *Passive uptake* dapat terjadi ketika ion logam berat mengikat dinding sel melalui pertukaran ion monovalen dan divalen, dan membentuk kompleks antara ion-ion logam berat

dengan gugus fungsional pada dinding sel. *Active uptake* terjadi secara simultan sejalan dengan konsumsi ion logam oleh mikroba, logam berat dapat diendapkan pada proses metabolisme dan diekskresikan pada tahap berikutnya. Baik mekanisme *passive uptake* maupun *active uptake* dapat berjalan secara serentak.



Gambar 2.2 Mekanisme interaksi bakteri - logam (Lloyd, 2002)

2.6 Faktor Yang Mempengaruhi Proses *Bioleaching*

Faktor yang mempengaruhi efektifitas *bioleaching* limbah logam JaS'dtf *artate* .laiP *pH*, *suhu*, ,keberadaan *logam lain da* lam larutan (jenis limbah), konsentrasi logam berat, waktu kontak bakteri, ukuran partikel (luas permukaan partikel) yang di *leaching*, serta kemampuan bakteri beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang ada (Atlas dan Bartha, 1993). Menurut Chen dan Wilson (1997) bahwa perbedaan pH di dalam air yang tercemar seringkali mempengaruhi proses pembersihan logam berat. Lebih lanjut Connel (1995); Darimont & Frenay dalam Chen & Wilson (1997); Kong *et al* (1995), mengemukakan bahwa pH merupakan salah satu faktor yang berpengaruh pada proses pembentukan spesies logam dan atau gerakan logam berat di dalam air.

Jenis limbah dan konsentrasi logam berat dapat mempengaruhi bakteri di dalam proses *bioleaching* logam. Tingginya kadar logam berat mengakibatkan

pertumbuhan bakteri terganggu bahkan menyebabkan matinya sejumlah bakteri yang tidak tahan terhadap logam tersebut. Hal ini disebabkan karena setiap bakteri memiliki toleransi yang berbeda terhadap logam berat. Selain itu proses *leaching* dipengaruhi oleh waktu kontak bakteri dalam medium dengan permukaan partikel. Menurut Seidel *et al* (2001) bahwa pelekatan bakteri pada permukaan partikel dipengaruhi waktu, dimana makin lama waktu kontak bakteri dalam medium makin banyak bakteri yang melekat pada permukaan partikel dan makin banyak bakteri yang dapat melakukan aktivitas leachingnya.

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

BAB. III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

3.1.1 Tujuan umum

Penelitian ini bertujuan mempelajari pengaruh beberapa jenis isolat bakteri terhadap peningkatan kadar logam berat Hg pada proses bioleaching limbah.

3.1.2 Tujuan khusus

Secara spesifik penelitian ini adalah untuk mendapatkan hasil kajian tentang :

1. Pengaruh inokulan isolate bakteri terhadap peningkatan perolehan kadar logam berat Hg pada proses bioleaching limbah
2. Pengaruh waktu inkubasi terhadap peningkatan kadar logam berat Hg pada proses bioleaching limbah

3.2 Manfaat Penelitian

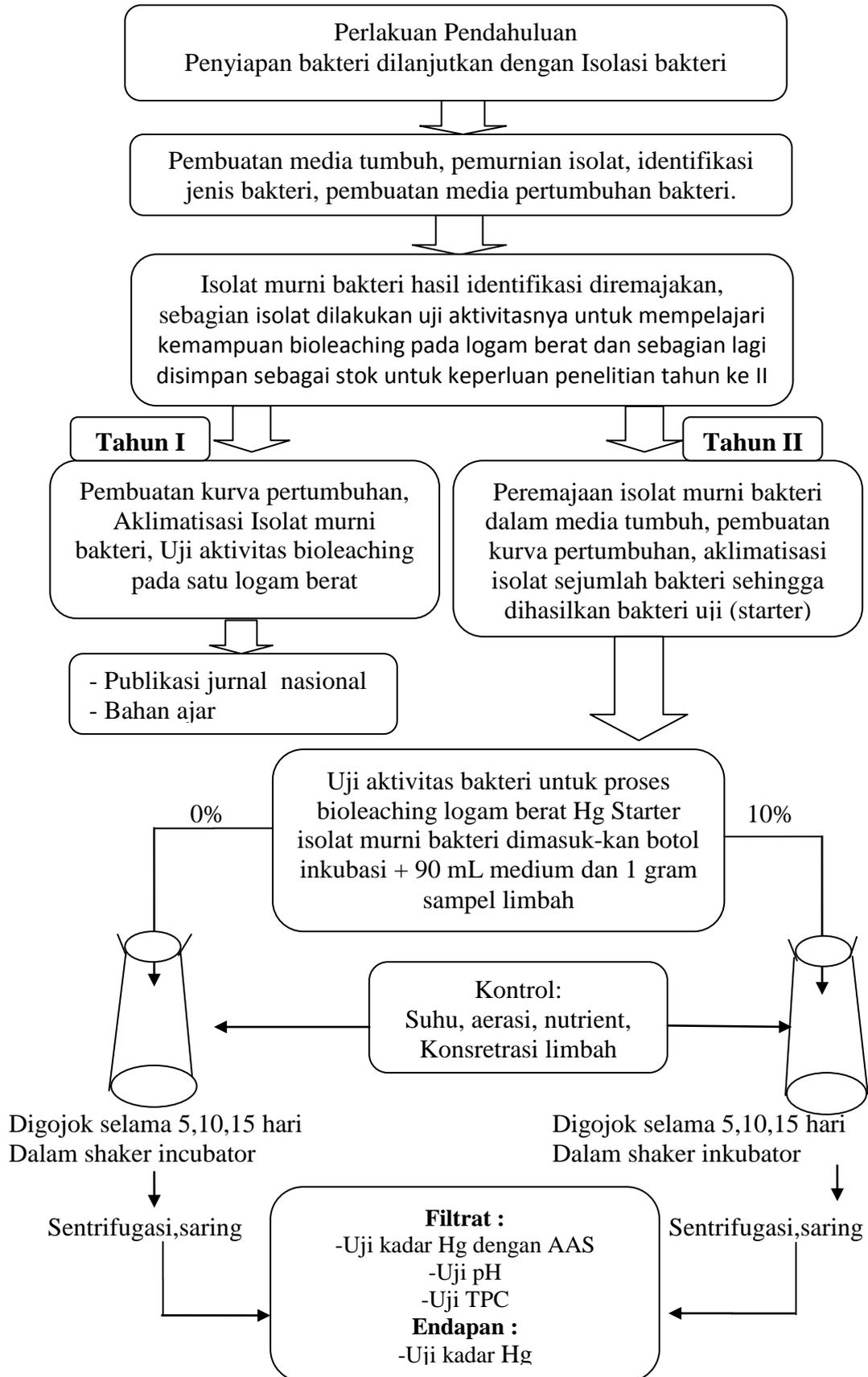
1. Ditemukannya beberapa jenis isolat bakteri yang mampu meningkatkan proses bioleaching logam berat dalam limbah.
2. Ditemukannya suatu teknologi dalam pengolahan dan pemurnian logam berat dalam limbah.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Pentahapan Penelitian

