



LAPORAN PENELITIAN
DIK RUTIN UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 2001

REKOVERI LOGAM BERAT Cu SETELAH MELALUI BIOPROSES AKUMULASI OLEH *Bacillus sp*

Peneliti:

**RIESTA PRIMAHARINASTUTI
A. TOTO POERNOMO
NOOR ERMA S.**

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh Dana DIK Rutin Universitas Airlangga Tahun 2001

SK Rektor Universitas Airlangga Nomor 5307/JO3/PG/2001

Tanggal 12 Juni 2001

Nomor Urut: 16

FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Desember, 2001

000 306 141

COPPER - BIOACCUMULATION
BACILLUS SP.

LP. 03 / 06
Pri
r.



LAPORAN PENELITIAN
DIK RUTIN UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 2001

REKOVERI LOGAM BERAT Cu SETELAH MELALUI BIOPROSES AKUMULASI OLEH *Bacillus sp*

Peneliti:

**RIESTA PRIMAHARINASTUTI
A. TOTO POERNOMO
NOOR ERMA S.**

000306141

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh Dana DIK Rutin Universitas Airlangga Tahun 2001

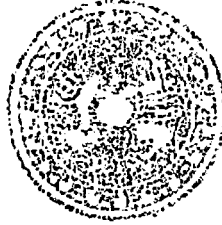
SK Rektor Universitas Airlangga Nomor 5307/JO3/PG/2001

Tanggal 12 Juni 2001

Nomor Urut: 16

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Desember, 2001



LAPORAN PENELITIAN
DOKTERAN SAINS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN 2001

REKOVERI LOGAM BERAT OLEH BAKTERI
DAN AKUMULASI OLEH BAKTERI

Peneliti:

RIESTA PRIMAHARINASTUTI
A. TOTO BOERNOMO
NOOR RIMA S.

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
Dibuat oleh Danu Dik Rini Universitas Airlangga Tahun 2001
SK Rektor Universitas Airlangga Nomor 2307/03/P/2001
Tanggal 12 Juni 2001
Nomor 10

FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Desember 2001



UNIVERSITAS AIRLANGGA
IR PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
LEMBAGA PENELITIAN

- 1. Puslit Pembangunan Regional
- 2. Puslit Obat Tradisional
- 3. Puslit Pengembangan Hukum (5923584)
- 4. Puslit Lingkungan Hidup (5995718)
- 5. Puslit Pengembangan Gizi (5995720)
- 6. Puslit/Studi Wanita (5995722)
- 7. Puslit Olah Raga
- 8. Puslit Bioenergi
- 9. Puslit Kependudukan dan Pembangunan (5995719)
- 10. Puslit/ Kesehatan Reproduksi

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5962066
E-mail : lpunair@rad.net.id - http://www.geocities.com/Athens/Olympus/6223

IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

1. a. Judul Penelitian : Rekoveri Logam Berat Cu Setelah Melalui Bioproses Akumulasi Oleh *Bacillus sp*

b. Macam Penelitian : () Fundamental, (V) Terapan, () Pengembangan

c. Katagori Penelitian : () I (V) II () III () IV

2. Kepala Proyek Penelitian

- a. Nama Lengkap dan Gelar : Riesta Primaharinastiti, S.Si., Apt.
- b. Jenis Kelamin : Wanita
- c. Pangkat/Golongan dan NIP: Penata Muda (Gol. III/a) 132 170 739
- d. Jabatan Sekarang : Staf Pengajar
- e. Fakultas/Puslit/Jurusan : Farmasi
- f. Univ./Inst. /Akademi : Universitas Airlangga
- g. Bidang Ilmu Yang Diteliti : Ilmu Kimia Analitik

3. Jumlah Tim Peneliti : 3 (tiga) orang

4. Lokasi Penelitian : Laboratorium Multipurpose I Fakultas Farmasi Unair

Kerjasama dengan Instansi Lain

- a. Nama Instansi : -
- b. Alamat : -

5. Jangka Waktu Penelitian : 6 (enam) bulan

6. Biaya Yang Diperlukan : Rp 3.500.000,00

7. Seminar Hasil Penelitian :

- a. Dilaksanakan Tanggal : 2 April 2004
- b. Hasil Penilaian : () Baik Sekali (V) Baik
() Sedang () Kurang

Surabaya, 2 April 2004



Mengetahui/Mengesahkan :
a.n. Rektor
Ketua Lembaga Penelitian Unair,

Prof.Dr. H. Sarmanu, M.S. f
NIP. 130 701 125

RINGKASAN

Rekoveri Logam Berat Cu Setelah Melalui Bioproses Akumulasi oleh *Bacillus sp*
(Riesta P, A.Toto P, Noor Erma S, 40 halaman)

Semakin pesatnya perkembangan teknologi dan ilmu pengetahuan, terutama di bidang industri, telah membawa dampak yang beragam bagi kehidupan masyarakat, termasuk di antaranya dampak negatif. Banyaknya industri yang berkembang selama ini, terutama industri-industri yang tidak ramah lingkungan akan menghasilkan limbah yang dapat menyebabkan pencemaran. Di lingkungan perairan, limbah tersebut menimbulkan pencemaran air, termasuk di antaranya adalah pencemaran logam berat karena adanya penambangan, peningkatan penggunaan logam berat dalam berbagai industri, serta adanya limbah industri yang mengandung logam berat yang menjadi penyebab utama terjadinya keracunan logam berat dalam kehidupan masyarakat. Logam berat merupakan senyawa toksis bila berada dalam tubuh manusia di atas ambang konsentrasi tertentu.

Penemuan kembali logam-logam berat dengan menggunakan bakteri atau yang dikenal dengan *Bacterial Leaching*, sesungguhnya bukanlah teknologi yang sama sekali baru. Kemampuan *Leaching* ini memperlihatkan harapan ketika mikroba pencuci dalam proses semi industri mampu memperoleh kobalt, timah, nikel, dan logam bernilai seperti cadmium, emas, gallium, perak, air raksa dan antimony dengan menggunakan *Thiobacillus ferrooxidans*, *Thiobacillus thiooxidans*, dan *Sulfolobulus acidocaldarius*. (Rohini, 1990).

Permasalahan yang ingin diungkap dalam penelitian ini adalah apakah *Bacillus sp*. Memiliki kemampuan untuk mengakumulasi logam Cu dan berapa konsentrasi Cu yang dapat diakumulasi

Kemampuan mengakumulasi logam oleh mikroorganisme ini dipengaruhi oleh faktor-faktor pertumbuhan seperti jumlah oksigen, pH, dan nutrisi khusus. Mekanismenya juga dipengaruhi oleh sifat mikroorganisme dan logamnya, sedangkan prosesnya dapat terjadi pada ekstraseluler, pada permukaan sel, dan intraseluler.

Penelitian dilakukan dengan tujuan mengetahui atau mengkaji kemampuan bakteri *Bacillus sp* dalam mengakumulasi logam berat Cu dan berapa jumlah logam berat Cu yang dapat diakumulasi. Diharapkan dari hasil penelitian ini akan dapat memberikan gambaran mengenai kemampuan bakteri *Bacillus sp* mengakumulasi logam berat Cu, dalam rangka pengembangan metode alternatif penanganan pencemaran lingkungan oleh limbah yang mengandung logam berat Cu.

Pembuktian adanya proses akumulasi logam oleh *Bacillus sp* dilakukan dengan mengukur kadar logam Cu sebelum dan sesudah diinduksi dengan sel *Bacillus sp*. Sedangkan prosedur yang dilakukan adalah sebagai berikut. Suspensi sel yang telah diinkubasi selama 24 jam diinokulasikan ke dalam media cair "Nutrient Broth" yang mengandung 10 ppm Cu. Setelah waktu pertumbuhan optimal, yaitu 42 jam, suspensi sel disaring dengan kertas saring cellulose yang telah diketahui beratnya. Sel dikeringkan dalam oven pada suhu 60-70° C hingga diperoleh berat konstan. Baik sel kering maupun filtratnya masing-masing didestruksi dengan $\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{SO}_4$ (1:1), hingga diperoleh larutan kuning jernih, dihilangkan kelebihan asamnya kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur dan ditandabatkan dengan larutan HNO_3 (1,5mL/L). Larutan yang diperoleh diukur dengan SSA.

Hasil yang diperoleh adalah sebagai berikut. Validasi metode memberikan hasil baik yang tampak dari adanya korelasi linear antara kadar Cu dengan serapannya, $LD = 0,015$ ppm, $LQ = 0,075$ ppm, presisi 0,925-2,294%, dan % perolehan kembali sebesar 83,593%. Penetapan kadar Cu dalam sampel memberikan hasil sebagai berikut : bakteri *Bacillus sp* dalam media cair Nutrient Broth, pada suhu kamar dengan lama inkubasi 42 jam mampu menurunkan kadar Cu dalam filtrat media sebesar 8,912 – 12,623%, dengan nilai rata-rata sebesar 10,8558%. Bakteri *Bacillus sp* mampu mengakumulasi logam berat Cu dalam media sebesar berat per berat sel kering 0,1149 – 0,1400 %/mg sel, dengan nilai rata-rata sebesar 0,1270%/mg sel. Analisis data dengan uji statistika pooled t test memberikan hasil adanya perbedaan yang bermakna antara kadar logam Cu sebelum dan sesudah induksi sel.

Dengan hasil penelitian yang telah diperoleh maka masih diperlukan adanya penelitian lanjutan untuk mengetahui factor-faktor yang berpengaruh dalam proses akumulasi logam berat Cu oleh *Bacillus sp*, seperti pH, suhu, dll; dan juga kemungkinan kemampuan *Bacillus sp* dalam mengakumulasi logam-logam berat lain.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan anugerahNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan laporan ini.

Penelitian berjudul : **REKOVERI LOGAM BERAT Cu SETELAH MELALUI BIOPROSES AKUMULASI OLEH *Bacillus* sp** ini, dilakukan sebagai upaya untuk mendapatkan data ilmiah pemanfaatan mikroorganisme dalam penanganan pencemaran logam berat di lingkungan. Dalam melaksanakan kegiatan ini demikian banyak bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak tak hentinya mendorong dan mendukung penulis hingga dapat menyelesaikannya dengan baik. Untuk itu ijinkan penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. drh. H. Sarmanu, MS, selaku pimpinan Lembaga Penelitian UNAIR
2. Prof. Dr. Noor Cholies Zaini, Dekan Fakultas Farmasi UNAIR
3. Prof. Dr. H. Amirudin Prawita, Kepala Bagian Kimia Analitik Fakultas Farmasi UNAIR yang telah memberikan tempat dan fasilitas selama pelaksanaan penelitian
4. Seluruh karyawan Laboratorium Kimia Analitik Fakultas Farmasi UNAIR atas bantuan yang diberikan selama pelaksanaan penelitian.
5. Semua pihak yang tak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuan kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

Semoga Allah SWT membalas segala budi baik yang diberikan dan semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

