

**POTENSI BAKTERI RESISTEN VANADIUM (V) DARI LIMBAH CAIR
TAMBANG MINYAK WONOCOLO SEBAGAI BIOAKUMULATOR
VANADIUM (V)**

SKRIPSI

OLEH:

MUHAMMAD IHSANUDDIN

NIM. 13620073



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2018

**POTENSI BAKTERI RESISTEN VANADIUM (V) DARI LIMBAH CAIR
TAMBANG MINYAK WONOCOLO SEBAGAI BIOAKUMULATOR
VANADIUM (V)**

SKRIPSI

Diajukan Kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan

dalam Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Oleh :

MUHAMMAD IHSANUDDIN

NIM. 13620073

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2018

**POTENSI BAKTERI RESISTEN VANADIUM (V) DARI LIMBAH CAIR
TAMBANG MINYAK WONOCOLO SEBAGAI BIOAKUMULATOR
VANADIUM (V)**

SKRIPSI

Oleh :

MUHAMMAD IHSANUDDIN

NIM. 13620073

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal:

Pembimbing I,

Pembimbing II,



Romaidi, M.Si., D.Sc
NIP.19810201 200901 1 019



M. Mulhils Fehrudin, M.S.I
NIPT. 201402011409

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



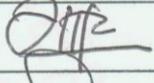
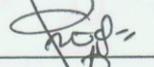
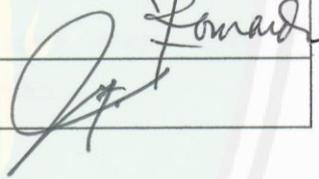
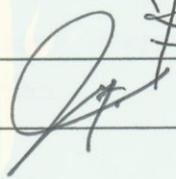
Romaidi, M.Si., D.Sc
NIP.19810201 200901 1 019

**POTENSI BAKTERI RESISTEN VANADIUM (V) DARI LIMBAH CAIR
TAMBANG MINYAK WONOCOLO SEBAGAI BIOAKUMULATOR
VANADIUM (V)**

SKRIPSI

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal:

Penguji Utama	Dr. Hj Ulfah Utami, M.Si NIP. 19650509 199903 2 002	
Ketua Penguji	Prilya Dewi Fitriyani, M.Sc NIP. 19900428201608012062	
Sekretaris Penguji	Romaidi, M.Si., D.Sc NIP. 19810201 200901 1 019	
Anggota Penguji	M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I NIPT. 201402011409	

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M. Si., D.Sc
NIP. 19810201 200901 1 019

PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Ihsanuddin
NIM : 13620073
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi
Judul Penelitian : Potensi Bakteri Resisten Vanadium (V) dari Limbah Cair Tambang Minyak Wonocolo sebagai Bioakumulator Vanadium (V)

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian ini tidak terdapat unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali secara tertulis dikutip dalam naskah dan disebutkan dalam sumber kutipan atau daftar pustaka. Apabila pernyataan hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur penjiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggungjawabkan serta diproses sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Malang, 3 September 2018

Yang Membuat Pernyataan



Muhammad Ihsanuddin
NIM. 13620073

MOTTO

أَمُوتُ وَبَقِيَ كُلُّ مَا كَتَبْتُهُ * فَيَأْتِي مَنْ يَقْرَأُ كِتَابِي دَعَالِيَا

“Aku akan mati, namun apa yang kutulis akan tetap ada dan saya berharap yang membacanya berkenan mendoakanku”

لَعَلَّ إِلَهِي أَنْ يَمُنَ بِلُطْفِهِ * وَيَرْحَمَ تَقْصِيرِي وَسُوءَ فَعَالِيَا

“Semoga Tuhan memberi kebaikan dan belas kasihan-Nya atas kekurangan dan perbuatan buruk saya”

Abu Zakaria Muhyiddin bin Syaraf An-Nawawi Ad-Dimasyqi
(Hanifansyah, 2012)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillahirrohmanirrohim.

Skripsi ini saya persembahkan kepada orang-orang yang tersayang, terkhusus kepada kedua orang tua penulis yang sangat dicintai dan diidolakan yaitu Abah Ustadz Mangku Alam & Ibu Aini Lu'lu'atin.

Saya ucapkan *Jazakumullah Khairan Katsiran Wa Jazakumullah Ahsanal Jaza* Terimakasih banyak kepada semua orang yang telah mendukung dan membantu terselesaikannya skripsi ini dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapa saja yang membacanya terutama bagi penulis pribadi.



KATA PENGANTAR

Segala puji penulis panjatkan kepada Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Penyayang. Berkat rahmat yang dilimpahkan-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “**Potensi Isolat Bakteri Resisten Vanadium (V) Dari Limbah Cair Tambang Minyak Desa Wonocolo Sebagai Bioakumulator Vanadium (V)**”.

Sholawat dan Salam tetap tercurahkan kepada Nabi Agung Muhammad, Rosululloh SAW para keluarga beserta sahabat-nya sampai hari akhir. Penyusunan skripsi ini tidaklah lepas dari bimbingan, dukungan dan arahan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ucapkan terimakasih sebanyak-banyaknya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. Abd. Haris, M. Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M. Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Bapak Romaidi, M.Si, D. Sc, selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Sekaligus dosen pembimbing yang penuh kesabaran membimbing penulis sampai terselesainya skripsi ini.
4. Bapak M. Mukhlis Fahrudin, M. S.I, selaku dosen pembimbing integrasi sains dan agama yang telah memberikan waktu, arahan dan pandangan tentang sains dari perspektif Islam.
5. Ibu Dr. Hj. Ulfah Utami, M. Si dan Ibu Prilya Dewi Fitriasari, M. Sc, selaku dosen penguji yang memberikan kritik dan saran dalam pengerjaan dan penyusunan hingga terselesaikannya skripsi ini.
6. Ibu Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku dosen wali yang telah banyak memberikan saran dan motivasi selama perkuliahan.
7. Bapak/Ibu dosen Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmunya selama studi.

8. Kedua orang tua penulis, serta keluarga yang selalu memberikan doa dan restunya, semangat serta nasihat kepada penulis dalam menuntut ilmu.
9. Seluruh laboran Jurusan Biologi yaitu Mas Basyar, Mas Ismail, Bu Prilya, dan Mbak Lil. Serta Mbak Tika (Analis Laboratorium Mikrobiologi UNAIR), Bapak Ras Mintarjo (pemilik tambang minyak) dan Bapak Fathoni (BPKI) yang telah membantu penelitian ini.
10. Teman seperjuangan Tim Minyak (Roqi) dan Tim Selenium (Magstin, Mbak Iza, dan Mbak Wafi) dan teman-teman seperjuangan mikrobiologi dan keluarga besar Biologi 2013 terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya dalam menyelesaikan tugas akhir.
11. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik material maupun moril.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan dan kesalahan walaupun begitu penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada para pembaca setidaknya bagi penulis sendiri. Akhir kata semoga melalui skripsi ini penulis mendapat ridlo Allah SWT dan mendapat syafaat Rosul-Nya. Amin

Malang, 3 September 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGAJUAN.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN.....	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACK	xvii
مستخلص البحث	xviii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan.....	7
1.4 Hipotesis	7
1.5 Batasan Masalah.....	8
1.6 Manfaat.....	9
BAB II. KAJIAN PUSTAKA.....	10
2.1 Pencemaran Lingkungan dalam Islam.....	10
2.2 Minyak Bumi.....	13

2.2.1 Pertambangan Minyak Bumi Desa Wonocolo	14
2.3 Limbah Pertambangan Minyak Bumi	17
2.3.1 Karakteristik Limbah Minyak Bumi.....	18
2.3.2 Logam Vanadium dalam Limbah Minyak Bumi.....	18
2.3.3 Toksisitas Logam Vanadium	19
2.4 Bakteri Resisten Vanadium	20
2.4.1 Mekanisme Resistensi Bakteri terhadap Logam Vanadium	21
2.4.2 Faktor-faktor Pertumbuhan Bakteri Resisten Vanadium.....	23
2.5 Pemanfaatan Bakteri dalam Bioremediasi Vanadium	25
2.6 Kerangka Penelitian.....	26
BAB III. METODE PENELITIAN.....	27
3.1 Rancangan Penelitian	27
3.2 Waktu dan Tempat	27
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	27
3.3.1 Alat	27
3.3.2 Bahan	28
3.4 Prosedur Kerja	28
3.4.1 Pengambilan Sampel	28
3.4.2 Persiapan Media dan Larutan Stok	29
3.4.3 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	30
3.4.4 Uji Pendahuluan.....	30
3.4.5 Uji Resistensi terhadap Logam Berat Vanadium.....	31
3.4.6 Pembuatan Kultur Murni Isolat Bakteri Resisten Vanadium	31
3.4.7 Identifikasi Isolat Terpilih Bakteri Resisten Vanadium	32
3.4.7.1 Pengamatan Makroskopik Bakteri	32
3.4.7.2 Pengamatan Mikroskopik Bakteri	33
3.4.8 Uji Resistensi Isolat Terpilih Bakteri Resisten Vanadium	34
3.4.9 Identifikasi Isolat Bakteri Resisten Vanadium (V) Terpilih Menggunakan Kit Microbact	34
3.4.10 Uji Bioakumulasi Isolat Terpilih Bakteri Resisten Vanadium	36

3.5 Analisis Data	37
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1 Jenis bakteri Resisten Terhadap Vanadium dari Limbah Cair Tambang Minyak Bumi Desa Wonocolo	38
4.1.1 Isolat Bakteri Resisten Vanadium dari Limbah Cair Tambang Minyak Bumi Desa Wonocolo	38
4.1.2 Identifikasi Mikroskopis Isolat Bakteri Resisten Vanadium dari Limbah Cair Tambang Minyak Bumi Desa Wonocolo	39
4.1.3 Uji Resistensi Isolat Bakteri Resisten-Vanadium Terhadap Vanadium 40	
4.1.4 Identifikasi Bakteri S2-4 Menggunakan Kit Microbact	42
4.2 Uji Kemampuan Bioakumulasi Vanadium Oleh Isolat Bakteri S2-4.....	48
4.3 Dialog Hasil Penelitian Perspektif Islam	51
BAB V. PENUTUP.....	54
5.1 Kesimpulan.....	54
5.2 Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN.....	62

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Peta Kec. Kedewan, Kab. Bojonegoro	15
Gambar 2.2 Bentuk Tambang Tradisional	16
Gambar 2.3 Skema pertambangan minyak bumi Wonocolo	17
Gambar 2.4 Bagian tipis sel <i>Pseudomonas isachenkov</i> : (A) memanjang, (B) penampang melintang	23
Gambar 2.5 Kerangka berfikir penelitian	26
Gambar 3.1 Skema pengambilan sampel limbah cair tambang Wonocolo	29
Gambar 3.2 Morfologi Koloni Bakteri.....	33
Gambar 4.1 kemampuan bioakumulasi vanadium (V) isolat bakteri S2-4 dalam media HMC cair dengan konsentrasi 0 μM , 200 μM , 500 μM	49