Penelitian diawali dengan penyiapan bakteri dari alam yang bersumber dari tambang emas, kemudian diikuti dengan mengisolasi bakteri untuk mendapatkan isolat yang digunakan dalam proses bioleaching. Isolat yang diperoleh diperbanyak dalam media tumbuh bakteri (nutrien agar), kemudian dilakukan pemurnian untuk mendapatkan isolat murni. Selanjutnya isolat murni dikirim ke laboratorium mikrobiologi LIPI dan diidentifikasi untuk mengetahui jenis bakteri. Isolat murni bakteri yang sudah diketahui jenisnya diremajakan terlebih dahulu setelah itu sebagian isolat dilakukan uji aktivitasnya untuk mempelajari kemampuan bioleaching pada logam berat dan sebagian lagi disimpan sebagai stok untuk keperluan penelitian tahun ke dua. Tahapan yang akan dilakukan dalam penelitian ini dirangkum pada gambar 3.1.



Gambar 3.1. Bagan Rangkuman Alur Penelitian

4.2 Bahan dan Alat Penelitian

4.2.1 Bahan Kimia

Semua bahan kimia yang di gunakan dengan kemurnian pro analisis (pa) dari E.Merck, kecuali bila disebutkan lain.

- a. Media mineral Broth (NB) dengan komposisi Lab-Lemko powder 1,0 gram, ekstrak ragi 2,0 gram pepton 5,0 gram NaCl 5,0 gram dan agar 5 gram
- b. Media Nutrien Agar (NA)
- c. Media mineral cair 9 K yang terdiri dari 10,9 gram $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 3,0 gram $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,5 gram KH_2SO_4 , 0,5 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,1 gram KCL., dan 0,01 gram $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.
- d. Media mineral cair modifikasi Czapek Dox yang terdiri 2,0 gram NaNO_3 , 0,5 gram KCL, 0,5 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,1 gram $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, dan 0,35 gram KH_2PO_4 .
- e. Lain-lain; HCL, HNO_3 , H_2SO_4 , AgNO_3 , FeSO_4 , $\text{Cd}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$, BaCl_2 , FeCl_3 , CuSO_4 , I_2 , H_2O_2 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, dan dipenil amin, NaOH, aquades, spritus, alcohol, pewarnaan gram terdiri dari gram A (larutan ammonium oksalat kristal violet), dan gram D (larutan safranin).

4.2.2. Bakteri

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri hasil isolasi dari limbah daerah pertambangan emas.

4.2.3. Sampel Limbah

Limbah yang digunakan adalah limbah artifisial yang dibuat dari mencampurkan sedimen dengan senyawa logam berat HgCl_2 .

4.2.4 Alat

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini meliputi; *Flame Atomic Absorption Spectrophotometry* (FAAS) tipe Shimadzu AA-680, Mikroskop binokuler Nikon SE, mikroskop Nikon Transformation model XN, alat penghitung koloni model Quebec, Shaker incubator, pH meter Horiba,

thermometer, autoclave Ogawa, neraca analitik Shimadzu Libro AEL-200, Centrifugase Jouan MR 1822, Incubator Cooling MG-KT-2, aluminium foil, labu takar, botol bioalching, batol sampel, kapas, cawan petri, pemabkar spiritus, pipet volum ukuran 1,5 dan 10 ml, mikro pipet, gelas ukur ukuran 50, 100, dan 250 ml, gelas Erlenmeyer ukuran 250, 500 dan 1000 ml, beaker gelas, tabung reaksi, dan plat tetes porselin.

4.3 Prosedur Penelitian

4.3.1 Pembuatan media tumbuh bakteri

- a. Media Nutrient Broth (NB) dengan komposisi Lab-Lemko power 1,0 gram, ekstrak ragi 2,0 gram, pepton 5,0 gram, NaCl 5,0 gram, dan agar 5 gram, di buat dengan melarutkan 8 gram media NB dalam 1000 mL aquades dalam beker gelas dan di panaskan hingga mendidih sambil di aduk, selanjutnya medi Bront di pindahkan kedalam erlenmeyer dan bagian mulut destilasi dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Media ini di gunakan untuk mengetahui pertumbuhan bakteri dan perbanyak kultur (stok bakteri) serta penyimpanan bakteri dalam waktu yang lama.
- b. Media Nutrien Agar (NA), dibuat dengan melarutkan 20 gram media dalam 1000 mL akuades dalam beker gelas dan di panaskan hingga mendidih sambil di aduk-aduk. Selanjutnya media nutrient agar dipindahkan ke dalam gelas Erlenmeyer dan bagian Erlenmeyer di tutup dengan kapas dan aluminium foil, destilasi dalam autoclave pada suhu 121° selama 15 menit. Media ini di gubakan untuk menumbuhkan bakteri dan menghitung banyaknya koloni bakteri dnegn metode tuang.
- c. Media mineral cair 9 K terdiri dari larutan A yang di buat dengan melarutkan 10,9 gram $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dalam 200 mL aquades dalam beker gelas, dan larutan B yang di buat dengan melarutkan 3,0 gram $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,5 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$., 0.1 gram KCl., dan 0,01 gram $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 800 mL akuades dalam beker gelas, kemudian larutan A dan B di jkadikan satu. Selanjutnya media ini di pindahkan dalam Erlenmeyer dan bagian mulut Erlenmeyer di tutup dengan kapas dan aluminium foil, disterisasi dalam autoclave pada suhu 121°C salam 15 menit. Media ini di gunakan baik untuk

pertumbuhan (stok bakteri), aklimatisasi maupun sebagai media uji *bioleaching* untuk bakteri *T.ferrooxidans*.

- d. Media mineral cair modifikasi Czapek Dox di buat dengan melaurutkan 2,0 gram NaNO_3 ., 0,5 gram KCl ., 0,5 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$., 0,01 gram $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, dan 0,35 gram KH_2PO_4 dalam 1000 mL akuades dalam beker gelas. Selanjutnya media ini di pindahkan nke dalam Erlenmeyer dan bagian mulut Erlenmeyer di tutup kapas dan aluminium foil, distrerilisasi dalam autovlace pada suhu 121^0 C selama 15 menit 15 menit .media ini modifikasi Czapek Dox di gunakan baik untuk aklimatisasi maupun sebagai media uji *bioleaching* bakteri *P.fluorescens*, *Bacillus sp* dan *E.coli*.

Semua media yang digunakan dalam penelitian in dibuat sesuai dengan kebutuhan penelitian.

4.3.2 Perbanyak Kultur murni bakteri.

Perbanyak inokulan *P.fluorescens*,*E.coli*, *Bacillus sp*, dan *T ferrooxidans* ATCC 23270 di lakukan dengan cara sebagai berikut.