PENULIS

DAFTAR ISI

Ringkasan	iii
Kata Pengantar	v
Daftar Isi	vi
Daftar Gambar	viii
Daftar Tabel	ix
Daftar Lampiran	x
BAB I	PENDAHULUAN
	1.1. Latar Belakang
	1.2. Rumusan Masalah
	1.3. Hipotesis
	1
	3
	3
BAB II	TINJAUAN PUSTAKA
	2.1. Tinjauan Tentang Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)
	2.2. Tinjauan Tentang Logam Berat Tembaga (Cu)
	2.3. Tinjauan Tentang Bacterial Leaching
	2.4. Tinjauan Tentang <i>Bacillus sp</i>
	4
	8
	9
	11
BAB III	TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN
	13
BAB IV	METODE PENELITIAN
	4.1. Alat dan Bahan
	4.2. Tahapan Analisis
	4.2.1. Penyediaan Inokulum
	4.2.2. Pembuatan Media Pertumbuhan Nutrient Broth
	4.2.3. Pemiakan <i>Bacillus sp</i> dalam Media Nutrient Broth
	4.2.4. Pengamatan pertumbuhan <i>Bacillus sp</i>
	4.2.5. Induksi sel ke Dalam Media Yang Mengandung Logam Cu
	4.2.6. Pembuatan Kurva Baku Cu
	4.2.7. Validasi Metode
	4.2.7.1. Penentuan Linieritas
	4.2.7.2. Penentuan Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi
	4.2.7.3. Penentuan Presisi
	4.2.7.4. Penentuan Akurasi
	4.2.8. Penentuan Kadar Cu Dalam Sel
	4.2.9. Penentuan Kadar Cu Dalam Filtrat Media
	4.3. Analisis Data
	14
	15
	15
	15
	15
	15
	16
	16
	16
	16
	17
	17
	18
	18
	19
	19
BAB V	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN
	5.1. Kurva Pertumbuhan Bakteri <i>Bacillus sp</i>
	5.2. Pembuatan Kurva Baku Cu
	5.3. Validasi Metode
	5.3.1. Penentuan Linieritas
	5.3.2. Penentuan Batas Deteksi (LD) dan Batas Kuantitasi (LQ)
	5.3.3. Presisi
	5.3.4. Akurasi
	5.4. Penetapan Kadar Cu Dalam Sel
	5.5. Penetapan Kadar Cu Dalam Filtrat Media
	5.6. Analisis Data
	20
	20
	23
	24
	25
	26
	28
	29
	30
	31
	37

BAB VI	KESIMPULAN DAN SARAN	40
	6.1. Kesimpulan	
	6.2. Saran	
DAFTAR PUSTAKA		41
LAMPIRAN		43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 5.1	Kurva Pertumbuhan <i>Bacillus sp</i>	21
Gambar 5.2	Kurva Baku Cu	23
Gambar 5.3	Kurva Linieritas Cu dalam media	25
Gambar 5.4	Strategi Remediasi untuk Tanah dan Sedimen	33

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1	Data Pengukuran OD Pertumbuhan <i>Bacillus sp</i>	20
Tabel 5.2	Data Serapan SSA Larutan Standar Cu	23
Tabel 5.3	Pengamatan Kurva Linieritas Larutan Cu dalam Media	25
Tabel 5.4	Data Serapan Blanko Dengan SSA	26
Tabel 5.5	Data Serapan Larutan Cu 0,000 - 0,060 ppm	27
Tabel 5.6	Data Serapan Larutan Cu 4 dan 12 ppm	28
Tabel 5.7	% Recovery Cu	29
Tabel 5.8	Penentuan Kadar Cu Dalam Sel	31
Tabel 5.9	Penentuan Kadar Cu Dalam Filtrat	31
Tabel 5.10	Data kadar Cu	37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A Hasil Analisis dengan SPSS

Lampiran B Biodata Peneliti

BAB I

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Semakin pesatnya perkembangan teknologi dan ilmu pengetahuan, terutama di bidang industri, telah membawa dampak yang beragam bagi kehidupan masyarakat. Dampak positif semakin modernnya industri adalah berkembangnya penemuan obat-obat baru, mesin-mesin baru yang canggih, pemanfaatan sumber-sumber alam yang optimal, dan sebagainya, sedangkan dampak negatif yang menyertainya dan paling dirasakan adalah semakin besarnya pencemaran lingkungan.

Banyaknya industri yang berkembang selama ini, terutama industri-industri yang tidak ramah lingkungan akan menghasilkan limbah yang dapat menyebabkan pencemaran. Di lingkungan perairan, limbah tersebut menimbulkan pencemaran air, termasuk di antaranya adalah pencemaran logam berat karena adanya penambangan, peningkatan penggunaan logam berat dalam berbagai industri. Adanya limbah yang mengandung logam berat menjadi penyebab utama terjadinya keracunan logam berat dalam kehidupan masyarakat. Logam berat merupakan senyawa toksis bila berada dalam tubuh manusia di atas ambang konsentrasi tertentu dan hanya dapat ditoleransi pada tingkat mikrogram.

Sementara itu air adalah merupakan zat penting bagi kehidupan semua makhluk hidup di dunia, karena merupakan salah satu kebutuhan dasar. Pencemaran air, terutama air minum oleh logam-logam berat akan membahayakan kehidupan. Logam-logam yang tidak mengalami metabolisme tetap berada di dalam tubuh dan menyebabkan efek

toksis dengan cara bergabung dengan satu atau lebih gugus reaktif yang terdapat dalam organ-organ esensial tubuh sehingga akan mengakibatkan gangguan kesehatan (Sulistia Gan, 1987)., karenanya badan dunia seperti WHO maupun Departemen Kesehatan RI mencantumkan batas kadar maksimal logam berat yang ada dalam makanan dan air dalam kehidupan.

Penyediaan air bersih bagi masyarakat pada umumnya menggunakan air sungai sebagai bahan baku, karenanya dalam usaha mengatasi pencemaran air oleh logam berat dilakukan upaya untuk menurunkan kadar logam berat tersebut. Banyak cara dan metode telah digunakan dalam proses penurunan kadar logam berat ini, baik dengan pengolahan limbah secara mekanis, kimia maupun biologis. Dalam *Crueger and Crueger* (1984) dikatakan bahwa logam berat dapat terakumulasi di dalam beberapa jenis bakteri antara lain adalah *Thiobacillus thermophilica*, *Thermothix thioparus*, *Sulfolabus acidocaldarius*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* dan berbagai macam *fungi*. Data ini, juga data dari penelitian-penelitian lain seperti yang telah dilakukan oleh Dwi Bakti yang menunjukkan kemampuan akumulasi logam berat oleh *Streptomyces griseus* (Dwi BS, 1995). Hal ini mendukung fakta bahwa bakteri memiliki kemampuan untuk mengakumulasi logam berat, dengan demikian terbuka kemungkinan dilakukan upaya memanfaatkan kemampuan bakteri tersebut untuk mengatasi pencemaran lingkungan oleh logam berat dan penanganan limbah kimia, melalui penelitian ini.

Dalam penelitian ini dipilih logam berat tembaga. Keracunan logam berat ini akan meyebabkan gangguan kesehatan seperti terhambatnya kerja enzim, nekrosis sel hati, radang ginjal, kolaps, dan perdarahan radang usus akut (Ottoway, 1984). Tembaga

(Cu) merupakan logam berat yang banyak dihasilkan oleh buangan industri pada pembuatan logam campuran seperti kuningan, perunggu, emas, industri cat, industri tekstil, zat warna dan penyepuhan logam. Industri tersebut banyak yang merupakan industri kecil yang membuang limbahnya ke perairan di sekitarnya. Sedangkan bakteri yang akan digunakan adalah *Bacillus sp* karena bakteri ini mudah tumbuh pada kondisi yang ekstrim sekalipun seperti suhu dingin, panas atau bahkan keadaan asam atau basa.

2. Rumusan Masalah

Yang menjadi permasalahan dalam penelitian ini adalah :

1. Dapatkah *Bacillus sp* mengakumulasi logam berat Cu ?
2. Berapa konsentrasi logam berat Cu yang dapat bioakumulasikan?

3. Hipotesis

Hipotesis yang dapat disusun untuk penelitian ini adalah bahwa *Bacillus sp* dapat mengakumulasi logam berat tembaga (Cu).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Tinjauan Tentang Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)

Spektrofotometri Absorpsi Atom adalah salah satu metode spektrofotometri yang sangat berguna untuk analisis kuantitatif logam-logam berat dalam jumlah renik (*traces*), karena metode ini memiliki instrument dengan selektivitas dan kepekaan yang tinggi untuk analisis logam dalam kadar kurang dari $1\mu\text{g/ml}$. Keunggulan lainnya dibandingkan dengan metode yang lain adalah pelaksanaannya relatif mudah dan dapat menganalisis logam-logam secara spesifik, baik dalam sample tunggal maupun campuran beberapa logam, tanpa perlu adanya proses pemisahan terlebih dahulu. (Zainudin, 1982).

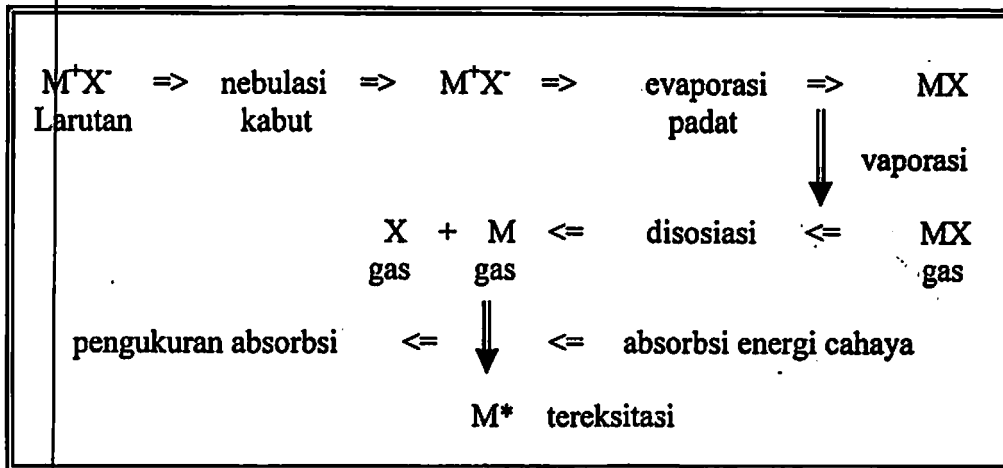
Analisa dengan cara SSA berdasarkan pada absorpsi energi sinar dengan panjang gelombang tertentu oleh atom-atom netral (bertingkat energi dasar) dari zat yang dianalisa (Metcalf, 1991). Sumber cahayanya berasal dari lampu katode berongga (*Hollow Cathode Lamp*) yang dibuat dari unsur yang dianalisa, sehingga menghasilkan cahaya yang khas dari unsur tersebut. Gangguan penyerapan oleh unsur lain tidak ada, oleh karena unsur lain menyerap pada panjang gelombang yang berbeda. Di dalam nyala selain terjadi pengatoman, terjadi juga eksitasi atom-atom. Atom-atom yang tereksitasi akan memancarkan juga cahaya dengan panjang gelombang yang khas dari atom yang dianalisa, sehingga sama dengan panjang gelombang dari *hollow cathode*, yang akan terdeteksi pula oleh detektor. Sehingga pengukuran penyerapan cahaya dari *hollow cathode* oleh atom-atom netral dari unsur yang dianalisa akan terganggu. Hal ini diatasi dengan sistem modulasi, detektor hanya mengukur

perubahan intensitas cahaya yang diemisikan oleh *hollow cathode*, sedang emisi dari unsur lain dalam nyala tidak ikut terukur (Skoog, 1985)

Tahap yang penting dalam SSA adalah metode pengatoman (atomisasi) dari unsur yang dianalisa menjadi atom-atom netral dalam bentuk gas. Sampel yang akan dianalisis harus dalam bentuk larutan yang jernih dan terionkan. Pengatoman bisa dilakukan dengan berbagai cara, misalnya dengan nyala api, dengan tungku, dan dengan energi listrik. Proses atomisasi yang terjadi dalam spektrofotometer adalah sebagai berikut :

- Larutan sample diseprokan dalam bentuk aerosol/kabut ke dalam nyala api. Mula-mula akan terjadi penguapan pelarut yang akhirnya menghasilkan sisa partikel padat yang halus di dalam nyala. Partikel-partikel padat inilah yang kemudian diubah menjadi bentuk gas/uap, selanjutnya sebagian atau seluruhnya akan mengalami disosiasi menjadi atom-atom netral.
- Pada suhu kamar dapat dikatakan bahwa semua atom berada dalam keadaan tingkat energi dasar (*ground state*). Di dalam nyala atom-atom netral tersebut mampu menyerap energi radiasi yang dikenakan padanya dengan panjang gelombang yang sesuai dengan besarnya energi transisi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi, terjadilah eksitasi (*excitation state*) (Zainudin, 1982)