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi elemter minyak bumi	14
Tabel 2.2 Sifat fisika dan kimia logam vanadium	19
Tabel 4.1 Jumlah koloni bakteri resisten vanadium dalam media HMC agar	39
Tabel 4.2 Hasil uji resistensi menggunakan metode difusi kertas cakram	41
Tabel 4.3 Hasil karakteristik pengamatan isolat S2-4 menggunakan kit Microbact 12A dan 12B	43
Tabel 4.4 jumlah vanadium (V) yang terakumulasi dalam berat basah bakteri S2-4 (mM/g)	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian.....	62
Lampiran 2. Persiapan Sediaan Larutan Stok Vanadium.....	65
Lampiran 3. Hasil Pengamatan Bakteri Resisten Vanadium dari Limbah Cair Tambang Minyak Wonocolo.....	68
Lampiran 4. Hasil Pengamatan Zona Hambat Bakteri terhadap Berbagai Konsentrasi Logam Vanadium.....	70
Lampiran 5. Hasil Identifikasi Isolat Bakteri Resisten Vanadium (V) Menggunakan Kit Microbact	71
Lampiran 6. Hasil Pengukuran Kadar Vanadium pada Limbah cair Tambang Minyak Wonocolo.....	73
Lampiran 7. Hasil Pengukuran Bioakumulasi Vanadium oleh Isolat Bakteri Resisten Vanadium Terpilih.....	74
Lampiran 8. Hasil Analisis Statistik Uji Bioakumulasi Vanadium Berdasarkan Berat Basah Bakteri	76
Lampiran 9. Hasil Analisis Statistik Uji Bioakumulasi Vanadium Berdasarkan Berat Kering Bakteri	77
Lampiran 10. Dokumentasi Penelitian.....	78
Lampiran 11. Prosedur Penelitian	80

ABSTRAK

Ihsanuddin, Muhammad. 2018. Potensi Bakteri Resisten Vanadium (V) dari Limbah Cair Tambang Minyak Wonocolo Sebagai Bioakumulator Vanadium (V). Skripsi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Biologi: Romaidi, M.Si, D.Sc; Pembimbing Agama: M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I.

Kata Kunci: Vanadium (V), Limbah cair minyak bumi, Bakteri resisten vanadium, Desa Wonocolo

Vanadium (V) merupakan salah satu pencemar yang bersifat racun bagi makhluk hidup maupun lingkungan sekitar. Berdasarkan hasil uji pendahuluan yang dilakukan, limbah cair tambang minyak Desa Wonocolo mengandung vanadium (V) hingga 16,58 ppm ini berarti lebih tinggi dari standar vanadium dari EQS (*environmental quality standard*) yaitu 0,02-0,06 ppm. Bakteri yang hidup dalam lokasi tercemar vanadium (V) memiliki kemampuan resisten terhadap vanadium (V) dari limbah cair tambang minyak Desa Wonocolo serta dapat berpotensi sebagai agen bioakumulator pencemaran vanadium (V).

Jenis penelitian ini adalah deskriptif kualitatif dan eksperimental. Sampel yang digunakan berasal dari limbah cair tambang minyak bumi Desa Wonocolo yang akan dibuang ke lingkungan. Isolasi bakteri resisten logam vanadium (V) menggunakan media HMC (*Halomonas complex*) dengan penambahan logam vanadium 0 mM, 5 mM dan 10 mM. Variasi konsentrasi uji resistensi menggunakan kertas cakram yaitu 5 mM, 10 mM, 15 mM dan 20 mM. Identifikasi bakteri dilakukan secara makroskopik, mikroskopik dan uji biokimia menggunakan kit *Microbact*, sementara uji bioakumulasi menggunakan konsentrasi 0 μ M, 200 μ M dan 500 μ M. Analisis bioakumulasi vanadium (V) menggunakan Spektrofotometri Serapan Atom (SSA). Data identifikasi isolat bakteri disajikan secara deskriptif, serta ada tidaknya pengaruh konsentrasi vanadium (V) dilakukan uji statistika *One Way Anova* dan dilanjutkan uji Duncan.

Penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat 15 isolat bakteri resisten terhadap vanadium (V) dengan konsentrasi hingga 10 mM. satu isolat S2-4 mempunyai mempunyai rata-rata zona bening terkecil (uji resistensi difusi kertas cakram) dibandingkan dengan isolat yang lain (0,3 mm). Berdasarkan uji idenfikasi secara biokimia isolat S2-4 memiliki kemiripan dengan spesies *Bacillus mycoides* sebesar 78%. Bakteri S2-4 memiliki kemampuan mengakumulasi vanadium (V) sebesar 56,06% dalam perlakuan 200 μ M dan 54,7% dalam perlakuan 500 μ M.

ABSTRACT

Ihsanuddin, Muhammad. 2018. The Potential of Vanadium (V) Resistant Bacteria (V) from Wonocolo Oil Wastewater As Vanadium (V) Bioaccumulator. Thesis Department of Biology Faculty of Science and Technology State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang. Biology Advisor: Romaidi, M.Si, D.Sc; Religious Advisor: M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I.

Keywords: Vanadium (V), Oil Wastewater, Vanadium (V) resistant bacteria, Wonocolo Village

Vanadium (V) is one of the pollutants that are toxic to living things and the environment. Based on preliminary test results, Wonocolo wastewater was containing vanadium (V) up to 16.58 ppm is higher than the vanadium standard of EQS (environmental quality standard) of 0.02-0.06 ppm. Bacteria living in vanadium-contaminated (V) locations can have vanadium (V) resistance capability from the Wonocolo oil wastewater and potentially as a bioaccumulator agent of vanadium (V) pollution.

This type of research is descriptive qualitative and experimental. The sample used came from the liquid waste of petroleum from Wonocolo Village which will be disposed of into the environment. Isolation of vanadium (V) metal resistant bacteria using HMC (*Halomonas complex*) media with the addition of 0 mM, 5 mM and 10 mM vanadium metals. Variations in concentration of resistance tests using paper discs are 5 mM, 10 mM, 15 mM and 20 mM. Bacterial identification was carried out macroscopically, microscopically and biochemically using a Microbact kit, while bioaccumulation tests used concentrations of 0 μM , 200 μM and 500 μM . Bioaccumulation of vanadium (V) analysis using Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS). Identification data of bacterial isolates were presented descriptively, and the presence or absence of the effect of vanadium concentration (V) was carried out by One Way Anova statistical test and continued by Duncan test.

This study showed that there were 15 bacterial isolates resistant to vanadium (V) with concentrations of up to 10 mM. one isolate was S2-4 had the smallest clear zone average (disc paper diffusion resistance test) compared to other isolates (0.3 mm). Based on the biochemistry identification test S2-4 isolates have similarities with the *Bacillus mycoides* species of 78%. S2-4 bacteria have the ability to accumulate vanadium (V) by 56.06% in the treatment of 200 μM and 54.7% in the treatment of 500 μM .

مستخلص البحث

إحسان الدين، محمد. 2018. إمكانية البكتري مقاوم الفاناديوم (V) من النفايات الساثلة النفط وولوج كمرابط حيوي الفاناديوم (V). البحث الجامعي. قسم الحياة كليت العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية ملانج. المشريف رمائ دي الماجستير، المشريف الدينى : مخلص فحرالدين الماجستير

الكلمات الأساسية : الفاناديوم (V)، النفايات البترولية السائلة، الفاناديوم (V) المقاومة للبكتيريا، قرية وونوكولو.

الفاناديوم (V) هو واحد من الملوثات السامة للأشياء الحية والبيئة. استناداً إلى نتائج الاختبار الأولى، كانت مياه الصرف الصحي قرية وونوكولو تحتوي على الفاناديوم (V) حتى 16.58 جزء في المليون أعلى من معيار الفاناديوم EQS (معيار جودة البيئة) من 0.02 - 0.06 جزء من المليون. يمكن للبكتيريا التي تعيش في المواقع الملوثة بالفاناديوم (V) أن تتمتع بقدرة مقاومة الفاناديوم (V) من مياه نفايات نفط ويلكولو ومن المحتمل أن تكون بمثابة عامل تراكم أحيائي من تلوث الفاناديوم (V).
نوع هذا البحث هو نوعي وصفني تجريبي. تأتي العينة المستخدمة من المياه المستعملة لمنجم نفط قرية وونوكولو الذي سيتم تصريفه في البيئة. عزل الفلزات المعدنية المقاومة للفاناديوم (V) باستخدام وسائط HMC (مجمع هالوموناس) مع إضافة معدن الفاناديوم سعة 0 ملليمترا و 5 ملليمترا و 10 ملليمترا. الاختلافات في تركيز اختبارات المقاومة باستخدام أقراص الورق هي 5 ملليمترا، 10 ملليمترا، 15 ملليمترا و 20 ملليمترا. تم إجراء تحديد البكتيريا بشكل ظاهري، ميكروسكوبي وكيميائي باستخدام مجموعة ميكروباكت، في حين أن اختبار التراكم البيولوجي باستخدام التركيز 0 ميكرومتر، 200 ميكرومتر و 500 ميكرومتر. تحليل التراكم الأحيائي للفاناديوم (V) باستخدام القياس الطيفي الامتصاص الذري (AAS) تم عرض بيانات تعريف العزلات البكتيرية بشكل وصفي، وما إذا كان تأثير تركيز الفاناديوم (V) قد تم بواسطة اختبار الإحصائيات اتجاه واحد أنوفا واستمر اختبار دنكان.

تظهر هذه الدراسة أن هناك 15 عزلات بكتيرية مقاومة للفاناديوم (V) بتركيز يصل إلى 10 ملي مولار. كانت وحد عزلة S2-4 أصغر متوسط منطقة واضح (اختبار مقاومة انتشار ورقة القرص) مقارنة بعزلات أخرى (0.3 مم). بناء على اختبار إدراك البيوكيميائية فإن لعزلات S2-4 أوجه تشابه مع أنواع *Bacillus mycoides* بنسبة 78%. البكتيريا S2-4 لديها القدرة على تراكم الفاناديوم (V) بنسبة 56.06% في علاج 200 ميكرومتر و 54.7% في علاج 500 ميكرومتر.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Minyak bumi merupakan salah satu sektor pertambangan utama di Indonesia. Keberadaan minyak bumi ini sangat penting sekali karena banyak digunakan sebagai bahan pembangkit listrik, bahan bakar kendaraan, bahan baku industri dan lain sebagainya. Minyak bumi ini mendominasi sektor energi di Indonesia dengan pangsa 31,5% pada tahun 2014 (Sugiyono *et al.*, 2016). Dalam pemenuhan akan minyak bumi ini, Indonesia sudah mengeksploitasi bahan bakar minyak bumi ini lebih dari 100 tahun yang lalu sejalan dengan usia sumur-sumur minyak bumi yang sudah tua. Setidaknya terdapat 13.824 sumur tua yang berada di beberapa wilayah Indonesia dimana sumur-sumur tersebut sudah beroperasi sebelum tahun 1970 (Yudhanto, 2011).

Eksploitasi sumber-sumber minyak di beberapa daerah di Indonesia dilakukan oleh PT. Pertamina, Petro China, Mobil Cepu.Ltd dan beberapa perusahaan lain, dimana pada tahun 2015 produksi minyak Indonesia mencapai 825 barel per hari (BP Global, 2016). Selain perusahaan-perusahaan tersebut, terdapat juga beberapa kelompok masyarakat yang mengeksploitasi minyak bumi yang dilakukan secara berkelompok. Mereka menggunakan alat-alat sederhana seperti seperti kayu, timba, katrol, diesel dan sebagainya untuk menambang minyak bumi (Naumi & Trilaksana, 2015). Salah satu kelompok masyarakat yang

menambang minyak bumi secara tradisional yaitu di Desa Wonocolo, Kecamatan Kedewan, Kabupaten Bojonegoro.