1. Di siapkan 4 Erlenmeyer yang diberi nomor 1,2,3 dan 4. Erlenmeyer nomor 1,2 dan 3 masing-masing diisi dengan 100 mL media nutrient brot. Sementara Erlenmeyer nomor 4 diisi dengan 90 mL mineral cair 9K. ke empat Erlenmeyer di tutup dengan kapas dan di bungkus dengan aluminium foil, kemudian disterilisasi dalam autoclave pada suhu 121^0C selama 15 menit, setelah dingin di lanjutkan proses ke 2.
2. Erlenmeyer nomor 1 di tambahkan beberapa ose bakteri *P.fluorescens*,ke dalam Erlenmeyer nomor 2 ditambahkan beberapa ose bakteri *E. coli*, dank e dalam Erlenmeyer nomor 3 ditambahkan beberapa ose bakteri *Bacillus sp* dari media agar miring *T.ferrooxidans* ATCC 23270, ke empat Erlenmeyer diagitasi beberapa saat sehingga bakteri merata.
3. Kultur bakteri kemudian diinkubasi dalam shaker incubator pada suhu ruangan (28^0C) selama 7 hari dan setelah masa inkubasi biakan siap digunakan untuk membuat starter (bakteri uji) dan untuk kurva pertumbuhan bakteri.

4.3.3 Kurva pertumbuhan bakteri

Kultur Bakteri *P.fluorescens* dan *E.coli* masing-masing 10 mL di inokulasikan ke dalam botol yang berisi 90 mL media yang mengandung 1 gram sampel limbah Pb. Kultur bakteri tersebut diinkubasikan dalam shaker inkubasi dengan kecepatan 80 rpm pada suhu kamar (28⁰C). kultur mikroba diamati pertumbuhannya sesuai waktu penelitian dengan menggunakan metode Pour Plate untuk mikroba *P.fluorescens*, *Bacillus sp*, dan *E.coli*, sementara metode MPN untuk T ferrooxidans. Nilai TPC dan MPN diperoleh terlebih dahulu di ubah dalam fungsi waktu (hari) terhadap jumlah sel/ml (log).

4.3.4 Aklimatisasi dan pembuatan starter bakteri uji

Aklimatisasi dilakukan dengan cara menginokulasikan bakteri yang belum teradaptasi ke dalam medium mineral cair yaitu media yang mengandung mineral dalam jumlah kecil dan tidak mengandung senyawa organik yang selanjutnya disebut media mineral cair. Aklimatisasi bakteri *P.fluorescens*, *Bacillus sp*, dan *E.coli*, di lakukan dalam medium mineral, cair modifikasi Czapek Dox, sementara untuk bakteri nT.ferrooxidans di lakukan dalam medium 9K. aklimatisasi atau pembuatan starter bakteri uji *P.fluorescens*, dan *E.coli*,*Bacillus sp*, dan T ferrooxidans ATCC 23270 diambil dari bakteri yang telah diperbanyak (stok bakteri) dan di lakukan dengan cara sebagai berikut.

1. Disiapkan 4 Erlenmeyer ukuran 1000 mL yang diberi nomor 1,2,3 dan 4. Erlenmeyer nomor 1,2, dan 3 masing-masing diisi dengan 400 mL media mineral cair modifikasi Czapek Dox, sementara Erlenmeyer nomor 4 diisi dengan 400 mL media mineral cair 9K.
2. Ke dalam Erlenmeyer nomor 1,2,3, dan 4 di tambahkan berturut-turut 40 mL bakteri *P.fluorescens*, dan *E.coli*,*Bacillus sp*, dan biakan murni T. ferrooxidans ATCC 23270, ke empat Erlenmeyer diagitasi beberapa saat sehingga mikroba merata.
3. Kultur bakteri kemudian di inkubasi dalam shaker inkubator pada suhu ruangan (28⁰C) selama 7 hari. Biakan (starter) bakteri yang telah teradaptasi siap digunakan sebagai bakteri uji (*bacterial leaching*), seperti yang terdapat pada kerangka penelitian dalam gambar 3.1.

BAB V
HASIL YANG DICAPAI

1. Analisis Logam Hg pada Limbah Tambang Emas

Limbah tailing dan tanah dari penambangan emas di desa Hulawa kecamatan Sumalata Timur dianalisis kadar Hg dengan Atomic Absorption Spektroskopi Shimadzu AA 6300. Hasil pengukuran kadar Hg pada sampel air pada titik pengambilan sampel tidak terdeteksi (0 ppm). Sementara pada sampel tanah dapat ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Analisis Kadar Hg pada Sampel Tanah

No.	Lokasi Pengambilan Sampel	Kadar Hg (ppm)
1	Titik 1 (0 m/Tromol)	2,55
2	Titik 2 (5 m)	2,55
3	Titik 3 (10 m)	2,52
4	Titik 4 (kolam penampungan ampas)	2,35
5	Titik 5 (daerah sungai)	2,39

Dari table 1 dapat dilihat bahwa kadar merkuri (Hg) pada sampel tanah disemua titik pengambilan sampel cukup tinggi. Dengan demikian sudah perlu mendapat perhatian yang serius tentang penyebaran logam merkuri di lingkungan. Ini juga menunjukkan bahwa pencemaran merkuri di lingkungan sudah harus diwaspadai, bila hal ini dibiarkan terus menerus maka hampir dipastikan gejala Minamata akan terjadi di daerah ini.

Hasil pengamatan di lapangan menunjukkan bahwa penggunaan logam merkuri pada proses penambangan emas sudah menjadi hal yang biasa dan lumrah bagi para penambang. Dalam setiap tromol ditambahkan kuang lebih 1 kg merkuri sekali proses pengolahan dan pada akhir proses diperoleh kembali tinggal 900-950 gram. Ini berarti setiap proses untuk satu tromol merkuri yang lepas ke lingkungan 50-100 gram, bila dikalikan dengan 10 tromol maka kurang lebih 500 hingga 1000 gram merkuri masuk ke lingkungan. Pada pengolahan emas system tromol untuk satu kali proses membutuhkan waktu 4 jam.