Berikut ini skema proses atomisasi dan absorpsi yang terjadi dalam instrument SSA :



Energi yang diabsorpsi atom (E) pada waktu terjadi perpindahan tingkat energi dapat dihitung dengan persamaan Bohr :

$$E = E_1 - E_0$$

$$E = h \cdot \nu$$

Maka $E = (h \cdot c) / \lambda$, di mana :

E_0 = energi pada tingkat dasar

E_1 = energi pada tingkat tereksitasi

c = kecepatan cahaya ($3 \cdot 10^{10}$ cm/dtk)

h = tetapan Planck ($6,63 \cdot 10^{27}$ erg/dtk)

ν = frekuensi radiasi

λ = panjang gelombang (nm)

Besarnya intensitas cahaya yang diabsorpsi tergantung dari jumlah atom analit (kadar)

dan dalam hal ini berlaku hukum Lambert – Beer yang dapat ditulis sebagai berikut :

$$I_0 f^{It} dI/dt = -K_0 f^b c \cdot db$$

$$\ln It/I_0 = -K \cdot b \cdot c$$

$$\log It/I_0 = -K/2,303 \cdot b \cdot c$$

atau $\log It/I_0 = -\epsilon \cdot b \cdot c$

Keterangan	:	I_0	=	intensitas cahaya datang
		I_t	=	intensitas cahaya yang diteruskan
		b	=	tebal lapisan medium
		c	=	konsentrasi atom
		ϵ	=	koefisien ekstingsi molar

Jika harga I_t/I_0 disebut transmitansi (T) maka :

$$\log T = -\epsilon \cdot b \cdot c$$

Atau $-\log T = \epsilon \cdot b \cdot c$

Harga $-\log T$ disebut absorbansi (A), maka $A = \epsilon \cdot b \cdot c$ dan ini yang disebut dengan persamaan hukum Lambert-Beer yang merupakan dasar dari analisis kuantitatif secara spektrofotometri pada umumnya, termasuk SSA (Skoog, 1985).

Untuk menetapkan kadar analit dalam sample secara sederhana, yaitu dengan mengukur serapan larutan baku yang diketahui kadarnya (A_b) dan serapan larutan sample (A_c). Cara ini dilakukan jika kurva A terhadap kadar merupakan garis lurus.

Perbandingan serapan keduanya dapat dihitung kadar analit sebagai berikut :

$$C_{\text{sampel}} = \frac{A_c}{A_b} \times C_{\text{baku}}$$

Selain itu penetapan kadar analit juga dapat dilakukan dengan cara perhitungan berdasarkan persamaan kurva baku. Kurva baku dibuat dari larutan baku dengan berbagai kadar yang diketahui dan diukur serapannya, demikian pula dengan larutan analit. Berdasarkan hubungan antara kadar dan serapan larutan baku didapatkan persamaan garis regresi yaitu :

$$y = bx + a$$

Hubungan antara serapan dengan kadar larutan baku merupakan garis lurus. Kadar larutan analit dalam sample dapat ditentukan dengan memasukkan harga serapan analit pada persamaan garis regresi (Mulya, 1995).

Sampel yang dapat diamati dengan SSA berupa tanah, pupuk, limbah industri, dan lain-lain. Pada dasarnya sampel tersebut dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok senyawa terlarut dan kelompok senyawa tidak terlarut. Pada senyawa terlarut setelah penambahan dengan larutan asam encer dapat langsung diamati, sedangkan untuk senyawa tak terlarut harus diproses terlebih dahulu agar menjadi senyawa terlarut (larutan yang jernih). Proses ini disebut dengan proses destruksi, yang dapat dilakukan dengan cara :

1. Destruksi basah (*WET ASHING*)

Merupakan cara untuk memperoleh larutan jernih dengan menggunakan asam-asam kuat sebagai pendestruksi yang akan memecah senyawa organik yang mengganggu serta melarutkan unsure-unsur yang dianalisis. Keuntungan cara ini adalah resiko kehilangan analit akibat pemanasan terlalu tinggi tidak terjadi, sebab digunakan suhu pemanasan yang relatif rendah.

2. Destruksi Kering (*DRY ASHING*)

Pada cara ini sampel diabukan dengan pemanasan tinggi dalam furnace, untuk logam Cd pemanasan dilakukan pada suhu 500° C, logam Pb pada suhu 560° C, dan untuk logam Cu pada suhu 600° C.

2. Tinjauan Tentang Logam Berat Tembaga (Cu)

Dewasa ini logam tembaga (Cu) banyak digunakan dalam industri pembuatan logam campuran seperti kuningan, perunggu, emas, industri cat, industri tekstil, zat

warna dan penyepuhan logam. Semakin luasnya penggunaan logam tembaga dimungkinkan pula terjadi peningkatan kadar tembaga dalam udara, air dan tanah. Pencemaran tembaga dapat mengakibatkan keracunan baik secara langsung, yaitu melalui udara dan air minum, maupun tidak langsung, yaitu pencemaran tanah. Manusia yang mengkonsumsi makanan atau minuman yang tercemar tembaga dapat mengalami keracunan karena naiknya kadar tembaga dalam darah yang diserap oleh usus. Logam tembaga dalam plasma bila mencapai kadar tertentu akan berikatan dengan α -2 globulin membentuk carcuropasmin yang mengakibatkan terhambatnya kerja enzim, nekrosis sel hati, radang ginjal, kolaps, dan perdarahan radang usus akut. Selain itu penelitian sejumlah ahli kedokteran membuktikan bahwa keracunan Cu bisa menimbulkan berbagai dampak terhadap kesehatan, mulai lahirnya bayi-bayi cacat sampai anak yang tumbuh dengan mental terbelakang (Joko, 1993).

Dalam peraturan telah ditetapkan batas kadar logam Cu dalam air minum tertinggi adalah 1 ppm (DepKes RI, 1990).

3. Tinjauan Tentang Bioakumulasi

Resiko polusi lingkungan oleh ion logam berat menyebabkan harus adanya perhatian memperbaiki kembali terhadap sistem pengolahan limbah logam-logam berat tersebut. Salah satunya adalah proses pengolahan dengan menggunakan mikroorganisme dengan tujuan mengurangi tingkat keracunan elemen polusi terhadap lingkungan, pendekatan ini dapat mengacu pada proses bioremediasi. Saat ini, pengolahan secara biologis untuk mengurangi ion logam berat dari air tercemar muncul sebagai teknologi alternatif yang berpotensi untuk dikembangkan dibandingkan dengan proses kimia, seperti menambahkan zat kimia tertentu untuk

proses pemisahan ion logam berat atau dengan resin penukar ion (exchange resins), dan beberapa metode lainnya seperti penyerapan dengan menggunakan karbon aktif, electrodialysis dan reverse osmosis. (Suhendrayatna,2001)

Saat ini banyak hasil studi laboratorium dilaporkan secara detail pada berbagai tulisan ilmiah khususnya berkaitan dengan evaluasi proses berbasis bioteknologi dalam cakupan tujuan bioakumulasi logam berat. Bioakumulasi didefinisikan sebagai terakumulasi dan terkonsentrasinya zat polusi (pollutant) dari suatu cairan oleh material biologi, selanjutnya melalui proses rekoveri material ini dapat dibuang dan ramah terhadap lingkungan. Berbagai jenis mikroba biomassa dapat digunakan untuk tujuan ini. (V. Novotny, 1995)

Secara alami di mana kondisi tanpa kendali, proses bioakumulasi ion logam berat umumnya terdiri dari dua mekanisme yang melibatkan proses active uptake dan passive uptake. Pada saat ion logam berat tersebar pada permukaan sel, ion akan mengikat pada bagian permukaan sel berdasarkan kemampuan daya affinitas kimia yang dimilikinya.

Passive uptake. Passive uptake dikenal dengan istilah proses biosorpsi. Proses ini terjadi ketika ion logam berat mengikat dinding sel dengan dua cara yang berbeda, pertama pertukaran ion di mana ion monovalen dan divalent seperti Na, Mg, dan Ca pada dinding sel digantikan oleh ion-ion logam berat; dan kedua adalah formasi kompleks antara ion-ion logam berat dengan fungsional groups seperti karbonil, amino, thiol, hidroksi, fosfat, dan hidroksi-karboksil yang berada pada dinding sel. Proses biosorpsi ini bersifat bolak balik dan cepat. Proses bolak balik ikatan ion logam berat di permukaan sel ini dapat terjadi pada sel mati dan sel hidup dari suatu biomass. Proses biosorpsi dapat lebih efektif dengan kehadiran tertentu pH dan kehadiran ion-ion lainnya di media di mana logam berat dapat terendapkan

sebagai garam yang tidak terlarut. Misalkan, pH optimum biosorpsi ion Pb(II), Ni(II) dan Cu(II) oleh *Zoogloea ramigera* adalah berkisar antara 4.0-4.5 sedangkan untuk besi(II) adalah 2.0. Hasil studi terhadap biosorpsi timbal oleh alga laut *Eckloniaradiata* menunjukkan bahwa laju penyerapan (biosorpsi) naik sejalan dengan naiknya pH hingga 5.0. Fungus juga dapat digunakan untuk menyerap nickel, copper dan berbagai jenis elemen lantanida seperti throrium, uranium dan plutonium. Kebanyakan studi menggunakan pendekatan dengan pH 2. (M. Wainwright, 1992). Tetapi di bagian lain, metode ini menjadi tidak efektif bila terdapat penghambat-penghambat proses metabolisme. (Nora F. Y. Tam, et al., 1998). Secara umum, biosorpsi ion logam berat berlangsung cepat, bolak balik dan tidak tergantung terhadap faktor kinetik bioakumulasi bila dikaitkan dengan penyebaran sel (*dispersed cell*).

Aktive uptake. Aktive uptake dapat terjadi pada berbagai tipe sel hidup. Mekanisme ini secara simultan terjadi sejalan dengan konsumsi ion logam untuk pertumbuhan mikroorganisme atau/dan akumulasi intraselular ion logam tersebut. Logam berat dapat juga diendapkan pada proses metabolisme dan ekresi pada tingkat ke dua. Proses ini tergantung dari energi yang terkandung dan sensitifitasnya terhadap parameter-parameter yang berbeda seperti pH, suhu, kekuatan ikatan ionik, cahaya. Disamping itu proses ini dapat dihambat oleh suhu yang rendah, tidak tersedianya sumber energi dan penghambat penghambat metabolisme sel. Di sisi lain, biosorpsi logam berat dengan sel hidup ini terbatas dikarenakan oleh akumulasi ion yang menyebabkan racun terhadap mikroorganisme. Hal ini biasanya dapat menghalangi pertumbuhan mikroorganisme disaat keracunan terhadap ion logam. Mikroorganisme yang tahan terhadap

efek racun ion logam akan dihasilkan berdasarkan prosedur seleksi yang ketat terhadap pemilihan jenis mikroorganisme yang tahan terhadap kehadiran ion logam berat. Kedua mekanisme di atas dapat berjalan serentak.