Di Desa Wonocolo terdapat terdapat ratusan sumur tua peninggalan zaman Belanda yang dikelola oleh masyarakat secara tradisional. Dari ratusan sumur tua tersebut yang masih aktif melakukan eksplorasi yaitu 44 sumur dengan produksi mencapai 25.771 liter perhari (Handrianto *et al.*, 2012). Penambangan di Desa Wonocolo ini menuai banyak masalah karena proses produksi yang tidak sesuai standar dan tidak mempunyai izin penambangan. Hasil penambangan yaitu *lantung* (minyak yang masih bercampur antara air, minyak dan lumpur) hanya disaring dan diambil minyaknya saja, sementara air dan sisa lumpurnya langsung dibuang ke sungai (Naumi & Trilaksana, 2015). Hal ini dapat merusak lingkungan karena air yang dipisah masih menyisakan minyak dan mengandung beberapa logam berat yang membahayakan kesehatan jika tidak diproses lebih lanjut.

Peraturan Pemerintah No. 18 Tahun 1999 menyatakan bahwa limbah minyak bumi merupakan bahan yang berbahaya yang termasuk dalam kategori limbah B3 (bahan berbahaya dan beracun). Selain limbah sisa *lantung*, limbah minyak bumi dapat berasal dari tumpahan atau buangan minyak saat kegiatan industri perminyakan, mulai dari eksplorasi, produksi, pengolahan sampai pengangkutan. Limbah *lantung* juga sangat mencemari lingkungan. Kamika & Momba (2014) menambahkan bahwa limbah jenis ini ditandai dengan pH yang ekstrim, salinitas dan kadar SO_4^{2-} yang tinggi dan mengandung beberapa logam berat seperti Cu, Cd, Co, Fe, Zn, Ni dan V. Limbah ini dapat membahayakan lingkungan hidup serta kelangsungan hidup suatu makhluk.

Logam berat yang mencemari suatu perairan akan terakumulasi pada sedimen dan organisme perairan tersebut. Melalui rantai makanan ataupun kontak langsung dengan perairan yang tercemar logam, manusia akan terkena dampak dari toksisitas logam berat tersebut (Mustafa *et al.*, 2015). Kasus pencemaran logam berat salah satunya terdapat di sungai Niger Delta, Nigeria. Logam berat tersebut menjadi penyebab penyakit ginjal, penyakit neurologis (saraf), penyakit pernafasan (Owamah, 2013) dan kanker (Yi *et al.*, 2011). Jika tidak diatasi lebih lanjut pencemaran dari tambang rakyat Desa Wonocolo juga akan berdampak hal yang sama. Oleh karena itu, penanganan limbah minyak bumi di Desa Wonocolo perlu untuk ditangani lebih lanjut agar masalah lingkungan yang terjadi tidak bertambah buruk.

Limbah cair pertambangan minyak bumi Desa Wonocolo mempunyai kandungan logam vanadium yaitu 16,58 ppm. Kandungan ini puluhan kali lebih besar dari rata-rata seharusnya terdapat vanadium dalam suatu perairan yaitu 0,0018 ppm. Kandungan vanadium tersebut juga lebih besar dari standar yang ditetapkan oleh *Environmental Quality Standard* (EQS) yaitu 0.02-0.05 ppm. Dengan ini, maka perbaikan atau pengelolaan limbah tersebut perlu dilakukan untuk mencegah dampak toksisitas dari logam vanadium. Salah satunya dapat melalui bioakumulasi.

Sebenarnya kerusakan-kerusakan dalam lingkungan yang telah terjadi di muka bumi ini disebabkan karena perbuatan manusia sendiri. Mereka lebih mementingkan urusan pribadi dari pada kemaslahatan umat atau kepedulian terhadap lingkungan. Dalam QS. Ar-Rum: 41 Allah SWT berfirman:

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ الَّذِي

عَمِلُوا لَعَلَّهُمْ يَرْجِعُونَ ﴿٤١﴾

Artinya: telah nampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebahagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar) (QS. Ar-Rum: 41).

Quraish Shihab (2002) dalam tafsir Al Misbah mengartikan ayat ini bahwa kerusakan-kerusakan yang terjadi baik di darat maupun di laut disebabkan karena perbuatan manusia. Allah SWT menghendaki kerusakan-kerusakan tersebut agar mereka bertobat dari perbuatan tersebut. Pembuangan limbah sembarangan secara tidak langsung akan berdampak pada moral masyarakat karena acuh dan tidak memperdulikan kemaslahatan umat lainnya. Allah SWT dapat memberi bencana kerusakan atau penyakit dari limbah minyak yang dibuang sembarangan kepada masyarakat agar mereka taubat dan ingat kembali kepada Allah SWT.

Penelitian dari limbah minyak bumi Desa Wonocolo masih terbatas pada bioremediasi hidrokarbonnya saja, bioremediasi dan bioakumulasi untuk logam beratnya belum pernah dilakukan (Handrianto *et al.*, 2012). Walaupun kandungan logam berat dalam minyak bumi hanya 0-1% serta umumnya tidak menimbulkan permasalahan, tapi logam seperti Ni, Ar, Hg, Pb dan V walau jumlahnya sedikit, namun sudah dapat meracuni beberapa katalis dan menghambat beberapa proses selular tergantung pada toksisitas masing-masing (Ogbo & Okhuoya, 2011). Untuk mengatasi hal ini maka diperlukan upaya penanganan terkait logam berat dalam minyak bumi terutama logam Vanadium.

Vandium merupakan salah satu logam transisional dari golongan 5A dari tabel periodik. Vanadium ada pada keadaan oksidasi mulai dari +1 sampai +5 dimana tingkat oksidasi paling toksik ada pada tingkat +4 dan +5 (Cohen, 1998). Selama ini logam vanadium diyakini kurang memiliki efek toksikologi karena logam ini termasuk logam esensial (Nechay, 1984). Tapi efek toksikologi dari logam ini sudah banyak diteliti dan diyakini berbahaya jika terpapar pada manusia. Penelitian Assem & Levy (2009) memberi penjelasan bahwa vanadium berpotensi menyebabkan aneuploidi, mikronukleus dan penyimpangan kromosom.

Salah satu upaya untuk mengatasi masalah pencemaran logam vanadium yaitu melalui bioremediasi. Bioremediasi adalah penggunaan agen-agen biologik seperti bakteri untuk menetralkan kembali lingkungan yang tercemar menjadi zat-zat yang tidak berbahaya lagi (Waluyo, 2010). Bioremediasi ini merupakan teknik yang utama dalam perbaikan lingkungan dimana hampir tidak ada efek samping dalam penggunaannya. Selain itu teknik ini merupakan teknik yang hemat biaya dan efektif dibandingkan dengan metode lainnya (Peter, 2010). Agen bioakumulasi yang utama dalam perbaikan lingkungan adalah bakteri.

Bakteri merupakan salah satu makhluk yang tidak mempunyai membran inti sel, berukuran kecil, dan mempunyai peran yang penting dalam kehidupan di bumi (Pelczar & Chan, 2013). Bakteri dapat hidup di semua tempat termasuk dalam minyak bumi, walaupun dalam minyak bumi tersebut terdapat unsur-unsur yang toksik bagi pertumbuhan bakteri (Wolicka & Borkowski, 2012). Beberapa bakteri dapat hidup di tempat tersebut karena bakteri memiliki kemampuan untuk bertahan (resisten) atau menghilangkan logam dari larutan (reduksi) yang dicapai

melalui mekanisme enzimatik maupun non-enzimatik (Rajendran, Muthukrishnan, & Gunasekaran, 2003). Salah satu mekanisme terhadap logam yaitu dengan cara mengakumulasi logam vanadium sehingga kadar vanadium di lingkungan menjadi berkurang.

Penelitian sebelumnya mengenai bakteri resisten logam vanadium telah berhasil mengisolasi beberapa bakteri diantaranya yaitu genus *Marinobacter* dan *Anabaena* yang diisolasi dari limbah minyak pertambangan Emalaheni (Kamika & Momba, 2014), genus *Vibrio* dan *Shewanella* yang diisolasi dari usus *Ascidia sydneiensis samea* (Romaidi & Ueki, 2016). Beberapa penelitian juga sudah dikembangkan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mereduksi vanadium *Pseudomonas isachenkovii* (Antipov *et al.*, 2000) dan *Enterobacter cloacae* (Van Marwijk *et al.*, 2009) keduanya mampu mereduksi logam vanadium +5 menjadi oksidasi yang lebih kecil vanadium +4.

Agar pengolahan limbah berlangsung secara efektif maka langkah awal yang perlu dilakukan yaitu mencari agen bioakumulasi yang mempunyai tingkat resistensi terhadap logam yang tinggi terutama logam vanadium untuk itulah penelitian ini dilakukan. Hasil penelitian ini dapat dijadikan rujukan dalam bioremediasi limbah minyak bumi di Desa Wonocolo, juga dapat digunakan sebagai monitor organik pencemaran logam berat di wilayah pertambangan minyak bumi khususnya pertambangan minyak bumi Desa Wonocolo.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Jenis bakteri apa yang resisten dan mampu mengakumulasi vanadium (V) dari limbah cair tambang minyak bumi Desa Wonocolo?
2. Bagaimana kemampuan akumulasi vanadium (V) oleh bakteri resisten vanadium (V) yang diisolasi dari limbah cair tambang minyak Desa Wonocolo?

1.3 Tujuan

Tujuan dari Penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui jenis bakteri yang resisten dan mampu mengakumulasi vanadium (V) dari limbah cair tambang minyak bumi Desa Wonocolo.
2. Untuk mengetahui kemampuan akumulasi vanadium (V) oleh bakteri resisten vanadium (V) yang diisolasi dari limbah cair tambang minyak Desa Wonocolo.

1.4 Hipotesis

1. Terdapat bakteri-resisten vanadium yang diisolasi dari limbah cair tambang minyak Desa Wonocolo, Kecamatan Kedewan, Kabupaten Bojonegoro.
2. Terdapat bakteri resisten vanadium (V) dari limbah cair tambang minyak Desa Wonocolo yang mampu mengakumulasi vanadium (V).

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Sampel yang diambil adalah sampel air limbah cair minyak bumi dari sumur yang dikelola oleh Bapak Ras Mintarjo Desa Wonocolo, Kecamatan Kedewan, Kabupaten Bonjonegoro.
2. Sampel limbah minyak yang diambil adalah limbah cair minyak bumi yaitu hasil buangan setelah pemisahan antara minyak dan airnya.
3. Sampel diambil dari limbah cair yang akan dibuang ke lingkungan.
4. Sampel diambil pada permukaan limbah tersebut.
5. Parameter lingkungan yang diukur adalah suhu dan pH.
6. Identifikasi bakteri dilakukan secara biokimia menggunakan kit *microbact*.
7. Uji pertumbuhan (skrining) bakteri dilakukan dengan penambahan logam vanadium 5 mM dan 10 mM.
8. Parameter yang diamati yaitu sifat-sifat bakteri secara makroskopis dan mikroskopis.
9. Uji resistensi dilakukan dengan menggunakan difusi kertas cakam.
10. Konsentrasi yang digunakan pada uji resistensi difusi kertas cakram yaitu 0 mM, 10 mM, 15 mM dan 20 mM.
11. Konsentrasi vanadium yang digunakan dalam uji bioakumulasi yaitu sebesar 0 μM , 200 μM dan 500 μM .