2. Optical Density (OD) Bakteri Resisten Merkuri

Hasil pengukuran OD bakteri resisten terhadap merkuri pada limbah air dan tanah dari penambangan emas desa Hulawa kecamatan Sumalata Timur ditunjukkan pada tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Tabel Perhitungan OD (*Optical Density*) Bakteri Resisten Merkuri pada Air

Lokasi	Sampel	Kode Bakteri	Jumlah OD untuk Beberapa Konsentrasi Hg									
			0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
Titik I (0 m)	Air	Bakteri I	1,21	1,11	1,00	0,99	0,93	0,91	0,89	0,74	0,48	0,28
	Air 10 ⁻¹	Bakteri I	1,71	0,71	1,33	1,08	1,05	1,04	1,04	0,97	0,95	0,06
Titik II (5 m)	Air	Bakteri II	1,28	1,14	1,09	1,06	1,06	0,93	0,87	0,86	0,82	0,75
Titik III (10 m)	Air 10 ⁻²	Bakteri I	0,68	0,19	0,17	0,16	0,09	0,08	0,08	0,02	0,01	0,01
Titik V (Sungai)	Air	Bakteri I	1,14	1,12	0,84	0,78	0,78	0,70	0,54	0,49	0,35	0,24
	Air 10 ⁻¹											
	Air 10 ⁻²											
	Air 10 ⁻³	Bakteri I	0,99	0,89	0,87	0,84	0,83	0,80	0,67	0,55	0,54	0,31
		Bakteri II	0,81	0,79	0,71	0,67	0,66	0,65	0,60	0,58	0,52	0,40

Tabel 3. Tabel Perhitungan OD (*Optical Density*) Bakteri Resisten Merkuri pada Tanah

Lokasi	Sampel	Kode Bakteri	Jumlah OD untuk Beberapa Konsentrasi Hg									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Titik III (10 m)	Sedimen	Bakteri I	0,31	0,27	0,17	0,16	0,13	0,10	0,09	0,06	0,03	0,02
Titik IV (Kolam Tailing)	Sedimen	Bakteri I	0,43	0,28	0,20	0,09	0,06	0,05	0,05	0,03	0,03	0,02
		Bakteri II	0,30	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03	0,02	0,01	0,00	0,00
	Sedimen 10 ⁻¹	Bakteri I	1,29	1,16	1,12	1,12	1,10	1,09	0,73	0,38	0,23	0,21
	Sedimen 10 ⁻²	Bakteri I	1,37	1,29	1,27	1,23	1,10	1,09	0,85	0,78	0,53	0,33

BAB VI

RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

Tahap selanjutnya adalah memperbanyak isolat murni bakteri hasil identifikasi dari LIPI. Hasil perbanyak isolat ini akan di aklimatisasi dengan kondisi yang lingkungan yang ada. Tujuannya adalah agar isolat murni bakteri mudah menyesuaikan dengan kondisi yang sebenarnya agar bila digunakan nanti tidak mengalami hambatan dalam proses bioleaching.

Untuk mendapatkan bakteri yang mampu untuk membersihkan logam berat di lingkungan, maka perlu dilakukan uji aktivitas terhadap limbah artifisial seperti logam merkuri. Uji aktivasi bakteri ini dilakukan berulang-ulang dan dengan memvariasi kondisi lingkungan serta konsentrasi logam berat.

Pada penelitian tahap berikutnya yaitu tahun ke dua akan dilakukan peremejaan isolat bakteri untuk keperluan bioleaching limbah logam berat yang berasal dari pertambangan emas. Harapannya bahwa isolat yang didapatkan benar-benar dapat dimanfaatkan untuk menghilangkan merkuri dari limbah penambangan emas, yang pada akhirnya merkuri yang ada di lingkungan akan berkurang.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan.

1. Kadar merkuri pada sedimen limbah tailing berkisar 2,35-2,55 ppm.
2. Terdapat beberapa jenis bakteri yang resisten terhadap merkuri (HgCl_2) hingga kadar 10 ppm
3. Isolat bakteri dari kawasan penambangan emas Hulawa Sumalata Timur berpotensi untuk proses bioleaching logam berat merkuri.
4. Waktu kontak (inkubasi) bakteri berpengaruh pada proses bioleaching

7.2. Saran

Perlu nutrisi yang seimbang untuk meningkatkan kemampuan leaching bakteri terhadap logam merkuri.

DAFTAR PUSTAKA

- Bosecker, K, 1987, Microbial Leaching, in Prave, P., Faust, U., Sitting, W., Sukachth, D.A (eds), Fundamentals of Biotechnology, VCH, Weinheim.s
- Brandl, H, 2001, Microbial Leaching of Metal, Switzerland.
- Chen, S.Y and Lin, J.G, 2000, Influence of Solid Content on Bioleaching of Heavy Metal From Contaminated Sediment by *Thiobacillus spp*, J. of Chemical Tecknology and Biotechnology. Vol.75, p. 649-656.
- Chen S., Wilson DB, 1997, Genetic Engineering of Bacteria and Their Potential for Hg²⁺ Bioremediation, J. Biodegradation, Vol. 8
- Chen S., Wilson DB, 1997, Construction and Characterization of *Escherichia coli* Genetically Enggineered for Bioremediation of Hg²⁺ Conminated Environments, J. Appl. Environ. Microbiol. Vol. 63.
- Couillard, D and Zhu, S, 1992, Bacterial Leaching of Heavy Metals From Sewage Sludge For Agricultural Application, Water, Air, and Soil Pollution, vol.63, p.67-80
- Crueger, W. and Crueger, A, 1984, Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology, Science Tech, Inc.
- Ehrlich, H.L, 1992, Metal Extraction and Ore Discovery, in Lederbeg (Eds) Encyclopedia of Microbiology, vol.3, Academic Press, Inc.
- Kong I.C., Bitton G., Koopman B., Jung K.H, 1995 Heavy Metal Toxicity Testing in Environmental Samples, Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, Vol.142.
- Octavia, B, 1995, Isolasi dan Karakteristik Bakteri Pengikat Merkuri, Tesis PPs Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Rossi, G., Ehrlich HL., 1990, Other Bioleaching Processes, in Ehrlich HL., Brierley CL (Eds.), Microbial Mineral Recovery, McGraw-Hill, New York.
- Seidel, A., Zimmels, Y., and Armon, R, 2001, Mechanism of Bioleaching of Coal Fly Ash by *Thiobacillus thiooxidans*, Chemical Engineering Journal, vol.88, p.123-130
- Stokinger, H.E, 1981, The Metal, in Clayton G.D., Clayton E.F (Eds), Patty's Industrial Hygiene and Toxicology, Third Revised Edition, A Wiley Interscience Publication, John Wiley & Sons New York
- Suharti, P, 1998, Studi Bioremediasi Limbah Yang Tercemar Logam Berat Melalui Proses Bioleaching, Tesis PPs Universitas Airlangga Surabaya.