Beberapa hasil penelitian menunjukkan ikatan cadmium pada dinding sel *Ankistrodesmus* dan *Chlorella vulgaris* mencapai kira-kira 80% dari total akumulasinya di sel, sedangkan arsenik yang berikatan dengan dinding sel *Chlorella vulgaris* rata-rata 26%. Selektif uptake ion logam hampir sama antara sel hidup dan sel mati dari *Chlorella regularis*, di mana jumlah total logam berat yang diabsorpsikan oleh sel mati kira-kira dua kali lebih besar dibandingkan dengan yang diabsorpsikan oleh sel hidupnya (Suhendrayatna,2001)

4. Tinjauan Tentang *Bacillus sp*

Klasifikasi :

Kingdom	:	Bacteria
Phylum	:	Firmicutes
Class	:	Bacilli
Order	:	Bacillales
Family	:	Bacillaceae
Genus	:	Bacillus
Species	:	<i>Bacillus sp</i>

Genus *Bacillus* termasuk batang besar, gram positif, yang membentuk rantai. Basil ini membentuk spora dan bersifat aerob. Kebanyakan anggota genus ini adalah organisme saprofitik yang lazim terdapat dalam tanah, air, udara, dan tumbuh-tumbuhan, beberapa di antaranya patogen bagi insekta. Organisme ini memiliki sel-sel khas berukuran 1 x 3-4 μm , mempunyai ujung-ujung yang berbentuk empat

persegi dan tersusun dalam rantai yang panjang, spora terletak pada tengah basil yang tidak bergerak. Koloninya berbentuk bulat dan menyerupai kaca yang diukir bila disinari cahaya. Basil saprofitik menggunakan sumber-sumber nitrogen dan karbon sederhana untuk energi pertumbuhannya, spora resisten terhadap perubahan lingkungan, tahan terhadap panas kering dan desinfektan kimia tertentu selama waktu yang cukup lama, dan tetap ada selama bertahun-tahun dalam tanah yang kering, dapat disterilkan dengan otoklaf.

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui atau mengkaji kemampuan *Bacillus* sp dalam mengakumulasi logam berat Cu.
2. Mengetahui jumlah logam berat Cu yang dapat diakumulasi oleh *Bacillus* sp.

Manfaat dari penelitian ini adalah :

Diharapkan dari hasil penelitian yang diperoleh akan dapat memberikan gambaran mengenai kemampuan *Bacillus* sp untuk mengakumulasi logam berat Cu, dan di masa yang akan datang akan dapat digunakan sebagai sumber informasi dalam pengembangan metode alternatif penanganan pencemaran lingkungan oleh limbah yang mengandung logam berat Cu.

BAB IV

METODE PENELITIAN

1. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan di dalam penelitian ini adalah :

- Spektrofotometer Absorpsi Atom (Laboratorium Kesehatan Daerah Surabaya)
- Neraca Analitik (Sartorius)
- Autoklaf
- Shaker incubator (Modifikasi)
- Almari pengering /oven (Venticell)
- *Laminar Air Flow* (Dalton)
- Alat destruksi (*Teflon beaker* dan *hot plate*)

Sedangkan bahan yang digunakan adalah :

- *Bacillus sp* (Diperoleh dari Lab. Biologi FMIPA Universitas Airlangga)
- Media Nutrient Broth (Difco)
- Media Nutrient Agar
- HCl p.a (Merck)
- H₂SO₄ pekat p.a (Merck)
- HNO₃ pekat p.a (Merck)
- CuSO₄. 5H₂O p.a (Merck)
- KCl p.a (Merck)
- NaOH p.a (Merck)
- Kertas saring Cellulose

2. Tahapan Analisis

2.1. Penyediaan Inokulum

Dibuat media Nutrient Agar (NA) sebanyak 1 L, dituangkan ke dalam tabung reaksi-tabung reaksi sebanyak masing-masing 7 mL dan dimiringkan, kemudian disterilkan dengan *autoklaf* pada suhu 121°C selama 20 menit. Setelah didinginkan, inokulasikan biakan *Bacillus sp* yang berumur 24 jam ke media tersebut dan inkubasi pada suhu kamar.

2.2. Pembuatan Media Pertumbuhan Nutrient Broth

Dibuat media Nutrient Broth sebanyak 1 L, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 100 mL, kemudian disterilkan dengan *autoklaf* pada suhu 121°C selama 20 menit.

2.3. Pemiakan *Bacillus sp* dalam Media Nutrient Broth

Inokulum *Bacillus sp* dimasukkan dalam Erlenmeyer berisi media Nutrien Broth kemudian dikocok pada *shaker inkubator* 100 spm (*stroke per minute*) pada suhu kamar selama 24 jam.

2.4. Pengamatan Pertumbuhan *Bacillus sp*

Dimasukkan 1 mL suspensi sel dalam media Nutrient Broth ke dalam media pertumbuhan 100 mL, inkubasi pada suhu kamar, dikocok pada *shaker inkubator* 100 spm. Dilakukan pengamatan pertumbuhan *Bacillus sp* setiap 6 jam selama 3 hari. Diambil volume tertentu, diamati *Optical Density* (OD) serapannya pada panjang gelombang 650 nm. Kemudian dibuat kurva pertumbuhan bakteri antara serapan dengan waktu inkubasi. Sebagai blanko digunakan media steril.

2.5. Inokulasi sel ke dalam media yang mengandung logam Cu

Diinokulasikan 1 mL suspensi sel secara aseptis ke dalam media steril yang mengandung Cu 10 ppm, diinkubasikan pada suhu kamar, shaker 100 spm. Sel

dipanen pada saat pertumbuhan optimal (fase *stationer*), disaring dengan corong *Buchner* dengan kertas saring Cellulose yang telah diketahui beratnya. Sel dan kertas saring kemudian dikeringkan pada suhu 60-70°C hingga diperoleh berat konstan.

2.6. Pembuatan Kurva Baku Cu

Dibuat larutan baku induk Cu 1000 ppm dengan cara menimbang 393 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dan dilarutkan dengan HNO_3 (1,5 ml/L) dalam labu ukur 100 mL, kemudian dari larutan baku induk tersebut dibuat larutan baku kerja 1,4,6,8,10, dan 12 ppm. Diamati serapannya pada SSA dengan panjang gelombang 324,7 nm dan dihitung persamaan garis regresinya.

2.7. Validasi Metode

2.7.1. Penentuan Linieritas

Dibuat larutan Cu dalam media dengan kadar tertentu, ditambahkan 16 mL HNO_3 pekat dan 8 mL $\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{SO}_4$ (1:1), kemudian didestruksi sampai didapat cairan jernih kekuningan. Sisa asam diuapkan, didinginkan. Diamati serapannya pada SSA dengan panjang gelombang 324,7 nm. Kelurusan dapat ditunjukkan oleh harga koefisien korelasi dengan rumus :

$$r_{xy} = \frac{n \sum x_i y_i - \sum x_i \cdot \sum y_i}{\sqrt{\{n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2\} \{n \sum y_i^2 - (\sum y_i)^2\}}}$$

r_{xy} = koefisien korelasi

x = kadar logam berat

y = serapan

n = jumlah sampel

Apabila harga r_{xy} hitung lebih besar daripada harga r_{xy} table dengan batas kepercayaan 95% maka ada korelasi linier antara serapan dengan kadar.

2.7.2. Penentuan Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Dilakukan pengukuran absorbansi media 10 kali, kemudian dihitung deviasi standarnya. Kalikan hasilnya dengan dua yang merupakan harga batas deteksi dalam serapan. Dibuat beberapa kadar Cu dalam media yang mempunyai serapan yang terletak mendekati batas deteksi. Kadar Cu yang mempunyai serapan sama dengan batas deteksi dalam serapan merupakan kadar batas deteksi (ppm). Batas kuantitasi dinyatakan dengan 5 kali batas deteksi.

2.7.3. Penentuan Presisi

Dibuat 5 larutan Cu dalam media dengan kadar tertentu, ditambahkan 16 mL HNO₃ pekat dan 8 mL HNO₃:H₂SO₄ (1:1), kemudian didestruksi sampai didapat cairan jernih kekuningan. Sisa asam diuapkan, didinginkan. Diamati serapannya pada SSA dengan panjang gelombang 324,7 nm. Dihitung SD dan Koefisien Variasinya dengan cara :

$$KV = \frac{SD}{x} \times 100\%$$

dimana KV = koefisien variasi

x = rata-rata kadar analit

SD = standar deviasi

2.7.4. Penentuan Akurasi

Dibuat larutan Cu dalam media dengan kadar 4,6,8,dan 10 ppm, ditambahkan 16 mL HNO₃ pekat dan 8 mL HNO₃:H₂SO₄ (1:1), kemudian didestruksi sampai didapat cairan jernih kekuningan. Sisa asam diuapkan, didinginkan. Diamati serapannya pada SSA dengan panjang gelombang 324,7 nm dan dihitung kadar perolehan kembalinya berdasarkan kurva baku.

2.8. Penentuan Kadar Cu dalam Sel

Sel dipanen pada saat pertumbuhan telah mencapai optimal, kemudian disaring menggunakan corong *Buchner* dengan kertas saring *Cellulose* yang telah diketahui beratnya dan telah dicuci. Kertas saring dan sel dikeringkan di dalam oven pada suhu 60-70° C, kemudian ditimbang dengan teliti hingga beratnya konstan, dimasukkan dalam labu destruksi. Ditambahkan 16 mL HNO₃ pekat dan 8 mL HNO₃:H₂SO₄ (1:1), kemudian didestruksi sampai didapat cairan jernih kekuningan. Sisa asam diuapkan, didinginkan. Dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL ditambah dengan HNO₃ pekat 1,5 % v/v sampai garis tanda. Diamati serapannya pada SSA dengan panjang gelombang 324,7 nm.

2.9. Penentuan Kadar Cu dalam filtrat Media

Filtrat dipipet volume tertentu dan dimasukkan ke dalam labu destruksi. Ditambahkan 16 mL HNO₃ pekat dan 8 mL HNO₃:H₂SO₄ (1:1), kemudian didestruksi sampai didapat cairan jernih kekuningan. Sisa asam diuapkan, didinginkan. Dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL ditambah dengan HNO₃ pekat 1,5 mL/L sampai garis tanda. Diamati serapannya pada SSA dengan panjang gelombang 324,7 nm.

3. Analisis Data

Kadar Cu yang diperoleh dalam percobaan dianalisis dengan uji t rancangan dua kelompok berpasangan (*Pooled t Test*) untuk mengetahui apakah ada perbedaan bermakna atau tidak konsentrasi Cu antar perlakuan. Tahapannya adalah :

- Menentukan hipotesis nol (H₀) dan hipotesis alternative (H_a)
- H₀ = tidak ada perbedaan bermakna konsentrasi Cu antar perlakuan
- H_a = ada perbedaan bermakna konsentrasi Cu antar perlakuan

Menghitung harga t hitung

Harga t hitung yang didapat kemudian dibandingkan dengan harga t tabel pada $\alpha = 5\%$.