1.6 Manfaat

Manfaat dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk memberikan informasi mengenai jenis bakteri yang resisten terhadap logam vanadium dari tambang tradisional Desa Wonocolo, Kecamatan Kedewan, Kabupaten Bojonegoro yang dapat dijadikan sebagai data penunjang bagi penelitian-penelitian selanjutnya.
2. Hasil penelitian ini dapat menjadi bahan pertimbangan dalam mengolah limbah cair minyak bumi terutama di Desa Wonocolo, Kecamatan Kedewan, Kabupaten Bojonegoro sebagai agen bioremediasi.
3. Bakteri resisten logam vanadium ini dapat dijadikan sebagai monitor organik pencemaran logam vanadium di suatu perairan atau lingkungan.
4. Bakteri resisten vanadium yang ditemukan, diharapkan dapat membantu proses pengolahan limbah cair minyak bumi Wonocolo sebagai proses bioremediasi agar limbah tersebut tidak membahayakan bagi masyarakat.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Pencemaran Lingkungan dalam Islam

Pencemaran lingkungan merupakan satu dari beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kualitas lingkungan. Pencemaran lingkungan (*environmental pollution*) adalah masuknya bahan-bahan ke dalam lingkungan yang dapat mengganggu kehidupan makhluk hidup di dalamnya. Pencemaran lingkungan ini merupakan penyebab menurunnya kualitas lingkungan hidup yang dapat mengakibatkan beberapa penyakit pada makhluk hidup (Palar, 1994).

Masalah pencemaran lingkungan merupakan masalah yang serius tidak hanya dalam bahasan ekologi tapi juga terkait dengan sosial-budaya. Budaya dan tradisi masyarakat bisa jadi mendukung bagi upaya pelestarian lingkungan hidup, namun budaya dan tradisi masyarakat juga bisa berakibat buruk bagi lingkungan. Misalnya, masih adanya pandangan masyarakat bahwa sungai adalah tempat pembuangan (Wulansari, 2011). Dalam mengatasi permasalahan ini, agama dapat menjadi batas atau norma-norma budaya yang dapat membatasi seseorang dalam bertindak karena Sesungguhnya Nabi SAW melarang kita untuk melakukan perbuatan yang mendatangkan *mudharat* bagi diri sendiri maupun orang lain.

عَنْ أَبِي سَعِيدٍ سَعْدُ بْنُ سِنَانَِ الْخُدْرِيِّ رَضِيَ اللهُ عَنْهُ أَنَّ رَسُولَ اللهِ صَلَّى اللهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ :

لَا ضَرَرَ وَلَا ضِرَارَ

Artinya: Dari Abu Sa'id, Sa'ad bin Sinan Al Khudri Radiallahuanhu, sesungguhnya Rasulullah Shallallahu'alaihi wasallam bersabda : "Tidak boleh melakukan perbuatan (*mudharat*) yang mencelakakan diri sendiri dan orang lain (HR. Malik No. 1234).

Menurut Sukarni (2011) dalam Fikih Lingkungan Hidup mengatakan bahwa, merusak tatanan kehidupan termasuk mencemari lingkungan daratan dan perairan dihukumi haram. Hal ini karena dampak-dampak yang ditimbulkan oleh pencemaran tersebut dapat mencelakakan diri sendiri maupun orang lain.

Sebenarnya dalam ajaran agama islam, melarang untuk membuat kerusakan di bumi. Hal ini dikarenakan bumi merupakan suatu anugerah yang diciptakan oleh Allah SWT agar dapat dimanfaatkan sebaik-baiknya tanpa harus membuat kerusakan atau kekacauan di dalamnya. Suriyani dan Khotijah (2013) menambahkan bahwa lingkungan hidup ini harus dijaga dan dilestarikan sebagai wujud kepedulian untuk mengutarakan rasa cinta dan sayang terhadap ciptaan Allah SWT. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam surah Al A'rof ayat 56

وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ بَعْدَ إِصْلَاحِهَا وَادْعُوهُ خَوْفًا وَطَمَعًا إِنَّ رَحْمَتَ اللَّهِ قَرِيبٌ مِّنَ الْمُحْسِنِينَ ﴿٥٦﴾

Artinya: *dan janganlah kamu membuat kerusakan di muka bumi, sesudah (Allah) memperbaikinya dan Berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut (tidak akan diterima) dan harapan (akan dikabulkan). Sesungguhnya rahmat Allah Amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik.*

Ibnu Katsir (2005) dalam tafsir Ibnu Katsir mengartikan bahwa Allah SWT melarang perbuatan yang menimbulkan kerusakan di bumi dan hal-hal yang membahayakan kelestariannya sesudah diperbaiki. karena sesungguhnya apabila segala sesuatunya berjalan sesuai dengan kelestariannya, kemudian terjadilah pengerusakan padanya, hal tersebut akan membayakan semua hamba Allah SWT. Sesungguhnya rahmat Allah SWT selalu mengincar orang-orang yang berbuat

kebaikan yaitu mereka yang mengikuti perintah-perintah-Nya dan menjauhi larangan-larangan-Nya.

Di dalam Al-Qur`ân surat Al-Baqarah ayat 29 bahwa Allah SWT menjadikan segala sesuatu yang ada di bumi untuk dapat dimanfaatkan sebaik-baiknya. Karena sesungguhnya Manusia adalah mahluk yang paling sempurna dan menjadi *Kholifah* (pemimpin) di muka bumi ini.

هُوَ الَّذِي خَلَقَ لَكُمْ مَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا ثُمَّ أَسْتَوَىٰ إِلَى السَّمَاءِ فَسَوَّاهُنَّ سَبْعَ سَمَوَاتٍ وَهُوَ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ

Artinya: *Dia-lah Allah, yang menjadikan segala yang ada di bumi untuk kamu dan Dia berkehendak (menciptakan) langit, lalu dijadikan-Nya tujuh langit. dan Dia Maha mengetahui segala sesuatu.*

Abdillah (2001) mengartikan ayat tersebut di atas, bahwa sumber daya alam dan lingkungan diciptakan oleh Allah SWT. Oleh karena itu, dapat dimaknai bahwa manusia diberi hak dan wewenang oleh Allah SWT untuk memanfaatkan sumber daya alam dan lingkungan dalam batas-batas kewajaran ekologis. Manusia tidak diberi wewenang untuk mengeksploitasinya secara sewenang-wenang. Sebab, manusia bukan pemilik hakiki lingkungan. Pemilik hakiki lingkungan adalah Allah SWT.

Sebagai seorang *Kholifah* (pemimpin) di bumi, manusia mempunyai tugas dan fungsi untuk memakmurkan bumi (*al imaroh*), memelihara bumi (*arri'auah*), dan melindungi bumi. Tugas ini hanya diberikan kepada manusia karena kelebihan berupa akal yang dimiliki, tidak seperti malaikat ataupun makhluk-mahluk tuhan yang lainnya (Ali, 2008). Dalam melaksanakan perannya sebagai pemimpin yang diberikan oleh Allah SWT, manusia harus selalu menggunakan

akalnya dan tidak boleh semena-mena. Untuk itulah manusia harus selalu belajar dan ta'at kepada perintah Allah SWT agar mendapatkan anugerah-Nya.

2.2 Minyak Bumi

Minyak bumi adalah cairan berwarna hitam yang merupakan campuran bermacam-macam jenis molekul hidrogen karbon sehingga bila dibakar akan menghasilkan gas karbon dioksida (CO_2) dan air (H_2O) (Hardjono, 2007). Minyak bumi terdapat di bawah permukaan bumi pada kedalaman 500-2500 meter. Untuk itu minyak bumi ini harus dipompa keluar kemudian dialirkan ke instalasi penyulingan minyak guna diproses untuk mendapatkan bermacam-macam jenis bahan bakar minyak misalnya bensin, solar, minyak tanah dan lain-lain. Selain bahan bakar, minyak bumi juga dipakai untuk bahan bakar dalam industri plastik dan kimia (Sumotarto, 2016).

Minyak bumi adalah suatu campuran yang sangat kompleks yang terutama terdiri dari senyawa-senyawa hidrokarbon, yaitu senyawa-senyawa organik dimana setiap molekulnya hanya mempunyai unsur karbon dan hidrogen saja. Disamping itu dalam minyak bumi juga terdapat unsur-unsur belerang, nitrogen, oksigen dan logam-logam (tabel 2.1) khususnya vanadium, nikel, besi dan tembaga, yang terdapat dalam jumlah yang relatif sedikit yang terikat sebagai senyawa-senyawa organik. Air dan garam hampir selalu terdapat dalam minyak bumi dalam keadaan terdispersi (Gruse & Stevens, 1942).

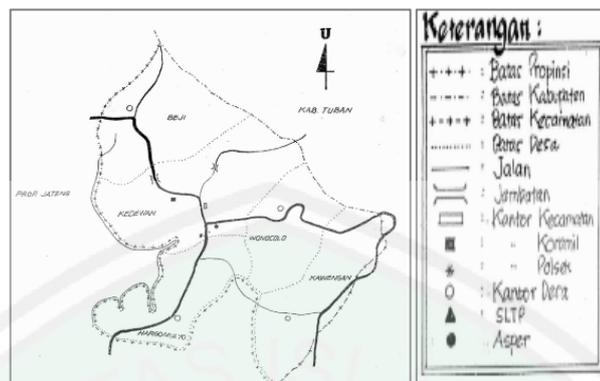
Tabel 2.1 Komposisi elemter minyak bumi (Gruse & Stevens, 1942).

Komposisi	Persen berat (%)
Karbon	83-87
Hidrogen	11-15
Belerang	0.04-6
Oksigen	0.1-2
Nitrogen	0.1-2
Logam	0-0.1

2.2.1 Pertambangan Minyak Bumi Desa Wonocolo

Indonesia sudah mengeksploitasi bahan bakar minyak ini lebih dari 100 tahun yang lalu sejalan dengan usia sumur-sumur minyak yang sudah tua. Berdasarkan data SKK Migas (2016) jumlah sumur minyak warisan penjajah kolonial Belanda sebanyak 13.824 sumur dan diantaranya 745 sumur masih aktif. Sumur-sumur tersebut merupakan sumur yang sudah beroperasi sebelum tahun 1970. Salah satu dari sekian banyak sumur-sumur tua peninggalan Belanda yaitu terdapat di Desa Wonocolo.

Desa Wonocolo merupakan suatu desa yang berada di Kecamatan Kedewan, Kabupaten Bojonegoro. Secara geografis desa ini terletak di perbatasan antara provinsi Jawa Timur dengan Jawa Tengah (gambar 2.1). Luas wilayah di desa ini mencapai ± 140.002 Ha yang berbatasan dengan Desa Kawengan di sebelah timur, sebelah selatan berbatasan dengan Desa Sekaran, sebelah barat berbatasan dengan Desa Kedewan dan sebelah utara berbatasan dengan Desa Kali gede.



Gambar 2.1 Peta Kec. Kedewan, Kab. Bojonegoro (Handrianto *et al.*, 2012).