- Ulfin, I, 2000, Dekonsentrasi Logam Berat Timbal dan Kadmium Dalam Larutan Oleh Kayu Apu (*Pistia stratiots L.*), Tesis PPs. Universitas Airlangga Surabaya.
- Wang, C.L., Michels, P.C., Dawson, S.C., Kitisakkul S., Baross, J.A., Keasling, J.D, and Clark D.S, 1997, Cadmium Removal by a New Strain of *Pseudomonas aeruginosa* in Aerobic Culture, J. Applied and Environmental Microbiology, vol.63, No. 10, p.4075-4078.
- WHO, 1995, Environmental Health Criteria 165: Inorganic Lead, Word Health Organization, Geneva.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Biodata Ketua dan Anggota tim peneliti

1. Identitas Diri

Nama Lengkap : Prof. DR. Ishak Isa, M.Si
NIP : 196105261987031005
Tempat Tanggal Lahir : Limboto, 26 Mei 1961
Instansi/Lembaga : Universitas Negeri Gorontalo
Pangkat/Golongan/Jabatan : Pembina Utama Madya/IVd/Guru Besar
Alamat Kantor : Jl.Jend. Sudirman No. 6 Kota Gorontalo
Telepon Kantor/Fax : 0435-827213
Alamat Rumah : Jl.Jend. Sudirman No.39 Kayubulan Limboto
Telepon Rumah : 0435-880074
Hand Phone (HP) : +6281356139399

2. Riwayat Pendidikan :

1. S1 : Pendidikan Kimia IKIP Manado Lulus tahun 1986
2. S2 : Kimia Analisis UGM Lulus tahun 1996
3. S3 : Analisis Lingkungan MIPA Unair Lulus tahun 2004

1. Pelatihan dan karya ilmiah:

1. Kursus Penilai Analisis Mengenai Dampak Lingkungan angkatan XV Tahun 2005.
2. Tim Penyusun UKL dan UPL pada PETI Desa Buladu Kecamatan Sumalata tahun 2004.
3. Tenaga ahli pengelolaan limbah pada Badan Penelitian Pengembangan dan Pengendalian Dampak Lingkungan Provinsi Gorontalo Tahun 2005
4. Tingkat Pencemaran Logam Berat Timbal (Pb) Di Kali Surabaya. Disampaikan pada Seminar Nasional Kimia Lingkungan FMIPA Unair tahun 2005.

5. Biobleaching Logam Berat Pb Dari Sedimen Tercemar Dengan Menggunakan Bakteri *Bacillus. Sp.* Disampaikan pada Seminar Nasional Kimia, Untad Palu tahun 2005.
6. Peran Bioteknologi Dalam Penyediaan Protein, Jurnal Sainstek Vol.1 No.1 Tahun 2006
7. Penetapan Timbal, Kadmium dan Tembaga Secara Voltametri Pelarutan Kembali, Jurnal Sainstek Vol.1. No.2 Tahun 2006
8. Penetapan Tembaga Pada Muara Sungai Bone Dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom. Jurnal Sainstek Vol.1. No.3 Tahun 2006
9. Analisis Pestisida Golongan Organo Posfat pada Beberapa Jenis Buah Dengan Metode Kromatografi Gas, Jurnal Sainstek Vol.2. No.1 Tahun 2007
10. Kajian Pencemaran Merkuri di Sungai Taluduyunu Kecamatan Marisa Kab. Pohuwato, Penelitian Lemlit, tahun 2006
11. Pemanfaat Limbah Tongkol Jagung Sebagai Bahan Baku Pembuatan Arang Aktif, Lomba Inovasi tahun 2007.
12. Kemampuan dalam memecahkan soa-soal kinetika kimia pada mahasiswa Jurusan Pendidikan Kimia UNG
13. Briket Arang dan Arag Aktif Dari Limbah Tongkol Jagung, Penelitian PNBPU UNG 2012

Gorontalo, Oktober 2013

Prof. DR. Ishak Isa, M.Si
NIP. 196105261987031005

CURICULUM VITAE

Nama : Yuliana Retnowati, S.Si, M.Si
Tempat Tanggal Lahir : Sleman, 17 Juli 1977
NIP : 19770717 200604 2 001
Pangkat / Golongan : Penata/IIIc
Jabatan Fungsional : Lektor
Jenis Kelamin : Perempuan
Alamat Kantor : Universitas Negeri Gorontalo.
Jl. Jend. Soedirman No. 6, Kel. Dulalowo
Kecamatan Kota Tengah, Kota Gorontalo. KP.
96128
Telp Kantor : (0435) 821125
Alamat email : yuliana_ri@yahoo.com
Alamat Rumah : Jl. Makassar, Kelurahan Dulalowo, Kecamatan
Kota Tengah, Kota Gorontalo Provinsi Gorontalo.
Telp. HP : 085256196677

Riwayat Pendidikan :

1. SDN Randusari Sleman Yogyakarta Tahun 1989
1. SMP Negeri Ngemplak Sleman Yogyakarta Tahun 1992
2. SMA Negeri 9 Yogyakarta Tahun 1995
3. S1 Universitas Gajah Mada, (Biologi) Tahun 2000
4. S2 Universitas Gajah Mada, (Biologi/Mikrobiologi) Tahun 2005

Pengalaman Penelitian dan Publikasi :

1. Peran Kultur Murni (*Starbio plus*) Pada Fermentasi Silase Rumput Alang-alang (*Imperata cylindrica, Merr*), Tahun 2000
2. Bakteri yang tumbuh pada Susu Kedelai Penyimpanan Suhu Dingin, Tahun 2005
3. Bioakumulasi Merkuri Oleh Bakteri Sedimen pada lingkungan yang terkontaminasi limbah Tambang Emas, (jurnal tahun 2005)
4. Klasifikasi strain genus *Actinobacillus*, *Haemophilus* dan *Pasteurella* berdasarkan metode taksonomi numerik, (jurnal Sains Tek, vol 1, no 3, November 2006).
5. Biomassa mikroba dan aktivitasnya pada sedimen dan air danau Limboto dengan teknik pengayaan *ex-situ* mikrokosmos (2007).
6. Pembentukan Biofilm oleh *Echerichia coli* dan resistensinya terhadap klorin (2008)
7. Karakteristik Tiga Kultivar Jagung Yang Bersimbiosis dengan FMA (Fungi Mikoriza Arbuskular) (2008)
8. Pertumbuhan Kapang *Monascus purpureus*, *Aspergillus flavus* dan *Penicillium sp* pada media Beras, Jagung dan Kombinasi Beras Jagung (jurnal SainsTEK,2010)
9. Pola pertumbuhan kapang *Monascus purpureus* pada media beras, jagung dan kombinasi beras jagung (Jurnal entropi, 2010)

10. Isolasi dan identifikasi bakteri pengguna merkuri dari sedimen sungai yang terkontaminasi limbah tambang emas (Jurnal saintek Vol 6 (1), 2011.
11. Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media yang diekspos dengan infus daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) Jurnal saintek Vol 6 (2), 2011
12. Potensi penghasian hormon IAA oleh Mikroba Endofit akar tanaman jagung (*Zea mays*). 2011

Gorontalo, Oktober 2013

Yang membuat :

Yuliana Retnowati, S.Si., M.Si

NIP. 19770717 200604 2 001

Lampiran 2

Foto Lokasi Pengambilan Sampel Limbah Air dan Sedimen Tambang Emas Hulawa Kecamatan Sumalata Timur Kabupten Gorontalo Utara









Lampiran 3



Badan Pengkajian Kebijakan Iklim dan Mutu Industri
BALAI RISET DAN STANDARDISASI INDUSTRI MANADO
 Jalan. Diponegoro Nomor 21-23, Manado 95112
 Telp: (0431) 852395-852396, Fax: (0431) 852396