Bila t hitung lebih besar daripada t tabel maka H_0 ditolak dan H_a diterima

$$t_{\text{hit}} = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S_p \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 1) \cdot S_1^2 + (n_2 - 1) \cdot S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

dimana :

- S_p = Standar deviasi pooled
- n = jumlah replikasi
- \bar{x} = rata-rata kadar Cu dalam media maupun filtrat sel

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

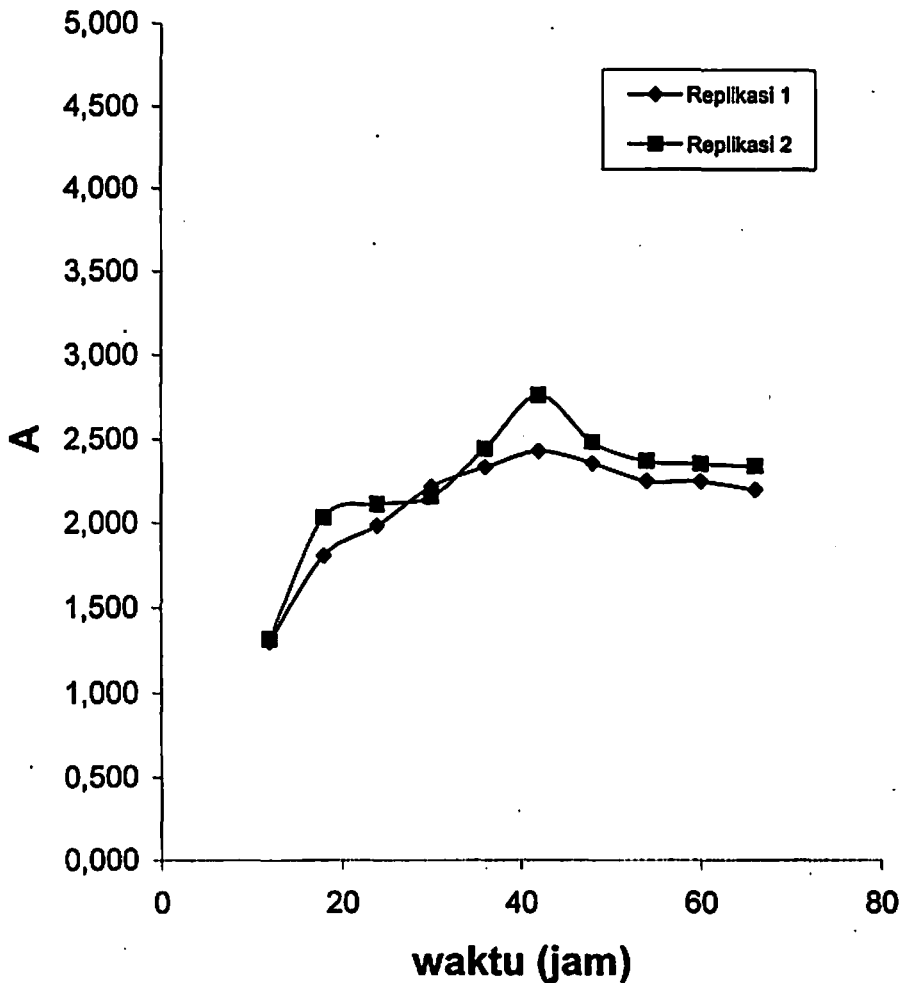
1. Kurva Pertumbuhan *Bacillus sp*

Kurva pertumbuhan *Bacillus sp* dibuat untuk mengetahui apakah media yang digunakan memenuhi kebutuhan pertumbuhan sel dan saat yang tepat atau optimal untuk dapat dipanen dan digunakan dalam penelitian. Pengamatan OD (Optical Density = kerapatan optik) secara spektroskopi untuk mengukur pertumbuhan dilakukan pada suspensi sel berumur 24 jam yang telah diinkubasi pada suhu kamar dengan disertai pengocokan. Pengukuran dilakukan setiap 6 jam selama 66 jam dengan hasil selengkapnya tertera dalam tabel 5.1. berikut ini.

Tabel 5.1. Data Pengukuran Optical Density Pertumbuhan *Bacillus sp*

No.	Pengamatan jam ke-	Serapan (A)	
		Replikasi 1	Replikasi 2
1.	12	1,301	1,315
2.	18	1,806	2,031
3.	24	1,984	2,111
4.	30	2,214	2,156
5.	36	2,332	2,443
6.	42	2,428	2,761
7.	48	2,357	2,486
8.	54	2,250	2,370
9.	60	2,248	2,354
10	66	2,198	2,34

Data pengukuran kerapatan optik di atas dapat dialurkan dalam sebuah kurva pertumbuhan seperti tampak pada gambar berikut ini.



Gambar 5.1. Kurva Pertumbuhan *Bacillus sp*

Volume suspensi yang ditambahkan ke dalam media adalah sebesar 20% volume media, untuk mendapatkan perbanyakan sel yang cukup sehingga proses akumulasi dapat berjalan normal. Jika sel yang ditambahkan dalam media terlalu sedikit tentu akan membuat perbanyakan sel berjalan lambat dan mengganggu proses akumulasi.

Inkubasi dilakukan pada suhu kamar dengan pH netral (pH media = 7). Hal ini dilakukan karena pertumbuhan optimal sel pada umumnya membutuhkan suhu 25-35° C dengan pH di sekitar netral. Sedangkan pengocokan selama masa inkubasi, selain untuk mendapatkan suspensi sel yang homogenitasnya baik juga ditujukan untuk mengendalikan jumlah oksigen yang dibutuhkan oleh sel untuk mempertahankan seluruh fungsi sel yang penting.

Berdasarkan data pengukuran kerapatan optik dan kurva pertumbuhan *Bacillus sp* di atas, dapat dilihat bahwa pada jam ke 42, pertumbuhan sel telah mencapai maksimal. Kemudian pada jam-jam berikutnya pertumbuhan relatif stabil, yang berarti pertumbuhannya telah memasuki fase stasioner. Pada fase ini sel-sel telah berhenti membelah atau jumlah sel hidup mencapai kesetimbangan dengan jumlah sel yang mati, dan proses metabolisme sel relatif konstan. Fase inilah yang digunakan sebagai acuan dalam pemanenan sel. Setelah melalui fase ini, sel akan mengalami penurunan pertumbuhan dan akhirnya mati, karena nutrisi yang ada dalam media semakin berkurang hingga habis dan tidak dapat mencukupi kebutuhan untuk bertumbuh sementara hasil sisa-sisa metabolisme justru menjadi toksik untuk sel. Seperti telah diketahui agar dapat melakukan proses akumulasi terhadap logam-logam, suatu mikroorganisme harus mampu hidup secara memadai terlebih dahulu. Energi yang dibutuhkan untuk hidup mikroorganisme ini adalah yang berasal dari nutrisi yang terkandung di dalam media, bahkan adakalanya dilakukan penambahan senyawa-senyawa tertentu ke dalam media agar dapat mengoptimalkan pertumbuhannya.

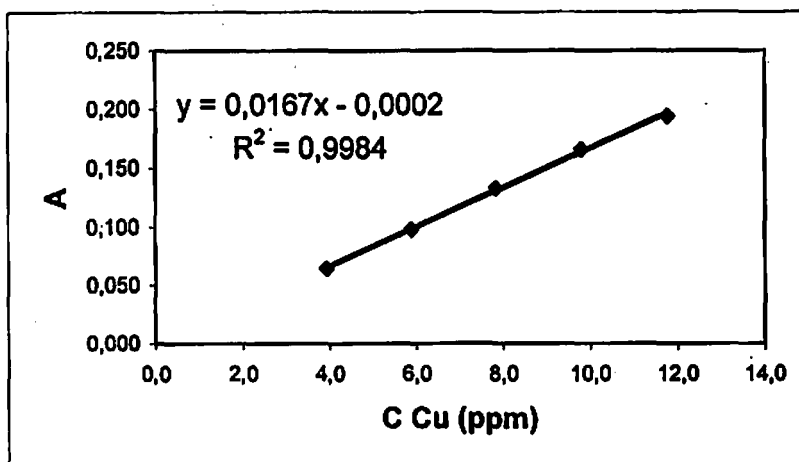
Dengan demikian dapat ditentukan bahwa berdasarkan pengamatan kerapatan optik suspensi sel dan kurva pertumbuhan *Bacillus sp* yang diperoleh dalam penelitian ini, waktu optimal melakukan pemanenan sel adalah 42 jam inkubasi, sehingga dapat digunakan untuk tahap selanjutnya.

2. Pembuatan Kurva Baku Cu

Kurva baku atau kurva standart didapat dari pengukuran SSA serangkaian larutan Cu dalam HNO₃ (1,5 % v/v) dengan hasil sebagaimana berikut.

Tabel 5.2. Data serapan SSA Larutan Standar Cu/HNO₃ (1,5 % v/v)

No.	C _{Cu} (ppm)	Serapan (A)
1.	3,923	0,064
2.	5,885	0,098
3.	7,846	0,133
4.	9,808	0,166
5.	11,769	0,194



Gb. 5.2. Kurva Baku Cu

Data serapan larutan baku Cu tersebut menghasilkan suatu persamaan regresi $y = bx + a$, yaitu :

$$y = 0,0167x - 0,0002$$

dengan harga koefisien korelasi, $r = 0,9992$.

Persamaan inilah yang selanjutnya digunakan untuk menghitung kadar logam Cu dalam sampel yang dianalisis dalam penelitian ini, baik di dalam sel kering maupun di dalam filtrat media.

3. Validasi Metode

Validasi metode diperlukan untuk menguji kevalidan atau keterhandalan metode analisis yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dalam analisis kuantitatif logam berat Cu secara SSA. Pada metode analisis SSA, salah satu tahapan yang penting adalah tahap atomisasi unsur yang dianalisis, karena itu sampel yang dianalisis haruslah dalam bentuk larutan yang jernih dan terionkan. Sampel yang bukan larutan jernih dan terionkan terlebih dahulu dilakukan proses destruksi. Pada penelitian ini digunakan metode destruksi basah atau *Wet Ashing*, dimana dengan cara ini proses destruksi dilakukan dengan menggunakan suhu yang relatif rendah, sehingga resiko kehilangan analit akibat pemanasan suhu tinggi dapat dihindarkan.

Parameter-parameter validasi yang diuji adalah penentuan linieritas, batas deteksi (LD), batas kuantitasi (LQ), presisi dan akurasi. Hasil yang diperoleh selanjutnya diuraikan berikut ini.

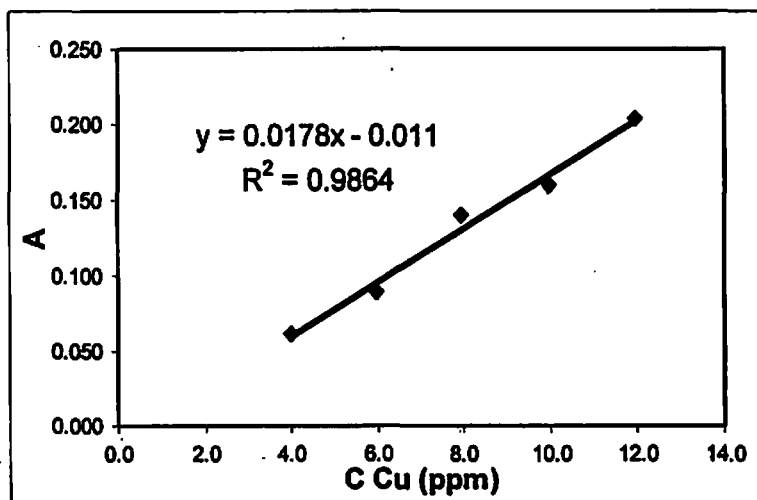
3.1. Penentuan Linieritas

Kurva linieritas dibuat untuk mengetahui korelasi antara kadar Cu terukur dengan serapan SSA. Hasilnya dapat dilihat dalam tabel 5.3 berikut.

Tabel 5.3. Pengamatan Kurva Linieritas Larutan Cu dalam media

No.	C _{Cu} (ppm)	Serapan (A)
1.	3,981	0,062
2.	5,972	0,089
3.	7,962	0,140
4.	9,953	0,160
5.	11,943	0,204

Data tersebut di atas kemudian dibuat dalam bentuk kurva linier sehingga akan diperoleh suatu persamaan regresi seperti terurai berikut ini.



Gambar 5.3. Kurva Linieritas Cu dalam media

Berdasarkan kurva linieritas dan persamaan regresi yang diperoleh, didapatkan harga koefisien korelasi, $r = 0,9932$. Harga r tabel untuk menyatakan adanya korelasi adalah $0,878$ ($\alpha = 0,05$; derajat kebebasan = 3). Diperoleh harga r hitung lebih besar dari r tabel, yang menunjukkan adanya hubungan linier antara kadar dengan serapan Cu, sehingga analisis kuantitatif Cu dalam sampel dapat dilakukan dengan metode SSA ini.

Penentuan Batas Deteksi (LD) dan Batas Kuantitasi (LQ)

Uji penentuan batas deteksi (LD) dan batas kuantitasi (LQ) harus dilakukan dalam analisis renik, termasuk analisis logam berat Cu dalam penelitian ini, baik yang berada dalam sel maupun dalam filtrat media.