Desa Wonocolo dihuni oleh 516 kepala keluarga atau 1943 jiwa. Banyak diantara penduduk bekerja dibidang penambangan. Baik yang resmi bekerja pada PT. Pertamina maupun menambang sendiri sumur-sumur tua peninggalan Belanda secara bergotong-royong. Pada Tahun 2012 terdapat 44 sumur tua yang masih beroperasi dan memproduksi minyak sekitar 25.771 liter perhari (Handrianto *et al.*, 2012).

Sumur-sumur tua dikelola oleh warga secara berkelompok dengan menggunakan peralatan tambang sederhana. Mereka menambang dengan menggunakan alat-alat sederhana seperti seperti kayu, timba, katrol, diesel dan sebagainya. Bentuk dari penambangan tradisional sangatlah khas dengan adanya kayu membentuk segi tiga yang tengahnya terdapat tali untuk menarik timba (gambar 2.2). Timba ditarik dengan menggunakan diesel atau mobil yang telah dimodifikasi untuk mempermudah pengambilan minyaknya (Yudhanto, 2011).

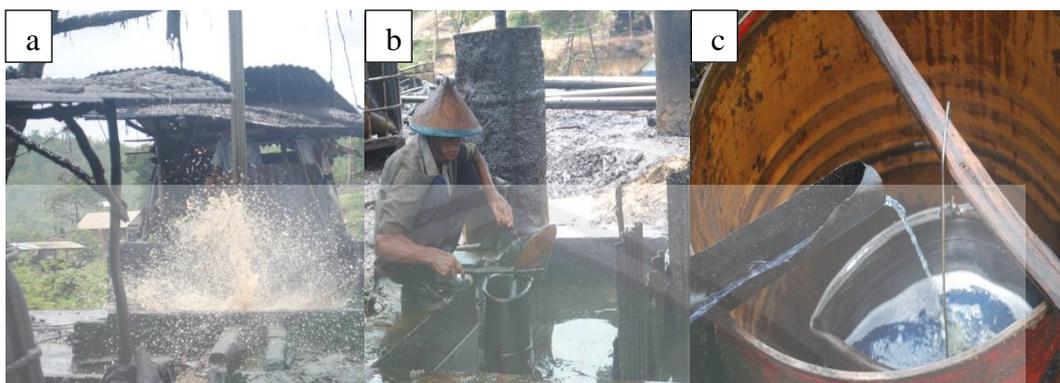
Minyak mentah yang dihasilkan oleh para penambang atau disebut dengan *lantung* (minyak yang masih bercampur antara minyak, air dan lumpurnya) kemudian diendapkan dan dipisahkan secara manual dengan menggunakan *serok* untuk memisahkan antara minyak dan airnya. Minyak kemudian dimasukkan ke

tempat pemasakan atau penyulingan dan dimasak selama 6 jam sementara airnya langsung dibuang (gambar 2.3). Uap dari pemasakan atau penyulingan minyak itulah yang kemudian menjadi minyak setengah matang kemudian minyak ini disetorkan ke Pertamina (Naumi & Trilaksana, 2015). Minyak jenis ini belum merupakan minyak yang matang, diperlukan beberapa penyulingan lagi untuk mendapatkan suatu minyak matang yaitu minyak tanah, solar bahkan bensin (Yudhanto, 2011).



Gambar 2.2 Bentuk Tambang Tradisional (Dokumentasi Pribadi, 2017).

Masyarakat Wonocolo selain menjual minyaknya ke Pertamina, mereka juga menjual hasil penyulingannya ke berbagai daerah seperti Ngawi, Sragen, Bojonegoro, Tuban, Lamongan, Rembang dan sekitarnya. Minyak yang dibeli dari Wonocolo tersebut dipakai untuk konsumsi perahu nelayan, truk-truk besar dan mesin alat pertanian. Minyak dari desa Wonocolo ini merupakan minyak berat yang kualitasnya kurang baik. Resiko dari pemakaian minyak ini yaitu dapat merusak mesin. Beberapa orang lebih memilih minyak ini karena harganya yang lebih murah dari pada produk minyak dari Pertamina (Naumi & Trilaksana, 2015).



Gambar 2.3 Skema pertambangan minyak bumi Wonocolo (Dokumentasi Pribadi, 2017). a) Proses pengeboran minyak b) Proses pemisahan minyak dan air secara manual c) proses penyulingan minyak bumi.

2.3 Limbah Pertambangan Minyak Bumi

Suatu aktivitas industri akan selalu menghasilkan limbah atau bahan sisa disamping produk yang diproduksi. Begitu juga industri minyak bumi. Bahan sisa ini dapat berupa padat, cair maupun gas. Limbah dari industri minyak bumi merupakan hasil samping dari suatu pertambangan minyak bumi. Aktivitas industri minyak bumi yang berupa pengeboran, pengilangan, proses produksi dan transportasi umumnya menghasilkan limbah baik di tanah maupun perairan yang dapat mencemari lingkungan (Helmy & Kardena, 2015).

Limbah ini dapat berasal dari tumpahan atau buangan minyak saat kegiatan industri, mulai dari eksplorasi, produksi, pengolahan sampai pengangkutan (Helmy & Kardena, 2015). Peraturan Pemerintah No. 18 Tahun 1999 menyatakan bahwa limbah minyak bumi ini termasuk dalam kategori limbah B3 (bahan berbahaya dan beracun). Limbah minyak bersifat mudah terbakar, beracun, dan bersifat korosif. Limbah minyak bumi dapat merusak lingkungan, mengganggu kesehatan serta mengancam kelangsungan hidup makhluk hidup.

2.3.1 Karakteristik Limbah Cair Minyak Bumi

Limbah cair minyak bumi merupakan bahan sisa atau hasil samping produksi minyak bumi yang berbentuk cairan. Sumber pencemar dari limbah cair minyak bumi ini dapat berasal dari kebocoran air pendingin, air sisa pembangkit uap, air sisa pemisahan lumpur dan air dari minyak mentah, air bekas cucian peralatan tambang, tumpahan minyak, dan air hujan.

Limbah cair minyak bumi secara umum ditandai dengan adanya konsentrasi hidrokarbon yang masih tinggi (Handrianto *et al.*, 2012). Selain itu, limbah ini mempunyai pH yang ekstrim (asam atau basa), salinitas dan sulfur yang tinggi serta mempunyai kandungan beberapa logam berat seperti Cu, Cd, Co, Fe, Zn, Ni dan V. Konsentrasi dari kandungan limbah cair minyak bumi berbeda-beda tergantung pada sumber dan jenis limbah yang terjadi (Afanasjeva *et al.*, 2015).

2.3.2 Logam Vanadium dalam Limbah Minyak Bumi

Praktis semua logam dapat terdapat dalam minyak bumi, tetapi karena jumlahnya yang sangat kecil, yaitu antara 5 sampai 400 bagian perjuta, maka adanya logam dalam minyak bumi pada umumnya tidak menimbulkan permasalahan (Khuhawar, Mirza, & Jahangir, 2012). Kecuali beberapa macam logam seperti Fe, Ni, Ar dan V yang walaupun jumlahnya hanya sedikit sekali, namun sudah dapat meracuni beberapa katalis. Logam vanadium dalam minyak bakar juga dapat menyebabkan korosi turbin gas dan pipa-pipa pembangkit uap (Swisher & Shankarnarayan, 1994).

Vandium merupakan salah satu logam transisional dari golongan 5A dari tabel periodik. Vanadium ada pada keadaan oksidasi mulai dari +1 sampai +5 (Cohen, 1998). Lambang untuk logam ini adalah V dan logam ini termasuk ke dalam logam yang paling melimpah di bumi pada urutan ke-19 (0,015-0,016%, 150-160 ppm). Logam vanadium tidak ditemukan di alam, namun senyawanya bisa diperoleh sebagai mineral seperti vanadinite ($Pb_5(VO_4)_3Cl$) (Ueki, 2015).

Tingkat oksidasi yang paling stabil logam vanadium adalah garam quadrivalent (VO^{2+} , vanadyl). Trivalent vanadium (V_2O_3) adalah zat pereduksi kuat yang larut dalam asam untuk membentuk ion heksana hijau. Bentuk yang paling toksik adalah ada pada oksidasi +5 dan +4 ($NaVO_3$ dan $VOSO_4$) (Barceloux, 1999). Tabel 2.2 adalah komponen sifat fisika dan kimia logam vanadium.

Tabel 2.2 Sifat fisika dan kimia logam vanadium (Barceloux, 1999).

	Molecular Weight	Color	Density g/cm^3	Melting Point, $^{\circ}C$	Water Solubility, $20^{\circ}C$
Vanadium	50.942	Light grey or white luster	6.11 (18.7 $^{\circ}C$)	1880–1900	Insoluble
Vanadium pentoxide	181.9	Yellow to rust brown crystals	3.357 (18 $^{\circ}C$)	690	1 g/125 mL
Vanadyl sulfate	163	Blue powder	No data	No data	Soluble
Sodium meta-vanadate	121.93	Colorless crystals	No data	No data	211 g/L (25 $^{\circ}C$) 388 g/L (75 $^{\circ}C$)
Sodium ortho-vanadate	183.91	Colorless	No data	850–856	Soluble
Ammonium meta-vanadate	116.98	White-yellow crystals	2.326 (20 $^{\circ}C$)	200 (decomposes)	Slightly soluble

2.3.3 Toksisitas Logam Vanadium

Selama ini logam vanadium diyakini kurang memiliki efek toksikologi karena logam ini termasuk logam esensial. Tapi efek toksikologi dari logam ini sudah banyak diteliti dan diyakini berbahaya jika terpapar pada manusia (Nechay,

1984). Toksisitas logam vanadium tergantung pada keadaan fisika-kimia, terutama pada keadaan valensi dan kelarutan. Toksisitas logam vanadium meningkat seiring dengan meningkatnya valensi dari vanadium baik sebagai anion maupun kation (Marwijk, 2005).

Semua senyawa dari logam vanadium bersifat beracun terutama pada tingkat oksidasi +4 dan +5. Ross *et al.* (2003) melaporkan bahwa menghirup debu vanadium dapat menyebabkan gangguan pada sistem pernafasan. Para pekerja yang terpapar dengan logam vanadium dapat mengakibatkan bronkopneumonia dan bronkitis serta iritasi mata dan kulit. Debu yang mengandung vanadium pentoksida (V_2O_5) dapat menyebabkan perubahan pada lidah penderita menjadi berwarna hitam kehijauan (Sembel, 2015).

Penelitian dari Assem & Levy (2009) memberi penjelasan bahwa vanadium berpotensi menyebabkan aneuploidi, mikronukleus dan penyimpangan kromosom. Kadiiska *et al* (1997) menambahkan bahwa toksisitas vanadium terkait dengan produksi spesies reaktif oksigen (ROS) yang menyebabkan beberapa kerusakan pada asam nukleat, protein dan lipid. Paparan partikel polusi udara logam ini juga menyebabkan kerusakan seperti itu.

2.4 Bakteri Resisten Vanadium

Bakteri merupakan salah satu makhluk yang tidak mempunyai membran inti sel, berukuran kecil dan mempunyai peran yang penting dalam kehidupan di bumi (Pelczar & Chan, 2013). Bakteri dapat hidup di semua tempat termasuk dalam minyak bumi, walaupun dalam minyak bumi tersebut terdapat unsur-unsur

yang toksik bagi pertumbuhan bakteri (Wolicka & Borkowski, 2012). Beberapa bakteri dapat hidup di tempat tersebut karena bakteri memiliki kemampuan untuk bertahan (resisten) atau menghilangkan logam dari larutan (reduksi) yang dicapai melalui mekanisme enzimatik maupun non-enzimatik (Rajendran *et al.*, 2003).