Yth. :
 Rini Setia Ningsih Paris
 Desa Pilohayanga Kec. Telaga
 DI-
KAB. GORONTALO

LAPORAN HASIL ANALISIS
Report of Analysis

ASLI ORIGINAL

Balasan Surat tgl : 15 Juli 2013
 Reply to your letter dated :

No./Number : 774/Bd/BP.8/LB/VII/2013
 No. Analisis : 237/S/S/VII/2013
 Analysis Number
 Manado, 29 Juli 2013

Yang bertanda tangan dibawah ini menerangkan bahwa hasil pengujian kimia, fisik dan mikrobiologi
The undersigned certifies that chemical, physical, microbiological examination

dari contoh : **Air**
of the sample(s)

cap :
marked

diambil dari :
taken from

yang kami terima tanggal : 15 Juli 2013
received

adalah sebagai berikut :
resulted as follows

disegel : -
mark on seal
 oleh : -
 by

Parameter	Hasil Analisis		Satuan	Metode Analisis
	Titik I (0 m)	Titik II (5 m)		
Raksa (Hg)	0,00	0,00	ppm	AAS
Parameter	Hasil Analisis		Satuan	Metode Analisis
	Titik III (10 m)	Titik IV (kolam tailing)		
Raksa (Hg)	0,00	0,00	ppm	AAS
Parameter	Hasil Analisis		Satuan	Metode Analisis
	Titik V (sungai)			
Raksa (Hg)	0,00		ppm	AAS

PERHATIAN
 HASIL-2 PEMERIKSAAN INI TIDAK UNTUK DIUMUMKAN
 DAN HANYA BERLAKU UNTUK CONTOH-2 TSB DIATAS.
 PENGAMBIL CONTOH BERTANGGUNG JAWAB ATAS
 KEBENARAN CONTOH DARI PARTAI.
 SURAT TANDA UJI INI BERLAKU SAMPAI
 TANGGAL : 29 OKTOBER 2013



Manajer Puncak,

I. Isananto Winursito, M.Eng, Ph.D
 NIP. 19580823 198503 1 003

LAPORAN HASIL ANALISIS
Report of Analysis

ASLI
ORIGINAL

Balasan Surat tgl : 15 Juli 2013
Reply to your letter dated :

No./Number : 754/Bd/BP.8/LB/VII/2013
No. Analisis : 236/S/S/VII/2013
Analysis Number :
Analysis Number :

Manado, 24 Juli 2013

Yang bertanda tangan dibawah ini menerangkan bahwa hasil pengujian kimia, fisik dan mikrobiologi
The undersigned certifies that chemical, physical, microbiological examination

dari contoh : **Tanah**
of the sample(s)

cap :
marked

diambil dari :
taken from

yang kami terima tanggal : 15 Juli 2013
received

adalah sebagai berikut :
resulted as follows

disegel : -
mark on seal
oleh : -
by

Parameter	Hasil Analisis		Satuan	Metode Analisis
	Sedimen Titik I	Sedimen Titik II		
Raksa (Hg)	5,55	2,55	ppm	SSA
Parameter	Hasil Analisis		Satuan	Metode Analisis
	Sedimen Titik III	Sedimen Titik IV		
Raksa (Hg)	2,52	2,35	ppm	SSA
Parameter	Hasil Analisis		Satuan	Metode Analisis
	Sedimen Titik V			
Raksa (Hg)	2,39		ppm	SSA

PERHATIAN
DOKUMEN INI TIDAK UNTUK DIUMUMKAN
HASIL-2 PEMERIKSAAN UNTUK CONTOH-2 TSB DIATAS
DAN HANYA BERLAKU BERTANGGUNG JAWAB ATAS
PENGAMBIL CONTOH DARI PARTAI
KEBENARAN CONTOH INI BERLAKU SAMPAI
SURAT TANDA UJI INI BERLAKU SAMPAI
TANGGAL : 24 OKTOBER 2013



Manajer Puncak,

[Signature]
Ir. Isananto Winursito, M.Eng, Ph.D
NIP. 19580823 198503 1003

Lampiran 4. Catatan Harian (Logbook)

No	Tanggal	Kegiatan
1	17-3-2013	Pengambilan sampel sedimen dan air dari daerah penambangan emas Desa Hulawa. Dokumen : Kwitansi No.1 Hasil : 100%
2	1-13 Mei 2013	Kegiatan Pra lab (pencucian sampel, penyiapan alat dan bahan) Dokumen : kwitansi No.2 Hasil : 85%
3	23-5-2013	Lanjutan pra lab. Hasil : 100%
4	10-18 Juni 2013	Persiapan Penelitian: pencucian alat ² , pemesanan bahan kimia Dokumen : kwitansi No.2 Hasil :
5	19-6-2013	PENELITIAN ➤ Persiapan alat dan bahan yang akan digunakan. ➤ Sterilisasi alat dan bahan yang akan digunakan ➤ Pembuatan Aquadest Dokumen : kwitansi No.2 Hasil :
6	20-6-2013	➤ Pembuatan media Natrium Agar diperkaya HgCl ₂ ➤ Melakukan Isolasi untuk Sampel Air dan Sedimen untuk titik pengambilan titik I dan II Dokumen : kwitansi No.2 Hasil :
7	21-24 Juni 2013	➤ Pengamatan isolat yang tumbuh
8	25-6-2013	➤ Pengamatan isolat yang tumbuh ➤ Persiapan alat dan bahan yang akan digunakan. ➤ Sterilisasi alat dan bahan yang akan digunakan ➤ Pembuatan Aquadest
9	26-6-2013	➤ Pembuatan media Natrium Agar diperkaya Hgcl ₂ Melakukan Isolasi untuk Sampel Air dan Sedimen untuk titik pengambilan titik III dan IV
10	27-29 Juni 2013	➤ Pengamatan 48 isolat yang tumbuh
11	1-7-2013	➤ Pengamatan 48i solat yang tumbuh ➤ Persiapan alat dan bahan yang akan digunakan. ➤ Sterilisasi alat dan bahan yang akan digunakan ➤ Pembuatan Aquadest
12	2-7-2013	➤ Pembuatan media Natrium Agar diperkaya Hgcl ₂ ➤ Melakukan Isolasi untuk Sampel Air dan Sedimen untuk titik pengambilan titik I dan II
13	3-5 Juli	➤ Pengamatan isolat yang tumbuh