Pengukuran pada blanko yang dilakukan sebanyak 10 kali memberikan data serapan seperti tercantum dalam tabel berikut.

Tabel 5.4. Data serapan blanko dengan SSA

No.	Serapan(A) blanko
1.	0,000
2.	0,000
3.	0,000
4.	0,000
5.	0,000
6.	0,001
7.	0,000
8.	0,002
9.	0,001
10	0,001
	$\bar{x} = 0,0005$ $SD = 7,07.10^{-4}$

Harga batas deteksi dinyatakan dengan dua kali SD blanko, sehingga diperoleh harga :

$$= 2 \times 7,07 \cdot 10^{-4}$$

$$= 1,414 \cdot 10^{-3}$$

Sedangkan pengukuran serangkaian larutan Cu dengan kadar yang diharapkan memiliki serapan mendekati serapan blanko adalah sebagai berikut :

Tabel 5.5. Data Serapan Larutan Cu 0,005-0,060 ppm

No.	Kadar Cu (ppm)	Serapan (A)
1.	0,005	0,000
2.	0,008	0,001
3.	0,010	0,001
4.	0,020	0,002
5.	0,030	0,002
6.	0,040	0,004
7.	0,060	0,007

Larutan Cu yang memiliki serapan mendekati batas deteksi adalah larutan Cu dengan kadar antara 0,010 dan 0,020 ppm = 0,015 ppm.

Sedangkan harga limit kuantitasi dinyatakan sebagai lima kali LD, sehingga diperoleh harga LQ sebagai berikut :

$$LQ = 5 \times 0,015 \text{ ppm}$$

$$= 0,075 \text{ ppm.}$$

Hasil perhitungan memberikan hasil LD dan LQ masing-masing sebesar 0,015 ppm dan 0,075 ppm.

3. Presisi

Hasil pengamatan serapan larutan Cu dalam media dengan konsentrasi 4 dan 12 ppm, replikasi 3 kali, tercantum dalam tabel berikut ini.

Tabel 5.6. Data serapan larutan Cu 3,981 dan 11,943 ppm

C_{Cu} (ppm)	Serapan (A)
3,981	0,065
3,981	0,067
3,981	0,068
$x = 0,0667$ $SD = 1,53 \cdot 10^{-3}$	
11,943	0,192
11,943	0,192
11,943	0,189
$x = 0,1913$ $SD = 1,77 \cdot 10^{-3}$	

Nilai presisi yang diperoleh dari perhitungan ditunjukkan dari harga KV berikut ini.

$$KV = \frac{SD}{x} \times 100\%$$

Larutan Cu 4 ppm diperoleh harga KV sebagai berikut :

$$\begin{aligned} KV &= \frac{1,53 \cdot 10^{-3}}{0,0667} \times 100\% \\ &= 2,2939 \end{aligned}$$

Larutan Cu 12 ppm diperoleh harga KV sebagai berikut :

$$\begin{aligned} KV &= \frac{1,77 \cdot 10^{-3}}{0,1913} \times 100\% \\ &= 0,9253 \end{aligned}$$

Harga KV yang diperoleh adalah sebesar 2,294% untuk konsentrasi larutan Cu 4 ppm (3,981 ppm) dan 0,925% untuk konsentrasi larutan Cu 12 ppm (11,943 ppm). Meskipun pada larutan Cu dengan konsentrasi 4 ppm KV yang dihasilkan sedikit diatas 2% namun hal ini masih menunjukkan bahwa metode analisis yang digunakan memiliki presisi cukup baik dengan harga KV pada larutan Cu dengan konsentrasi 12 ppm, yang lebih kecil dari 2%.

3.4. Akurasi

Akurasi ditentukan dari harga % recovery atau perolehan kembali . Metode analisis yang baik untuk sampel biologis, diharapkan memiliki nilai %Recovery $\geq 80\%$. Data yang diperoleh tercantum dalam tabel berikut ini.

Tabel 5.7. % Recovery Cu

No.	Konsentrasi Cu dalam media (ppm)	Konsentrasi Cu akhir (ppm)			% Recovery
		Filtrat	Residu	Total	
1.	9,953	7,851	0,832	8,683	87,24
2.	9,953	7,097	0,775	7,872	79,10
3.	9,953	7,673	0,731	8,404	84,44
x	9,953	7,5403	0,7793	8,3197	83,593 \pm 0,412

Hasil perhitungan harga % Recovery di atas, menunjukkan bahwa metode analisis yang dipakai untuk menentukan kadar logam Cu dalam penelitian ini, cukup baik, dengan harga perolehan kembali sebesar 83,593%.

Berdasarkan pengujian parameter-parameter validasi seperti yang terurai pada poin 3.1 sampai 3.4, tampak bahwa metode analisis yang digunakan untuk analisis kuantitatif Cu dalam penelitian ini sudah cukup baik. Tahap penentuan linieritas menunjukkan bahwa memang terdapat korelasi linier antara kadar dan serapan Cu yang dapat digunakan dalam penentuan kuantitatifnya, yang ditunjukkan oleh harga koefisien korelasi, r , yang lebih besar dari harga r tabel. Hasil penentuan batas deteksi dan batas kuantitasi diperoleh $LD = 0,15$ ppm dan $LQ = 0,75$ ppm, yang menunjukkan bahwa metode analisisnya cukup peka untuk kadar Cu yang kecil. Hasil penentuan presisi dan akurasi pun telah memenuhi kriteria yang diharapkan, sehingga metode analisis kuantitatif Cu secara SSA ini dapat diterapkan pada sampel yang akan diuji selanjutnya.

1. Penetapan Kadar Cu dalam Sel

Setelah dilakukan proses validasi metode analisis untuk menguji metode analisis yang digunakan, dan telah memberikan hasil yang cukup baik serta memenuhi kriteria yang diharapkan, maka metode analisis yang dipilih selanjutnya dapat digunakan dalam tahap analisis kuantitatif yaitu dilakukan penentuan kadar logam berat Cu dalam sampel. Terlebih dahulu penetapan kadar logam berat Cu dilakukan pada sel yang merupakan sisa dari proses penyaringan suspensi sel dan telah dikeringkan pada suhu $60-70^{\circ} \text{C}$ (ditimbang sampai beratnya konstan), serta telah diketahui beratnya.

Hasil pengamatan dan perhitungan dapat dilihat dalam tabel berikut ini.

Tabel 5.8. Penentuan Kadar Cu dalam Sel

Replikasi	Berat sel (mg)	Cudalam media (ppm)	Cu dalam sel (ppm)	%Cu /mg sel	%Cu yang terakumulasi
1	81,0	9,8075	1,042	0,12864	10,625
2	86,9	9,8075	1,078	0,12405	10,992
3	85,6	9,8075	1,184	0,13832	12,072
4	75,3	9,8075	0,874	0,11607	8,912
5	84,6	9,8075	0,972	0,11489	9,911
6	88,4	9,8075	1,238	0,14005	12,623
	x = 83,63	x = 9,8075	x = 1,065	x = 0,12700	x = 10,8558

5. Penetapan Kadar Cu dalam Filtrat

Selanjutnya Cu dalam filtrat hasil penyaringan sampel juga ditentukan kadarnya.

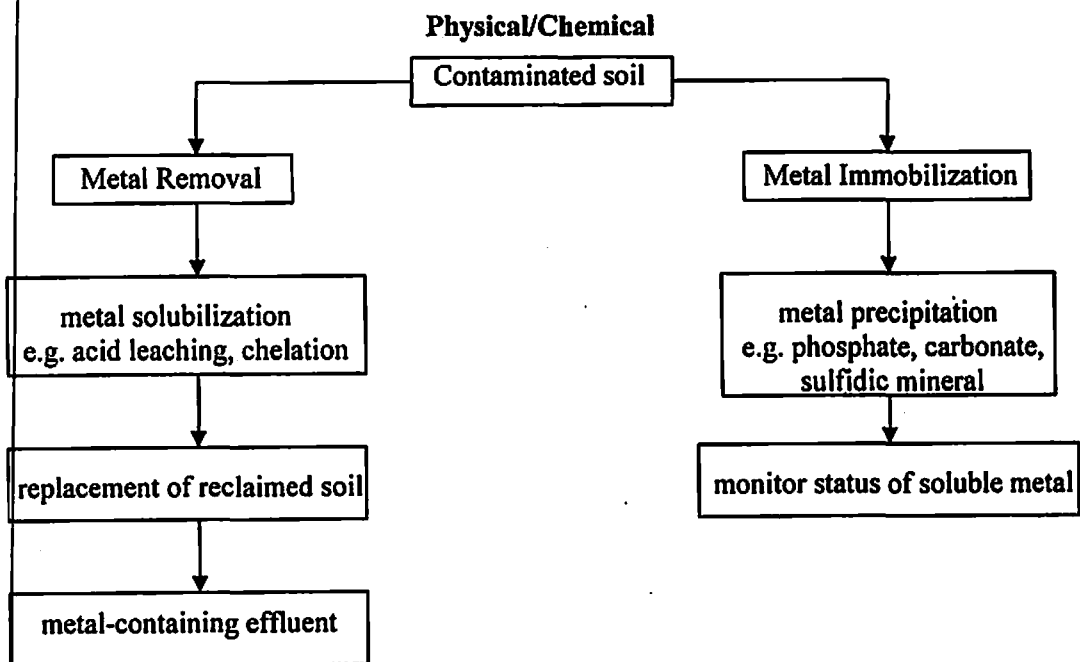
Hasilnya tampak dalam tabel berikut.

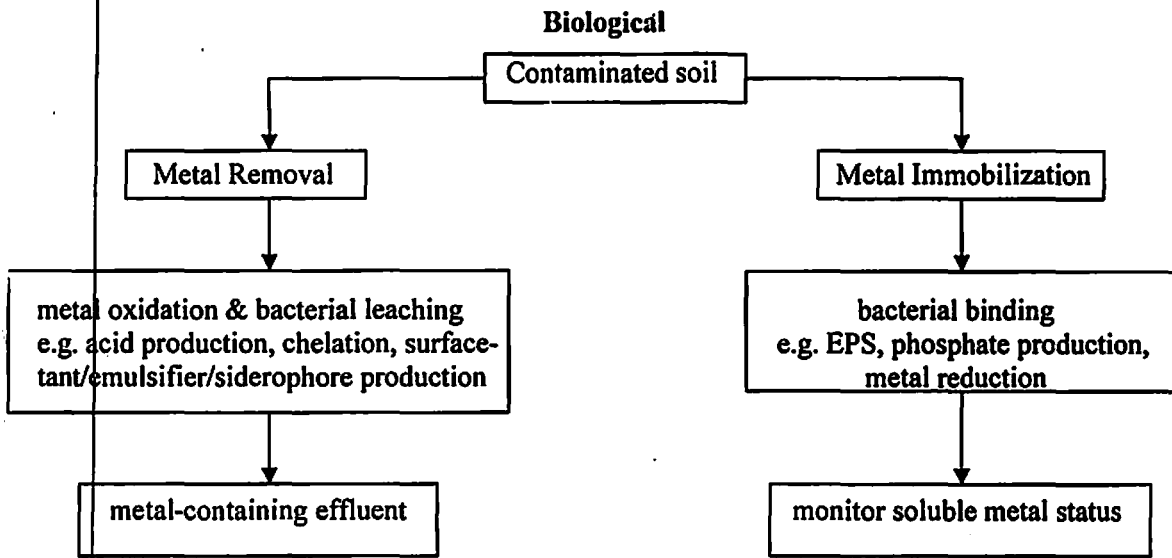
Tabel 5.9. Penentuan Kadar Cu dalam Filtrat

Replikasi	Cu awal (ppm)	Cu akhir (ppm)	% Cu sisa
1	9,8075	7,5401	76,880
2	9,8075	7,0897	72,289
3	9,8075	6,8690	70,038
4	9,8075	7,6673	78,178
5	9,8075	7,3184	74,620
6	9,8075	8,0922	82,510
			x = 75,4191