Penelitian sebelumnya dari isolasi bakteri resisten logam vanadium telah menghasilkan beberapa bakteri diantaranya yaitu genus *Marinobacter* yang diisolasi dari limbah minyak pertambangan Emalaheni bakteri yang ditemukan yaitu *Marinobacter goseongensis* (Kamika & Momba, 2014), genus *Vibrio* dan *Shewanella* yang diisolasi dari usus *Ascidia sydneyensis samea* bakteri yang ditemukan yaitu *V. Splendidus*, *V. Tasmaniensis*, *S. kaireitica* dan *S. pasifica* (Romaidi & Ueki, 2016). Spesies *Pseudomonas aeruginosa* yang diisolasi dari tanah terkontaminasi minyak bumi (Prakash & Irfan, 2011).

Beberapa penelitian juga sudah dikembangkan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mereduksi vanadium. *Pseudomonas isachenkovii* (Antipov *et al.*, 2000) dan *Enterobacter cloacae* (Van Marwijk *et al.*, 2009) keduanya mampu tumbuh pada media dengan penambahan logam vanadium sampai 20 mM. Selain itu, juga dapat mereduksi logam vanadium (+5) menjadi oksidasi yang lebih kecil vanadium (+4).

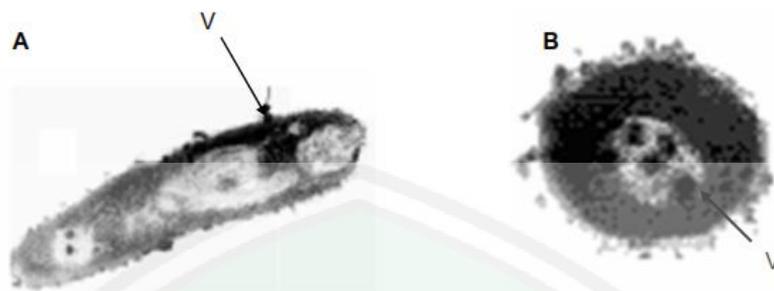
2.4.1 Mekanisme Resistensi Bakteri terhadap Logam Vanadium

Mikroorganisme memberikan sistem pertahanan atau respon yang berbeda-beda terhadap tekanan logam berat. Respon tersebut dikeluarkan melalui mekanisme intrinsik untuk mengatur konsentrasi ion logam. Respon ini dapat

terjadi seperti pengecualian (*exclus ion*) dengan pembatas permeabilitas penyerapan intraselular atau ekstraselular, detoksifikasi, transpor aktif untuk logam keluar dari sel (Marwijk, 2005), kompartementalisasi (*compartmentalization*), pembentukan senyawa kompleks (*formation of complex*) dan sintesis protein pengikat (Rajendran *et al.*, 2003).

Studi dari *Neurospora crassa* dan *eritrosit* menunjukkan bahwa akumulasi logam vanadium terjadi di sel khusus yang disebut vanadocytes. Logam ini dapat masuk ke dalam sel melalui sistem transportasi fosfat. Setelah masuk ke dalam sel, vanadate cenderung direduksi menjadi vanadyl oleh glutathione, katekol dan komponen selular lainnya (Marwijk, 2005). Selain itu, vanadium juga dapat digunakan sebagai akseptor elektron seperti pada spesies *Geobacter metallireducens* yang dikultur pada media dengan penambahan vanadium (V) sebagai akseptor elektron tunggal pada kondisi anaerob menunjukkan bahwa vanadium (V) dapat tereduksi menjadi vanadium (IV) (Ortiz-bernad *et al.*, 2004).

Pada spesies *Pseudomonas isachenkovii* yang dikultur dalam medium yang mengandung vanadate menghasilkan sejumlah besar pembengkakan dari akumulasi vanadium pada permukaan selaput sel (gambar 2.3). Dalam hubungannya dengan pertumbuhan bakteri dan pengurangan vanadate, wadah ini tampaknya terpisah dari dinding sel. Akibatnya protein pengikat vanadium menumpuk pada media kultur. Sintesis protein pengikat vanadium oleh bakteri pereduksi vanadium tampaknya penting secara fisiologis. Ini merupakan cara detoksofikasi vanadate oleh bakteri (Antipov *et al.*, 2000).



Gambar 2.4 Bagian tipis sel *Pseudomonas isachenkov*: (A) memanjang, (B) penampang melintang (Antipov *et al.*, 2000).

2.4.2 Faktor-faktor Pertumbuhan Bakteri Resisten Vanadium

Pertumbuhan dan kelangsungan hidup suatu bakteri sangat dipengaruhi oleh pH lingkungan, suhu, ion-ion organik dan anorganik dan lain sebagainya. Setiap bakteri memiliki kebutuhan pH yang berbeda-beda. Berdasarkan pH optimumnya, bakteri dapat digolongkan sebagai asidofilik, netralofilik, atau alkalofilik (Pelczar & Chan, 2012). Setiap spesies memiliki kemampuan untuk tumbuh dalam suatu rentang pH yang spesifik, yang dapat luas atau sempit, dengan pertumbuhan yang paling cepat terjadi pada rentang pH optimum yang sempit. Kebutuhan pH yang spesifik menunjukkan adaptasi organisme terhadap lingkungan alaminya (Prescott *et al.*, 2005).

pH juga merupakan salah satu faktor lingkungan yang paling penting yang mempengaruhi tidak hanya disosiasi situs, tetapi juga larutan kimia logam berat: hidrolisis, kompleksasi oleh ligan organik atau anorganik, reaksi redoks dan presipitasi (Esposito *et al.*, 2002). Selain itu, ketersediaan biosorpsi logam berat juga sangat dipengaruhi oleh pH. Penelitian dari Lopez *et al.*, (2000) menunjukkan bahwa pada spesies *Pseudomonas fluorescens* akumulasi logam Ni

terbesar terjadi pada pH 9. Pada pH 9 ini terjadi hidroksilasi logam Ni oleh bakteri sehingga akumulasi meningkat, sementara pada suhu pada pH 7,5 akumulasi yang terjadi rendah karena tidak adanya hidroksilasi oleh bakteri yang diteliti.

Pertumbuhan dan kelangsungan hidup bakteri selain dipengaruhi oleh pH media kultur juga dipengaruhi oleh faktor abiotik lain. Salah satunya adalah temperatur. Pertumbuhan mikroba secara langsung bergantung pada bagaimana suhu mempengaruhi enzim-enzim seluler. Dengan suhu yang meningkat, aktivitas enzim meningkat. Disisi lain, bila suhu menuju titik beku, terjadi inaktivasi enzim dan metabolisme seluler (Prescott *et al.*, 2005).

Secara umum seluruh bakteri dapat diklasifikasikan ke dalam salah satu dari tiga kelompok utama, bergantung pada kebutuhan suhunya yaitu: 1. Psikrofil, 2. Mesofil dan 3. Termofil. Psikrofil apabila suatu bakteri dapat tumbuh pada rentang suhu -5°C sampai 20°C , Mesofil apabila bakteri dapat tumbuh pada rentang suhu 20°C sampai 45°C dan Termofil apabila bakteri dapat tumbuh pada suhu 35°C atau lebih (Prescott *et al.*, 2005).

Keberhasilan dalam bioakumulasi logam berat oleh sel bakteri juga dipengaruhi oleh temperatur (Lopez *et al.*, 2000). Setiap bakteri mempunyai suhu optimum yang berbeda-beda dalam pengakumulasian logam berat. Pada spesies *Bacillus licheniformis* yang diteliti oleh Patel & Chandel (2015) menunjukkan bahwa spesies *Bacillus licheniformis* suhu optimum dalam pengakumulasian logam besi (Fe) adalah 30°C sementara pada logam tembaga (Cu) adalah 45°C . Sulaiman (2015) menambahkan bahwa suhu memiliki pengaruh substansial pada biosorpsi. Pengaruh suhu memiliki efek lebih dalam, dimana serapan logam

meningkat dalam kisaran suhu sekitar 20-30 °C namun menurun dengan kenaikan suhu di atas nilai kritis.

2.5 Pemanfaatan Bakteri dalam Bioremediasi Vanadium

Bioremediasi adalah penggunaan agen-agen biologik seperti bakteri untuk menetralkan kembali lingkungan yang tercemar menjadi zat-zat yang tidak berbahaya lagi (Waluyo, 2010). Bioremediasi ini merupakan teknik yang utama dalam perbaikan lingkungan dimana hampir tidak ada efek samping dalam penggunaannya. Selain itu teknik ini merupakan teknik yang hemat biaya dan efektif dibandingkan dengan metode lainnya (Peter, 2010). Agen bioremediasi yang utama dalam perbaikan lingkungan adalah bakteri.

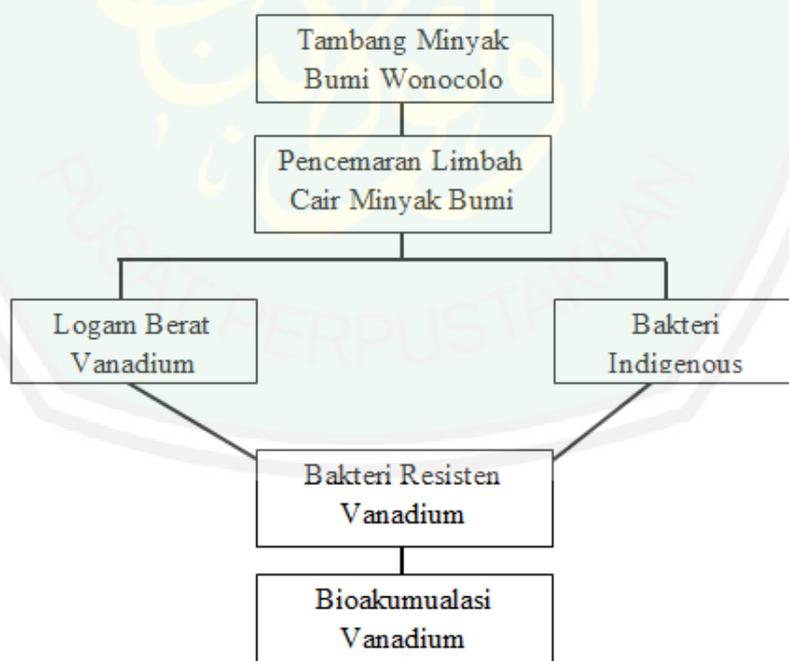
Bioremediasi hanya bisa efektif bila kondisi lingkungan memungkinkan pertumbuhan dan aktivitas mikroba, penerapannya seringkali melibatkan manipulasi parameter lingkungan untuk memungkinkan pertumbuhan mikroba dan degradasi berlanjut pada laju yang lebih cepat. Bakteri yang sudah hidup di lingkungan terkontaminasi, sering kali beradaptasi dengan kelangsungan hidup dengan adanya kontaminan yang ada. Mikroba *indigeneous* ini cenderung memanfaatkan nutrisi dan akseptor elektron yang tersedia di situ, asalkan terdapat air atau cairan (Marwijk, 2005).