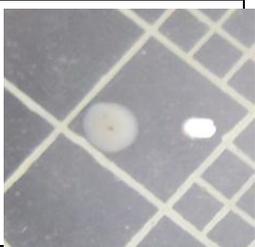
	2013	
14	6-7-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pengamatan 49isolat yang tumbuh ➤ Persiapan alat dan bahan yang akan digunakan. ➤ Sterilisasi alat dan bahan yang akan digunakan ➤ Pembuatan Aquadest
15	8-7-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pembuatan media Natrium Agar diperkaya HgCl₂ ➤ Melakukan Isolasi untuk Sampel Air dan Sedimen untuk titik pertama lokasi pengambilan (titik IV)
	9-12-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pengamatan isolat yang tumbuh
	13-7-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pengamatan mikroskopis (pengamatan ciri-ciri isolat yang tumbuh)
	15-7-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Persiapan alat dan bahan yang akan digunakan. ➤ Sterilisasi alat dan bahan yang akan digunakan ➤ Pembuatan media Na miring untuk pemurnian ➤ Pemurnian isolat yang tumbuh
	16-19 Juli 2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pengamatan isolat yang tumbuh pada Na miring
	20-7-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Persiapan alat dan bahan yang akan digunakan. ➤ Sterilisasi alat dan bahan yang akan digunakan ➤ Pembuatan media Natrium Broth untuk pembuatan starter bakteri resisten merkuri
	22-7-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pembuatan starter bakteri resisten merkuri (1 x 24 jam) untuk 3 isolat bakteri ➤ Pembuatan media Natrium Broth untuk uji resisten bakteri resisten merkuri
	23-7-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Penyesuaian masa secara spektrofotometri ➤ Uji resistensi bakteri resisten merkuri
	25-7-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Perhitungan OD (Uji Resistensi Bakteri) ➤ Persiapan alat dan bahan yang akan digunakan. ➤ Sterilisasi alat dan bahan yang akan digunakan ➤ Pembuatan media Natrium Broth untuk pembuatan starter bakteri resisten merkuri
	26-7- 2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pembuatan starter bakteri resisten merkuri (1 x 24 jam) untuk 3 isolat bakteri ➤ Pembuatan media Natrium Broth untuk uji resisten bakteri resisten merkuri
	27-7-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Penyesuaian massa secara spektrofotometri ➤ Uji resistensi bakteri resisten merkuri
	29-7-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Perhitungan OD (Uji Resistensi Bakteri) ➤ Persiapan alat dan bahan yang akan digunakan. ➤ Sterilisasi alat dan bahan yang akan digunakan ➤ Pembuatan media Natrium Broth untuk pembuatan starter bakteri resisten merkuri
	31-7-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Perhitungan OD (Uji Resistensi Bakteri) ➤ Persiapan alat dan bahan yang akan digunakan. ➤ Sterilisasi alat dan bahan yang akan digunakan ➤ Pembuatan media Natrium Broth untuk pembuatan

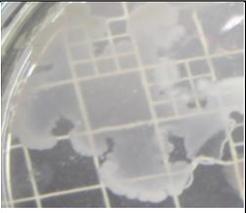
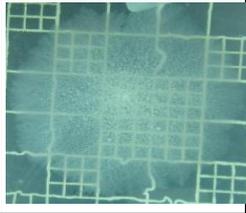
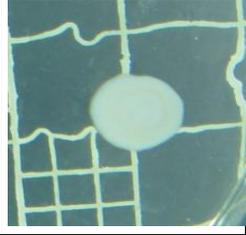
		starter bakteri resisten merkuri
	1-8-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pembuatan starter bakteri resisten merkuri (1 x 24 jam) untuk 2 isolat bakteri ➤ Pembuatan media Natrium Broth untuk uji resisten bakteri resisten merkuri
	2-8-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Penyamaan massa secara spektrofotometri ➤ Uji resistensi bakteri resisten merkuri
	5-8-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Perhitungan OD (Uji Resistensi Bakteri)
	24-8-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Persiapan alat dan bahan yang akan digunakan. ➤ Sterilisasi alat dan bahan yang akan digunakan ➤ Pembuatan media Natrium Broth untuk pembuatan starter bakteri resisten merkuri
	26-8-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pembuatan starter bakteri resisten merkuri (1 x 24 jam) untuk 3 isolat bakteri ➤ Pembuatan media Natrium Broth untuk uji resisten bakteri resisten merkuri
	27-8-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Penyamaan massa secara spektrofotometri ➤ Uji resistensi bakteri resisten merkuri
	28-8-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Perhitungan OD (Uji Resistensi Bakteri)
	2-9-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pembuatan starter bakteri resisten merkuri (1 x 24 jam) untuk 3 isolat bakteri ➤ Pembuatan media Natrium Broth untuk uji resisten bakteri resisten merkuri
	3-9-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Penyamaan massa secara spektrofotometri ➤ Uji resistensi bakteri resisten merkuri
	5-9-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Perhitungan OD (Uji Resistensi Bakteri)
	6-9-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pembuatan starter bakteri resisten merkuri (1 x 24 jam) untuk 3 isolat bakteri ➤ Pembuatan media Natrium Broth untuk uji resisten bakteri resisten merkuri
	7-9-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Penyamaan massa secara spektrofotometri ➤ Uji resistensi bakteri resisten merkuri
	9-9-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Perhitungan OD (Uji Resistensi Bakteri) ➤ Pembuatan starter bakteri resisten merkuri (1 x 24 jam) untuk 3 isolat bakteri ➤ Pembuatan media Natrium Broth untuk uji resisten bakteri resisten merkuri
	10-9-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Penyamaan massa secara spektrofotometri ➤ Uji resistensi bakteri resisten merkuri
	12-9-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Perhitungan OD (Uji Resistensi Bakteri)
	13-9-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pembuatan starter bakteri resisten merkuri (1 x 24 jam) untuk 3 isolat bakteri ➤ Pembuatan media Natrium Broth untuk uji resisten bakteri resisten merkuri

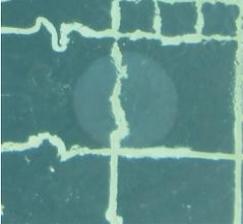
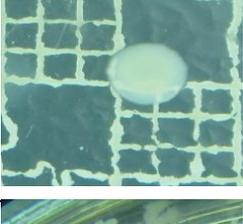
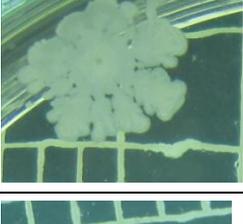
	14-9-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Penyamaan massa secara spektrofotometri ➤ Uji resistensi bakteri resisten merkuri
	16-9-2013	➤ Perhitungan OD (Uji Resistensi Bakteri)
	18-9-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pewarnaan Gram Hasil : 100%
	19-9-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pembuatan starter bakteri resisten merkuri (1 x 24 jam) untuk 3 isolat bakteri ➤ Pembuatan media Natrium Broth untuk uji resisten bakteri resisten merkuri
	30-9-2013	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pengiriman baktei resisten ke LIPI untuk identifikasi jenis bakteri dan isolate murni. Dokumen : kwitansi No. Hasil :
		➤

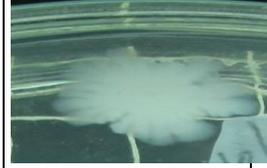
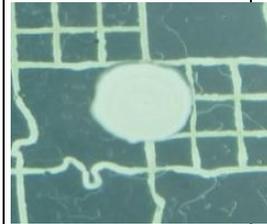
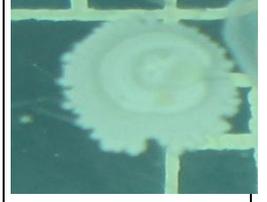
Lampiran 5