Dalam penelitian ini Cu yang ditambahkan ke dalam media adalah sebesar 10 ppm (9,8075 ppm). Proses akumulasi logam berat dapat berlangsung baik pada kadar logam berat yang kecil, namun jika kadar logamnya terlalu banyak atau besar maka akan

mengganggu pertumbuhan sel itu sendiri bahkan dapat menyebabkan kematian sel. Bioakumulasi logam pada kadar/konsentrasi yang rendah lebih bisa diterima sebagai alternatif penyelesaian masalah pencemaran logam berat di lingkungan, oleh karena bila pencemaran tersebut terjadi dengan kadar yang tinggi maka lebih dimungkinkan cara-cara penyelesaian secara kimiawi ataupun fisika. Pengembangan teknologi bioakumulasi dan bioremediasi ini memang pada kenyataannya lebih efisien dan lebih ekonomis untuk "clean up" logam dengan konsentrasi/kadar logam pencemar yang rendah, oleh karena skala dan besaran masalah yang ada. Secara skematis strategi untuk logam di tanah dan sedimen yang tercemar adalah sebagai berikut :





Gb. 5.4. Strategi Remediasi untuk Tanah dan Sedimen

Dalam hal ini penggunaan mikroorganisme adalah berdasarkan kemampuan beberapa mikroorganisme (bakteri, jamur, dan alga) untuk tumbuh dalam substrat yang mengandung senyawa-senyawa toksik seperti PAH (*Polycyclic Aromatic Hydrocarbon*) yang mengandung 2 – 5 cincin hidrokarbon aromatis [Crawford, 1996]. Bioleaching logam Cu, Pb dan Zn pada awalnya dapat diamati pada mikroba *Thiobacillus ferrooxidans* dan *Thiobacillus thiooxidans* yang kemudian berkembang pesat hingga saat ini.

Pengaruh jumlah logam berat dalam proses akumulasi logam berat barangkali masih membutuhkan penelitian lebih lanjut. Di samping itu kondisi lingkungan pertumbuhan sel juga perlu untuk dioptimasi. Faktor-faktor yang mempengaruhi proses biodegradasi

telah diketahui antara lain jenis logam, suhu, adanya air, pH, adanya senyawa-senyawa toksik yang lain dan jenis tanahnya [Bajpai, 1997].

Berdasarkan hasil penentuan kadar Cu yang terdapat dalam filtrat sampel maupun residu sel pada penelitian ini, tampak bahwa jumlah Cu yang diperoleh kembali lebih kecil dari jumlah Cu mula-mula yang ada di media. Kadar Cu mula-mula adalah 9,8075 ppm, sedangkan yang diperoleh kembali dari filtrat dan sel hanya sekitar 86,2749% (rata-rata 75,4191% dari filtrat dan 10,8558% dari sel) atau sekitar 8,4614 ppm. Adanya selisih ini adalah karena panjang dan rumitnya proses preparasi sampel sehingga dimungkinkan terjadi kehilangan analit. Namun di dalam analisis renik dan biologis, perolehan kembali masih diijinkan hingga tidak kurang dari 70%, dengan demikian hasil yang diperoleh dalam penelitian ini masih memenuhi persyaratan.

Bacillus sp diketahui dapat melakukan bioremediasi terhadap TNT, sedangkan *Bacillus brevis* B-257 mampu mendegradasi 4-chloro biphenyl dari golongan PCB (*Poly Chlorinated Biphenyl*) yang toksik. Sementara itu Walker pada tahun 1989 menunjukkan bahwa preparat yang dibuat dari dinding sel *Bacillus subtilis* dan *E coli* lebih efektif mengabsorpsi logam daripada Kaolinite atau Smectite. Sedangkan *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas putida* serta *E coli* diketahui memiliki gene plasmid Cad A yang mengkode enzim Cadmium-spesifik ATPase yang berfungsi melakukan transportasi Cd keluar sel.

Mekanisme akumulasi logam berat oleh mikroorganisme dipengaruhi oleh sifat-sifat mikroorganismenya sendiri dan juga jenis logam berat yang diakumulasi. Proses

akumulasi pada umumnya dapat terjadi secara ekstraseluler, pada permukaan sel dengan membentuk ikatan ion logam dengan permukaan sel, maupun uptake logam intraseluler dan vaporisasi logam, pengendapan logam melalui pembentukan kompleks dengan ligand yang dibentuk oleh mikroba. Mekanisme mana yang terjadi pada proses akumulasi logam berat Cu oleh sel *Bacillus sp* belum dapat ditentukan dalam penelitian ini, sehingga masih dibutuhkan penelitian lebih lanjut, namun demikian seperti telah diketahui logam berat dapat menghambat berbagai proses seluler dan efeknya seringkali tidak dipengaruhi oleh konsentrasinya. Toksisitas logam pada mikroba secara umum melibatkan reaktivitas kimiawi yang spesifik. Logam-logam seperti Cu, Ag, Hg seringkali sangat toksik terutama dalam bentuk ionnya sedangkan logam-logam seperti Pb, Ba, dan Fe lebih dapat diterima pada level khusus oleh mikroba. Logam berat meski tidak secara essensial dibutuhkan tetapi dapat diambil dari larutan melalui berbagai mekanisme seperti pertukaran ion pada dinding sel, reaksi pembentukan kompleks pada dinding sel, dan reaksi pembentukan kompleks intra serta ekstra seluler dan biomasnya secara aktif dapat mengadsorpsi logam dalam bentuk gugus-gugus ionik pada permukaan sel dan lapisan polisakarida yang umum didapatkan pada bakteri, jamur, dan alga [Talley, 1997].

Penggunaan mikroba untuk membersihkan lingkungan yang tercemar ini secara ekstensif untuk pertambangan dan pengambilan kembali logam, khususnya untuk logam mulia dan Uranium membutuhkan teknologi yang berbasis mikro-remediasi. Potensi penerapannya antara lain untuk treatment limbah radioaktif dan limbah militer, seperti

yang telah dilakukan oleh *Desulfovibrio desulfuricans* yang mereduksi U (IV) ke U(III) dengan efisiensi mencapai 20-100% [Crawford, 1996]

Mikroba juga digunakan dalam bentuk biofilm, untuk penanganan kontaminasi logam pada perairan antara lain *Citrobacter sp*, untuk mengekstraksi uranium *Streptomyces viridochromogens*, *Arthrobacter sp* digunakan untuk mengakumulasi Cd, Cr, Pb, Cu, Hg, Ni, U, dan Zn di air limbah.

Fungi dan ragi dapat menghilangkan logam dari sistem akuatik seperti Ag, dapat digunakan *Sacharomyces cerevisiae* dan *Candida sp*.

Upaya pembersihan lingkungan di limbah domestik telah dipelajari oleh Cheng, Patterson dan Minear pada activated sludge yang mengandung 2100-25200 µg Cu/L, ternyata 89% Cu dapat dihilangkan selama treatment bahkan untuk logam Pb dapat dicapai 98%.

Pada akhirnya penggunaan biomassa mikroorganisme, eksopolisakarida, biosurfactant, bioemulsifier, siderophore dan mikroba yang mampu menginduksi oksidasi-reduksi serta metilasi, menawarkan berbagai alternatif untuk treatment logam berat pada lingkungan yang tercemar. Alternatif riset di masa depan, dalam hal ini "in situ mining" untuk mereduksi limbah yang terkontaminasi dan pengembangan aplikasinya untuk membersihkan logam berat dari limbah industri dan pertambangan sebelum dibuang ke lingkungan dapat dipertimbangkan. Selanjutnya pengembangan teknologi remediasi

menggunakan mikroorganisme memerlukan riset lebih lanjut yang lebih spesifik agar dapat diaplikasikan untuk kepentingan masyarakat dan umat manusia pada umumnya.

Analisis Data

Analisis data secara statistika diperlukan untuk mengetahui apakah kadar Cu dalam media dengan dan tanpa induksi sel memiliki perbedaan yang signifikan. Perbedaan yang signifikan akan menunjukkan adanya logam Cu yang terakumulasi di dalam sel. Kadar Cu dalam media baik dengan maupun tanpa induksi sel *Bacillus sp* yang didapat, dianalisis dengan uji t rancangan dua kelompok berpasangan (*pooled t test*). Hasilnya terdapat dalam uraian berikut ini.

Tabel 5.9. Data kadar Cu

No.	Kadar Cu (ppm)			
	Sebelum induksi sel	Setelah induksi sel	Perbedaan (D)	D ²
1	9,8075	7,5401	2,2674	5,1411
2	9,8075	7,0897	2,7178	7,3864
3	9,8075	6,8690	2,9385	8,6348
4	9,8075	7,6673	2,1402	4,5805
5	9,8075	7,3184	2,4891	6,1956
6	9,8075	8,0922	1,7153	2,9423
\bar{x}	9,8075	7,4295	2,3780	34,8807

Harga t hitung diperoleh dari perhitungan yang didasarkan pada harga S_p , seperti yang terurai berikut ini :

$$t_{hit} = \frac{\bar{D}}{S_D / \sqrt{n}}$$

$$D = \frac{\sum D}{n}$$

$$S_D = \sqrt{\frac{(\sum D^2 - n\bar{D}^2)}{n-1}}$$

dimana : \bar{D} = perbedaan harga-harga yang berpasangan

D = rerata D

S_D = Deviasi standar harga D

n = banyaknya pasangan

sehingga dapat dihitung sebagai berikut :

$$\begin{aligned} S_D &= \sqrt{\frac{34,8807 - 6 \cdot (2,378)^2}{6 - 1}} \\ &= \sqrt{0,1903} \\ &= 0,4362 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_{hit} &= \frac{2,3780}{0,4362 / \sqrt{6}} \\ &= \frac{2,3780}{0,1781} \\ &= 13,3520 \end{aligned}$$

Dalam menentukan apakah H_a diterima atau ditolak, maka harus diketahui terlebih dahulu harga t tabel dengan derajat kemaknaan 5% ($\alpha = 0,005$), dan derajat kebebasan 5 ($n - 1$) pada uji dua pihak. Harga t tabel adalah sebesar 2,015 sedangkan harga t hitung

adalah sebesar 13,352, sehingga diperoleh harga t hitung yang lebih besar dari harga t tabel.

Berdasarkan data tersebut di atas maka dapat dinyatakan bahwa H_0 ditolak dan H_a diterima, dengan demikian berarti ada perbedaan bermakna kadar Cu antar perlakuan sampel. Disimpulkan bahwa *Bacillus sp* mampu mengakumulasi logam berat Cu.

Meskipun telah dapat disimpulkan bahwa *Bacillus sp* dapat mengakumulasi logam berat Cu, namun untuk dapat diaplikasikan di dalam kehidupan masyarakat, khususnya dalam penanganan pencemaran lingkungan yaitu pencemaran logam berat, masih membutuhkan penelitian-penelitian lanjutan seperti upaya-upaya optimasi kondisi yang dapat mempengaruhi pertumbuhan sel dan optimasi kondisi untuk kemampuannya dalam mengakumulasi logam berat, jenis-jenis logam lain yang dapat diakumulasi, dan lain-lain.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Beberapa hal yang dapat disimpulkan dari hasil penelitian yang diperoleh adalah :

1. *Bacillus sp* dalam media cair Nutrient Broth, pada suhu kamar dengan lama inkubasi 42 jam mampu menurunkan kadar Cu dalam filtrat media sebesar 8,912 – 12,623% dari kadar Cu awal, dengan nilai rata-rata sebesar 10,8558%.
2. *Bacillus sp* mampu mengakumulasi logam berat Cu dalam media sebesar berat per berat sel kering 0,1149 – 0,1400 %/mg sel, dengan nilai rata-rata sebesar 0,1270%/mg sel.