Berdasarkan hal tersebut, bakteri banyak dimanfaatkan dalam proses bioremediasi baik secara in-situ maupun ex-situ. Salah satu strategi dalam bioremediasi logam vanadium adalah melalui bioteknologi. Pendekatan dengan bioteknologi memanfaatkan peptida pengikat logam dalam berbagai organisme

hidup untuk memperbaiki kemampuan pengikatan logam mikroorganisme melalui ekspresi heterolog (Ueki, 2015).

Selanjutnya (Ueki *et al.*, 2003) melakukan penelitian dengan mengekspresikan dua gen Vanabin dari *Ascidia sydneyensis samea* ke dalam bakteri *E. coli* untuk merekonstruksi sistem bioremediasi logam vanadium. Tapi sayangnya belum berhasil secara signifikan. Penelitian setelahnya oleh (Samino, Michibata, & Ueki, 2012) juga melakukan hal yang sama yaitu gen AgVanabin2 dari spesies *A. gemmata* di ekspresikan ke spesies *E. coli* hasilnya menunjukkan absorpsi dari VO^{2+} meningkat secara signifikan (Ueki, 2015).

2.6 Kerangka Penelitian



Gambar 2.5 Kerangka berfikir penelitian

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif kualitatif dan eksperimental. Jenis deskriptif kualitatif karena data hasil penelitian disajikan secara deskriptif meliputi keberadaan bakteri yang resisten terhadap logam vanadium, bentuk dan warna koloni, karakteristik makroskopik bakteri serta hasil identifikasi spesies bakteri dengan kit *Microbact*. Sedangkan jenis penelitian ekperimental dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri terpilih dalam mengakumulasi logam vanadium pada konsentrasi vanadium yang berbeda.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2017 sampai April 2018. Bertempat di Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat

Alat-alat yang dipergunakan adalah botol 500 ml, *ice cooler*, plastik, alumunium foil, karet, kertas whatman, gunting, corong gelas, erlenmeyer 25 ml, erlenmeyer 500 ml, mikropipet, yellow tip, blue tip, tissue, tabung ependorf 50

ml, neraca analitik, spatula, *hot plate*, stirer, cawan petri, tabung reaksi, lemari es, *laminar air flow* (LAF), autoklaf, alat destruksi, spiritus-bunsen, bola hisap, pipet ukur 10 ml, ose, batang kaca L, inkubator, beaker glass 250 ml, tabung ependorf, papan gabus, pinset, kertas label, papan penyangga, kit *Microbact* GNB 12 A dan 12B, *colony counter*, *shaker incubator*, spektrofotometer dan *atomic absorption spectroscopy* (AAS).

3.3.2 Bahan

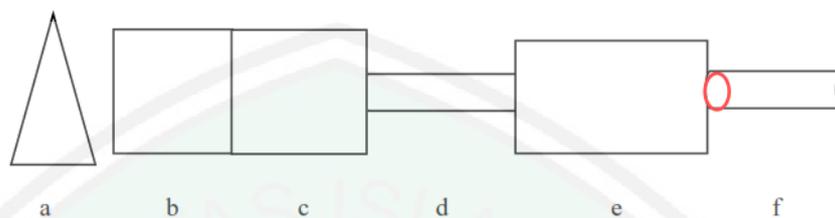
Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah limbah cair minyak bumi, es batu, aquades, alkohol 96%, tissue, kertas label, sodium orthovanadate (Na_3VO_4), Halomonas elongata medium (HMC) yang terdiri dari cassamino acid, pepton, yeast extract, NaCl, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, sodium sitrat, K_2HPO_4 , FeSO_4 (NH_4) 2SO_4 dan agar. Bahan pewarnaan gram yang terdiri dari larutan kristal violet, iodine, dan safranin, serta bahan uji kit *Microbact* yaitu garam fisiologis 0,85%, *Indol Kovact*, reagen Nitrat A dan B, TDA, VP I, dan VP II.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pengambilan Sampel

Sampel diambil pada tempat pembuangan limbah minyak bumi cair menuju ke lingkungan (gambar 3.1) sesuai dengan prosedur (Munawar *et al.*, 2006) diambil sesuai arah aliran limbah yaitu dari *inlet* ke *outlet*. Sampel diambil sebanyak 500 ml menggunakan botol kaca steril. Kemudian botol disimpan pada *ice cooler* dengan suhu $\pm 4^\circ\text{C}$ sampai pengujian dilakukan. Sampel limbah cair minyak bumi diukur suhu menggunakan termometer dan pH menggunakan pH

meter. Selanjutnya sampel langsung dibawa ke laboratorium untuk diisolasi dan identifikasi bakteri.



Gambar 3.1 Skema pengambilan sampel limbah cair tambang minyak Wonocolo. a) Sumur pengeboran minyak bumi b) Tempat penampungan hasil pengeboran c) Tempat pemisahan minyak mentah dan limbah cair d) Aliran pembuangan limbah cair e) Tempat penampungan limbah cair sebelum dibuang ke lingkungan f) lokasi pengambilan sampel (Aliran limbah dibuang ke lingkungan).

3.4.2 Persiapan Larutan Stok dan Media Pertumbuhan Bakteri

Pembuatan larutan stok sebanyak 25 ml mula-mula menimbang berat *sodium orthovanadate* (V^{+5}) sebanyak 0,4575 gr, kemudian dimasukkan ke dalam tabung ependorf 50 ml dan ditambah dengan aquades sebanyak 10 mL dihomogenkan kemudian dipanaskan ke dalam beaker glass yang berisi air. Secara bertahap diukur pH menggunakan kertas pH. Jika asam ditambah dengan larutan NaOH sementara jika basa ditambah dengan HCl sampai pH larutan vanadium menjadi 7 dan berwarna bening. Setelah bening dan pH 7 larutan dibiarkan selama 1 hari. Jika berubah warna dipanaskan kembali sampai larutan tetap bening atau tidak berwarna.

Sementara pembuatan media kultur yaitu media yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan aquades sampai 1 liter, kemudian dipanaskan di atas *hot plate* dan dihomogenkan dengan stirrer. Setelah homogen kemudian ditutup dengan aluminium foil dan dibungkus dengan plastik

untuk disterilisasi. Setelah steril media kemudian dipindah ke LAF untuk pemindahan ke dalam cawan petri sebanyak 20 ml. Kemudian diinkubasi ke dalam inkubator dengan suhu 27°C selama 1x24 jam untuk mengecek ada tidaknya kontaminan. Media yang steril dipilih untuk dilakukan proses peninokulasian sampel.

3.4.3 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat penelitian yang terbuat dari kaca dibungkus dengan menggunakan plastik kemudian diikat dengan rapat agar bakteri tidak dapat masuk, kecuali cawan petri yang harus dibungkus dahulu dengan kertas baru kemudian dimasukkan ke dalam plastik. Bahan penelitian yang sudah dibuat pada langkah sebelumnya juga disterilisasi dahulu sebelum digunakan. Erlenmeyer yang berisi bahan dibungkus dengan plastik dan diikat dengan rapat agar tidak terkontaminasi. Setelah itu, semua alat dan bahan dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.4.4 Uji Pendahuluan

Uji Pendahuluan dilakukan untuk menentukan pengenceran terbaik untuk isolasi bakteri dari limbah cair minyak bumi. Limbah cair minyak diambil sebanyak 100 µl dimasukkan ke dalam *microtube* 1,5 mL yang telah diisi dengan aquades steril sebanyak 900 µl sehingga didapat pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya diambil 100 µl dari pengenceran pertama dipindahkan ke dalam tabung ke dua sehingga didapat pengenceran 10^{-2} dan seterusnya hingga didapatkan pengenceran

10^{-5} . Kemudian diambil masing-masing pengenceran sebanyak 20 μ l dan diinokulasikan pada media HMC, lalu diinkubasi pada suhu 27°C selama 1x24 jam. Pengenceran yang menunjukkan terdapat koloni bakteri yang tumbuh dipilih untuk digunakan pada uji selanjutnya.

3.4.5 Uji Resistensi Isolat Bakteri terhadap Logam Berat Vanadium

Uji resistensi atau bisa disebut dengan uji skrining ini dilakukan untuk mengetahui seberapa besar isolat bakteri mampu tumbuh terhadap paparan logam berat Vanadium. Pada konsentrasi tertinggi isolat kemudian dipilih untuk diidentifikasi dan dilakukan pada uji selanjutnya. Prosedur uji skrining ini mengacu pada (Romaidi & Ueki, 2016) yaitu sampel limbah cair diambil sebanyak 20 μ l, lalu diinokulasikan pada masing-masing media HMC agar steril yang mengandung logam dengan konsentrasi 0 mM, 5 mM dan 10 mM yang telah dibuat pada tahap sebelumnya. Sampel kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Resistensi bakteri ditunjukkan dengan adanya koloni bakteri yang tumbuh dalam media yang mengandung logam vanadium tersebut.

3.4.6 Pembuatan Kultur Murni Isolat Bakteri Resisten Vanadium

Isolat bakteri yang tumbuh pada media dengan kandungan vanadium tertinggi kemudian dilakukan isolasi kembali berdasarkan hasil skrining. Isolat bakteri dilakukan pengenceran bertingkat sampai 10^{-3} kemudian diambil 20 μ l diinokulasikan pada media HMC agar yang telah diberi Sodium Orthovanadate (V^{+5}) dengan konsentrasi 10 mM dan dilakukan 3x ulangan. Sampel kemudian di

inkubasi suhu 37°C selama 1x24 jam. Koloni yang tumbuh kemudian diamati dan dihitung menggunakan *colony counter*. Jumlah koloni dapat dihitung menggunakan persamaan (Waluyo, 2010):

$$\text{Koloni per ml} = \text{Jumlah koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}}$$

Isolat yang tumbuh dalam satu cawan dipilih lima secara acak kemudian dimurnikan dengan metode *quadrant streak*. Isolat diinokulasikan pada media HMC agar tanpa logam secara aseptis dengan menggunakan ose yang dipanaskan kemudian digores secara zig-zag. Kemudian media diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Bila masih ditemukan koloni yang bercampur dilakukan pemisahan kembali hingga diperoleh isolat murni. Isolat yang sudah murni inilah yang dilakukan identifikasi lebih lanjut dan sebagian diawetkan menggunakan HMC broth menggunakan gliserol dengan perbandingan 1:1 dan disimpan pada suhu -80°C.

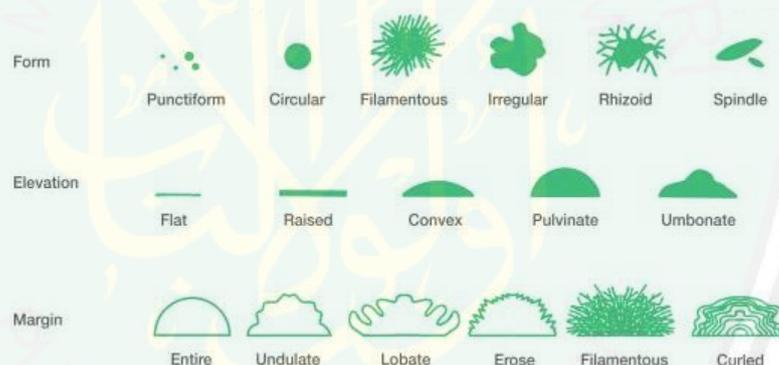
3.4.7 Identifikasi Makroskopik dan Mikroskopik Isolat Bakteri Resisten Vanadium

Koloni bakteri yang telah dimurnikan dapat diketahui koloni tunggal melalui pengamatan bentuk sel secara makroskopis dan mikroskopis melalui pewarnaan gram dan pengamatan dibawah miroskop serta dengan menggunakan kit *Microbact*.