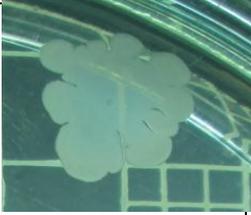
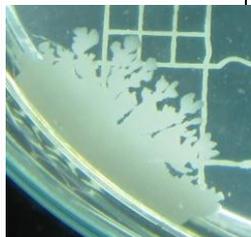
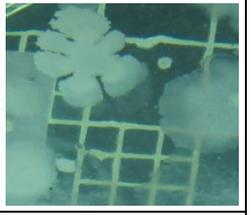
➤ Hasil Isolasi Bakteri Resisten Merkuri

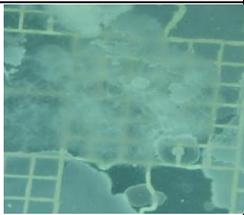
Sampel	No Bakteri	Ciri-Ciri Koloni				Gambar
		Warna	Tepian	Bentuk	Permukaan	
Titik I Air 10 ⁻¹	Bakteri I	Putih	Berombak	Tidak rata dengan tepian timbul	Cembung	
	Bakteri II	Kuning berbintik coklat ditengah	Licin	Bundar	Cembung	
Titik I Air 10 ⁻²	Bakteri I	Kuning berbintik coklat ditengah	Licin	Bundar	Cembung	
Titik I Sedimen 10 ⁻¹	Bakteri I	Putih	Berlekuk	Tidak beraturan dan menyebar	Datar	
	Bakteri II	Kekuning-kuningan	Licin	Tidak rata dengan tepian timbul	Cembung	
	Bakteri III	Kekuning-kuningan berbintik coklat ditengah	Licin	Bundar dengan tepian timbul	Cembung	

Titik I Sedimen	Bakteri I	Putih	Berlekuk	Tidak beraturan dan menyebar	Datar	
Titik II Sampel Air	Bakteri I	Putih	Berombak	Konsentris	Datar	
	Bakteri II	Putih	Tidak beraturan	Tidak beraturan dan menyebar	Datar	
	Bakteri III	Kekuning-kuningan	Tidak beraturan	Tidak beraturan dan menyebar	Datar	
	Bakteri IV	Kekuning-kuningan	Bundar	Licin	Datar	
Titik II Air 10 ⁻¹	Bakteri I	Putih	Seperti Wol	Berbenang-benang	Datar	
Titik II Sampel Sedimen	Bakteri I	Putih	Berombak	Konsentris	Datar	
Titik III Sampel Air	Bakteri I	Putih	Tidak beraturan	Tidak beraturan dan menyebar	Datar	

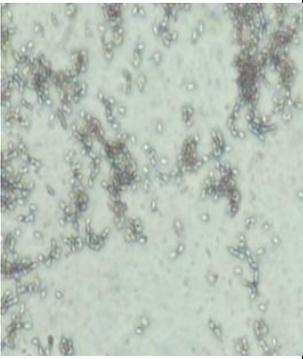
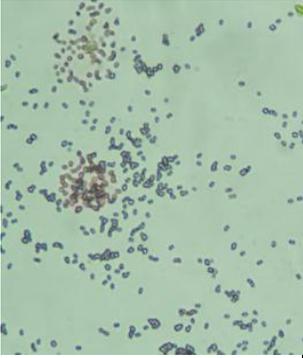
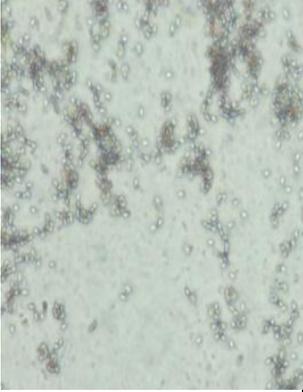
	Bakteri II	Putih	Berombak	Konsentris	Datar	
Titik III Air 10 ⁻¹	Bakteri I	Kekuningan	Bundar	Licin	Datar	
	Bakteri II	Putih	Bundar	Licin	Datar	
Titik III Air 10 ⁻²	Bakteri I	Kekuningan	Bundar	Licin	Datar	
	Bakteri II	Putih	Bundar	Licin	Datar	
Titik III Sampel Sedimen	Bakteri I	Putih	Berlekuk	Tidak beraturan dan menyebar	Datar	
Titik IV Air 10 ⁻¹	Bakteri I	Putih	Tidak beraturan	Tidak beraturan dan menyebar	Datar	

	Bakteri II	Kekuning-kuningan	Berombak	Konsentris	Datar	
	Bakteri III	Kuning berbintik coklat ditengah	Licin	Bundar	Cembung	
Titik IV Air 10 ⁻²	Bakteri I	Putih	Tidak beraturan	Tidak beraturan dan menyebar	Datar	
	Bakteri II	Kekuning-kuningan	Berombak	Konsentris	Datar	
	Bakteri III	Putih	Tidak beraturan	Bundar dengan tepian menyebar	Datar	
	Bakteri IV	Kuning berbintik coklat ditengah	Licin	Bundar dengan tepian timbul	Cembung	
Titik IV Sampel Sedimen	Bakteri I	Putih	Tidak beraturan	Konsentris	Datar	

	Bakteri II	Putih	Tidak beraturan	Tidak beraturan dan menyebar	Datar	
	Bakteri III	Putih	Licin	Bundar	Datar	
Titik IV Sedimen 10^{-1}	Bakteri I	Putih	Seperti Wol	Bundar dengan tepian menyebar	Datar	
Titik IV Sedimen 10^{-2}	Bakteri I	Putih	Licin	Bentuk L	Datar	
	Bakteri II	Kekuning-kuningan	Tidak beraturan	Tidak beraturan dan menyebar	Datar	
Titik V Air 10^{-1}	Bakteri I	Putih	Berlekuk	Tidak beraturan dan menyebar	Datar	
	Bakteri II	Putih	Tidak beraturan	Rizoid	Datar	
Titik V Sampel Sedimen	Bakteri I	Putih	Berlekuk	Tidak beraturan dan menyebar	Datar	

	Bakteri II	Putih	Bercabang	Berbenang-benang	Datar	
--	------------	-------	-----------	------------------	-------	---

➤ Hasil Pewarnaan Gram

Lokasi	Sampel	Kode Bakteri	Warna Pengamatan	Bentuk Sel	Gram	Gambar
Titik III	Air 10 ⁻³	Bakteri I	Ungu	Basil	Positif	
Titik IV	Air 10 ⁻³	Bakteri I	Ungu	Basil	Positif	
		Bakteri II	Ungu	Basil	Positif	

	Sedimen 10^{-1}	Bakteri I	Ungu	Basil	Positif	
Titik V	Air	Bakteri I	Ungu	Basil	Positif	