SARAN

Dengan hasil penelitian yang telah diperoleh maka masih diperlukan adanya penelitian lanjutan untuk mengetahui faktor-faktor yang berpengaruh dalam proses akumulasi logam berat Cu oleh *Bacillus sp*, seperti pH, suhu, dll; dan juga kemungkinan kemampuan *Bacillus sp* dalam mengakumulasi logam-logam berat lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Crawford, RL., DL Crawford, 1996, **Bioremediation : Principles and Applications**, Cambridge University Press, Cambridge.
- Crueger, W., A. Crueger, 1986, **Leaching in Biotechnology : A Textbook of Industrial Microbiology**, 284-287
- Departemen Kesehatan RI, 1990, **Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia**
- Dwi, BS, 1995, **Studi Akumulasi Logam Berat Tembaga dalam Bakteri Streptomyces griceus**, Skripsi, FFUA
- Gan, S., 1987, **Farmakologi dan Terapi**, ed.3, Bagian Farmakologi Kedokteran UI, Jakarta 706
- Kelly DP., PR Norris, and CL Brierley, 1989, **Microbiological Methods for Extraction and Recovery of Metals**, pp 263-308, dalam : **Bull, AT., DC Elwood, dan C Ratledge (Ed), Microbial Technology : Current State, Future Prospect**. Cambridge University Press, Cambridge.
- Met Calfe, 1991, **Atomic Absorption and Emission Spectroscopy**, John Wilwy & Sons, Toronto
- Mulya, M., Suharman, 1995, **Analitical Instrument**, AUP, Surabaya, 82-91
- Ottoway, JH., APP DK, 1984, **Baillieres "Concise Medical Text Book"**, ed.4, Baillier Tyndall, London, 37
- P, Djarwanto, 1996, **Mengenal Beberapa Uji Statistik Dalam Penelitian**, Liberty Yogyakarta, Yogyakarta, 134-138
- Rohini, A., 1990, **Bacterial Leaching : A Potential for Developing Countries**, dalam : **Genetic Engineering & Biotechnology Monitoring United Nation Industrial Devel. Org., IFIAS, Masstrich**, 57-63
- Shumate, SE., Stranberg GW, 1985, **Accumulation of Metal by Microbial Cells**, **Comprehensive Biotechnology**, vol. V, Pergamon Press, Oxford, 235-247
- Silverman, MP., Lundgren DG, 1959, **Studies on Chemoautotrophic Iron Bacterium Ferrobacillus ferrooxidans, an improved medium and a harvesting procedure for securing high cells yields**, **J.Bacteriology**, 77, 642-647

- Skoog, DA, 1985, **Principles of Instrument Analysis**, ed.3, Holt & Sanders Int Co., Philadelphia
- Talley, JW., Sleeper PM., 1997, Roadblocks to the Implementation of Biotreatment Strategies, dalam **Bioremediation of Surface and Subsurface Contamination**, editor : Rakesh KB dan Mark EZ, The New York Academy of Sciences, New York.
- Torma, AE., 1987, The Role of Thiobacillus ferrooxidans in Hydrometallurgical Processes, **Adv. Biochem. Eng.**, 6, 1-37
- Wenberg, GM., Erbish FH, Volin ME, 1981, Leaching on Copper by Fungi, **Min. Eng. Littleton, Colo**, 23, 11, 74
- Zainuddin, M, 1985, **Kursus Instrument AAS (Paket A)**, FFUA, 1-14

LAMPIRAN A

HASIL ANALISIS SPSS

LAMPIRAN A

HASIL ANALISIS SPSS

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	VAR00001	9.8096	6	1.021E-03	4.167E-04
	VAR00002	7.4284	6	.4359	.1779

Paired Samples Correlations

Pair		N	Correlation	Sig.
1	VAR00001 & VAR00002	6	-.124	.814

Paired Samples Test

		Paired Differences		
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	VAR00001 - VAR00002	2.3801	.4360	.1760

Paired Samples Test

		Paired Differences	
		95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper
Pair 1	VAR00001 - VAR00002	1.9226	2.8377

Paired Samples Test

		t	df	Sig. (2-tailed)
Pair 1	VAR00001 - VAR00002	13.372	5	.000

LAMPIRAN B

**BIODATA
KETUA PENELITI**

1. Nama Lengkap : Riesta Primaharinastiti, S.Si.
 2. Umur/Jenis kelamin/Agama : 27 tahun/Wanita/Islam
 3. Alamat (Bagian, Fakultas, dll) : Kimia Farmasi, Fak. Farmasi UNAIR
 4. Pangkat/Golongan/NIP. : Penata Muda/III a/132170739
 5. Jabatan Pokok : Staf Pengajar Fak. Farmasi UNAIR
 6. Kesatuan/Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga
 7. Alamat Kantor : Jl. Darmawangsa Dalam Surabaya

8. Riwayat Pendidikan Tinggi:
(dalam dan luar negeri)

No.	Nama Pendidikan	Tempat	Tahun		Bidang Spesialis	Titel / Ijazah
			Dari	Tahun		
1.	Fakultas Farmasi	UNAIR	1991 1996	1996 1997	Sarjana Apoteker	S.Si. Apoteker

9. Pengalaman Penelitian

NO.	TAHUN	JUDUL PENELITIAN	SUMBER BIAYA	KET.
1.	1994	Pengembangan <i>Phylanthus niruri</i> L Sebagai Hepatoprotektor Dengan Menggunakan Metode Pengukuran Enzim SGPT dan SGOT Pada Binatang Coba Tikus Putih Jantan Terhadap Hepatotoksisitas Parasetamol		LKIP
2.	1995	Penetapan Kadar Campuran Senyawa Obat Amoksisilin dan Parasetamol Di Dalam Plasma Secara Invitro	Mandiri	Skripsi
3.	1997	Optimasi Penentuan Kadar Malondialdehid (MDA) Dalam Sperma Manusia Dengan Metode Spektrofluorometri	Mandiri	
4.	1998	Optimasi Penetapan Kadar Digoksin Di Dalam Plasma secara Invitro Dengan Metode Spektrofluorometri	Rutin UNAIR	

BIODATA
Peneliti 1

Nama : Drs. Achmad Toto Poernomo, Msi, Apt
Tempat dan Tgl.Lahir : Surabaya, 18 September 1959
Jenis Kelamin : Pria

Agama : Islam
Pekerjaan : Fakultas Farmasi UNAIR
Pangkat / Golongan : Penata (III/b)
Jabatan : Asistan Ahli

Riwayat Pendidikan :

Nama Sekolah	Tempat	Tahun Lulus
Fakultas Farmasi UNAIR	Surabaya	1985 (Sarjana)
Fakultas Farmasi UNAIR	Surabaya	1986 (Apoteker)
Program Pasca Sarjana UGM	Yogyakarta	1996 (Magister Sains)

Pengalaman Riset :

Judul Karya Ilmiah	Tahun
1. Uji aktivitas proteolitik <i>Streptomyces violaceuniger</i> pada media susu skim-NA (peneliti utama)	1994
2. <i>Streptomyces griceus</i> ATCC 10137 Amobil dan Karakter Proteasenya (peneliti utama)	1995
3. Optimasi Analisis Kuantitatif Digoksin di dalam Plasina secara Invitro dengan Metode Spektrofluorometri (peneliti anggota)	1997
4. Uji Aktivitas Enzim Proteolitik Hasil Fermentasi Curah <i>Bacillus subtilis</i> : Tinjauan Terhadap Pengaruh pH, Suhu dan Ion Logam (peneliti utama)	1997
5. Penetapan Kadar Metil pada Hasil Reaksi DNA dengan N-metil-N-Nitrosourea secara Invitro (peneliti anggota)	1998
6. Isolasi PABA dan OABA glukosiltransferase dari kultur suspensi sel <i>Solanum mammosum</i> dan <i>Solanum laciniatum</i> (teknisi laboratories pada RESEARCH UNGGULAN TERPADU - RUT VI tahun ke III)	1999 /2000
1. Pengaruh (-)-Epigalokatekin Galat Teh Hijau Pada Sistem Perbaikan DNA: Kajian Terhadap Hambatan Mutasi <i>p53</i> dan Ekspresi <i>p21</i> (peneliti anggota pada DOMESTIC COLLABORATIVE RESEARCH GRANT PROGRAM - 2000)	2000/ 2001

.blikasi :

	Karya Ilmiah
1	Toto P.A., G. Indrayanto, Sutarjadi (1995), Isolasi Sterol dari Biji <i>Ceiba pentandra</i> Gaertn. Seminar Tumbuhan Obat V, Surabaya.
2	Toto P.A., Supardi Wongsosupantio, Endang Sutriswati R., (1996), <i>Streptomyces griceus</i> ATCC 10137 Amobil dan Karakter Proteasenya , Seminar Kongres ISFI, Semarang.
3	Toto,P.A. Karakterisasi Enzim Proteolitik <i>Streptomyces griceus</i> ATCC 10137 Amobil, (1996), Seminar Sehari Dies Natalis Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
4	Toto,P.A. Proses Penggunaan Ulang Sel <i>Streptomyces griceus</i> ATCC 10137 Amobil untuk Produksi Protease, (1998), Pameran Poster Dies Natalis Fakultas Farmasi UNAIR, Sby.

BIODATA**Peneliti 2**

Nama : Dra. Noor Erma Sugijanto, MS
Tempat dan tgl. Lahir : Surabaya, 28 Nopember 1952
Jenis kelamin : Wanita
Agama : Islam
Pekerjaan : Fakultas Farmasi UNAIR
Pangkat/Golongan : Pembina Tingkat I/ (IV/b)
Jabatan : Lektor Kepala Madya

Riwayat Pendidikan :

Nama Sekolah	Tempat	Tahun lulus
SMAN 2	Surabaya	1972
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga	Surabaya	1979 (Sarjana)
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga	Surabaya	1980 (Apoteker)
Fakultas Pascasarjana Universitas Airlangga	Surabaya	1990 (Magister)

Pengalaman riset/Karya Ilmiah tahun 1993-1999 :

Judul Karya Ilmiah	Keterangan
1. Analisis Campuran Etinil Estradiol dan Norgestrel Serta Aplikasinya dalam Tablet Kontrasepsi Oral dengan Metode HPLC	SPP/DPP Unair 1992/1993
2. Pengaruh Kalsium dan Fosfat pada Penetapan Kadar Besi Menggunakan Spektrofotometri	SPP/DPP Unair 1992/1993
3. Penentuan Kualitatif dan Kuantitatif Asam Amino Dalam Kupang dengan Penganalisis Asam Amino Otomatis	SPP/DPP Unair 1992/1993
4. Penentuan Kadar Besi dalam Beberapa Macam Sediaan Susu	SPP/DPP Unair 1992/1993
5. Penentuan Kadar Antibiotik dalam Serum Ayam Potong	SPP/DPP Unair 1993/1994
6. Biotransformasi Diosgenin oleh <i>Arthobacter simplex</i> dan <i>Mycobacterium phlei</i>	SPP/DPP Unair 1994/1995

7. Penentuan Kadar Fenilefrin HCL bersama Fenilpropanolamin HCL dan Khlor Feniramina Maleat Dalam Sediaan Tablet	SPP/DPP Unair 1994/1995
8. Biotransformasi Diosgenin oleh <i>Arthobacter simplex</i> Dan <i>Mycobacterium phlei</i>	Cermin Dunia Farmasi, 1995
9. Bioremediasi Tembaga dalam Media Cair Menggunakan Biakan <i>Fusarium semitectum</i> ,	Seminar Nasional Bio-Kimia di Surabaya, 1997
10. Bioakumulasi Logam Berat Cu ²⁺ dalam Jamur <i>Penicellium chrysogenum</i>	Seminar Penelitian Ilmu Farmasi di ITB, 1997
11. Bioakumulasi Tembaga Menggunakan Jamur <i>Aspergillus niger</i>	Seminar Penelitian Ilmu Farmasi di ITB, 1997