3.4.7.1 Pengamatan Makroskopik Bakteri

Karakteristik bakteri hasil isolasi dalam media HMC diamati sifat-sifat pertumbuhannya. Sifat-sifat yang diamati adalah (Dwijoseputro, 1994):

- a. Bentuk koloni (dilihat dari atas): berupa bulat (*circulair*), berbenang (*filamentus*), tak teratur (*irregular*), serupa akar (*rhizoid*), serupa kumparan (*spindle*).
- b. Permukaan koloni/elevasi (dilihat dari samping): rata (*flat*), timbul-datar (*raised*), timbul-melengkung (*convex*), membukit (*umbonate*).
- c. Tepi koloni (dilihat dari atas): utuh (*entire*), berombak (*lobate*), bergerigi (*serrate*), berbenang (*filamentus*), keriting (*undunate*).
- d. Warna koloni: keputih-putihan, kelabu, kekuning-kuningan atau hampir bening.



Gambar 3.2 Morfologi Koloni Bakteri (Prescott *et al.*, 2005).

3.4.7.2 Pengamatan Mikroskopik Bakteri

Pengamatan mikroskopik bakteri dilakukan untuk melihat bentuk sel isolat bakteri terpilih. Pengamatan ini meliputi bentuk sel bakteri dan pewarnaan gram. Penentuan jenis bakteri yang diperoleh berpedoman pada buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th*. Pewarnaan gram bakteri mengacu pada prosedur yang dilakukan oleh (Cappucino, 2013), yaitu isolat bakteri diambil 1 ose secara aseptis lalu di taruh pada objek glass yang telah berisi setetes aquades. Preparat kemudian difiksasi sampai kering. Kemudian ditetesi dengan larutan

kristal violet, didiamkan selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir kemudian ditetesi dengan larutan iodin didiamkan selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir kemudian diberi alkohol 96%. Setelah itu preparat diberi larutan safranin dan didiamkan selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat kemudian diamati dengan mikroskop, jika positif maka akan berwarna ungu jika negatif berwarna merah.

3.4.8 Uji Resistensi Difusi Kertas Cakram Isolat Bakteri Resisten Vanadium

Penelitian selanjutnya dilakukan uji resistensi dengan menggunakan metode difusi agar seperti dalam penelitian Sabdono (2009) yaitu dilakukan dengan menyebar kultur bakteri ke dalam cawan petri yang berisi media HMC agar secara *spread plate* dan diratakan dengan batang L. Selanjutnya *paper disk* bulat diameter 0,7 mm diletakkan dalam stok logam berat vanadium (V) dengan berbagai konsentrasi yaitu 5 mM, 10 mM, 15 mM dan 20 mM. *Paper disk* tersebut kemudian ditaruh dalam cawan yang berisi isolat bakteri. Isolat kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 1x24 jam, dan zona hambat yang muncul disekitar *paper disk* diukur dengan menggunakan jangka sorong secara horizontal dan vertikal. Apabila ukuran zona hambat yang terbentuk lebih dari 1 mm maka bakteri tersebut tergolong sensitif dan apabila zona yang terbentuk kurang dari 1 mm maka tergolong resisten.

3.4.9 Identifikasi Isolat Bakteri Resisten Vanadium Secara Biokimia Menggunakan Kit *Microbact*

Isolat bakteri resisten vanadium terpilih diidentifikasi secara biokimia menggunakan kit *Microbact* 12A/12E atau 24E serta mengacu pada buku *Bergey's Manual of Determination Bacteriology 9th*. Dilakukan uji gram dan uji oksidasi. Jika hasil uji gram positif maka dilakukan beberapa pengujian secara manual hingga ditemukan hasil identifikasi, sementara jika negatif maka hasil dari angka-angka oktal dimasukkan ke dalam software yang akan menunjukkan hasil identifikasi. Selain itu, sebelum ditentukan menggunakan kit *Microbact*, terlebih dahulu dilakukan uji oksidase. Jika hasil uji negatif maka menggunakan kit *Microbact* 12A/12E sedangkan jika hasil uji positif maka menggunakan kit *Microbact* 24E (Oxoid, 2004).

Isolat bakteri murni yang berumur 24 jam diambil dengan ose, kemudian dilarutkan dalam 10 ml garam fisiologis 0,85% pada tabung reaksi steril dan divortex sampai homogen. Selanjutnya diteteskan ke dalam sumur *Microbact* sebanyak 250 µl pada sumur Lysin, Omitin, dan H₂S ditambah dengan 1-2 tetes *mineral oil*. Kemudian *Microbact* diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah itu, ditambahkan dengan 2 tetes reagen Nitrat A dan B pada sumur nomor 7, 2 tetes *Indol Kovact* pada sumur nomor 8, 1 tetes VP I dan VP II pada sumur nomor 10, serta 1 tetes TDA pada sumur nomor 12. Uji fermentasi karbohidrat pada *Microbact* 12B langsung dapat dibaca hasilnya. Jika fermentasi positif berwarna kuning, jika negatif tidak ada perubahan warna.

Dicatat semua perubahan warna setiap sumur *Microbact*. Evaluasi hasil positif atau negatif yaitu dengan membandingkan tabel warna kemudian hasilnya ditulis pada formulir *Patient Record*. Angka-angka *oktal* didapat dari penjumlahan reaksi positif saja, dari tiap kelompok (3 sumur didapatkan 1 angka *oktal*). Nama bakteri dilihat menggunakan komputer berdasarkan angka *oktal* yang didapat (Oxoid, 2004).

3.4.10 Uji Bioakumulasi Isolat Terpilih Bakteri Resisten Vanadium

Uji bioakumulasi isolat terpilih dilakukan untuk mengetahui berapa besar isolat mengakumulasi logam berat yang diberikan. Uji bioakumulasi ini dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri terpilih pada media HMC *broth* dengan konsentrasi vanadium yang digunakan yaitu 0 μM , 200 μM , dan 500 μM . Total volume media yang digunakan yaitu 30 ml yang terdiri dari media HMC *broth*, stok logam dan isolat bakteri serta dilakukan sebanyak 3 kali ulangan kemudian diinkubasi dalam inkubator shaker pada suhu 37°C kecepatan 150 rpm selama 1x24 jam.

Kemampuan isolat bakteri mengakumulasi logam vanadium diketahui dengan pengukuran kadar vanadium menggunakan spektrofotometri serapan atom (SSA). Prosedur ini mengacu pada Romaidi & Ueki (2016) isolat yang telah diinkubasi dipindah ke dalam tube yang telah ditimbang berat kosongnya. Kemudian sampel disentrifuse dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit, lalu dipisahkan supernatan dan peletnya. Kemudian ditimbang berat pelet dan tube. Pelet tersebut kemudian dipanaskan dalam oven selama 48 jam pada suhu 65°C.

Kemudian ditimbang berat kering tube dan pelet, lalu ditambahkan 7 ml HNO₃ 1N dipanaskan pada suhu 65°C selama 24 jam. Sampel kemudian disentrifuse dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit. Supernatan inilah yang kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometri serapan atom (SSA).

Presentase bioakumulasi vanadium (V) oleh bakteri S2-4 dihitung dengan rumus sebagai berikut (Romaidi dan Ueki, 2016):

$$\% = \frac{a}{b} \times 100\%$$

Keterangan: a = Jumlah vanadium (V) terakumulasi

b = Total vanadium (V) awal perlakuan

3.5 Analisis Data

Data disajikan secara deskriptif meliputi jenis isolat resisten vanadium, karakter makroskopis bakteri, mikroskopik bakteri, hasil uji resistensi difusi kertas cakram dan hasil uji *Microbact*. Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan konsentrasi akumulasi oleh isolat terpilih dilakukan menggunakan Anova satu jalur. Selanjutnya untuk mengetahui konsentrasi yang paling berpengaruh dilakukan uji BNT.

Data hasil penelitian kemudian dianalisis dengan menggunakan analisis nalar spiritual Islam atau nilai-nilai Islam, dimana menganalisis dengan prinsip dan paradigma Islam. Analisis ini menggunakan sumber rujukan dari beberapa ayat Al-Qur'an dan Hadits beserta tafsir serta pemikiran-pemikiran Islam yang sesuai dengan penelitian yang dilakukan. Hal ini dilakukan sebagai amanah khalifah di bumi dan tanggung jawab sebagai ilmuan islam.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Jenis bakteri Resisten Terhadap Vanadium dari Limbah Cair Tambang Minyak Bumi Desa Wonocolo.

4.1.1 Isolat Bakteri Resisten Vanadium dari Limbah Cair Tambang Minyak Bumi Desa Wonocolo.

Resistensi bakteri terhadap logam berat vanadium dapat ditunjukkan dengan tumbuhnya bakteri dalam media HMC (*Halomonas complex*) yang ditambah dengan logam vanadium (V). Bakteri yang diisolasi dari limbah cair tambang minyak Desa Wonocolo dapat resisten terhadap logam vanadium sampai dengan konsentrasi 10 mM. Bakteri ini diisolasi dari lokasi sampling yang mengandung vanadium sebesar 16,58 ppm (325,48 μM).

Hasil penelitian menunjukkan jumlah koloni dalam konsentrasi 0 mM dan 5 mM ditumbuhi bakteri dengan jumlah koloni yang tumbuh masih banyak sekali dan tidak dapat dihitung sementara hanya dalam konsentrasi 10 mM bakteri dapat dihitung jumlah koloninya. Bakteri hanya dapat dihitung jika jumlah koloni bakteri antara 30-300 koloni (Waluyo, 2010). Jumlah koloni dalam konsentrasi 10 mM yaitu pada ulangan pertama jumlah bakteri yaitu 106×10^{-3} cfu/ml, pada ulangan ke dua jumlah bakteri 135×10^{-3} cfu/ml, dan pada ulangan ke tiga jumlah bakteri 123×10^{-3} cfu/ml (tabel 4.1).

Bakteri resisten vanadium yang tumbuh dalam semua cawan kemudian diamati dan diidentifikasi secara morfologi. Isolat kemudian dipilih secara acak

dalam setiap cawan diambil 5 isolat. Isolat terpilih kemudian dikarakterisasi secara makroskopis sesuai prosedur dari Dwidjoseputro (1989) meliputi bentuk koloni, permukaan koloni, tepi koloni dan warna koloni.

Tabel 4.1 Jumlah koloni bakteri resisten vanadium dalam media HMC agar

Ulangan Ke-	Jumlah Koloni Bakteri (cfu/ml)		
	Konsentrasi 0 mM	Konsentrasi 5 mM	Konsentrasi 10 mM
1	TBUD	TBUD	106×10^{-3}
2	TBUD	TBUD	135×10^{-3}
3	TBUD	TBUD	123×10^{-3}

Koloni bakteri hasil isolasi didominasi oleh bakteri berwarna krem, bentuk irreguler dan beberapa circular, permukaan flat serta tepi berombak (lampiran 3). Bentuk koloni yang berbeda ini mengindikasikan bahwa terdapat beberapa koloni bakteri yang berbeda. Seperti yang dinyatakan oleh (Sumarsih, 2003) bahwa koloni dari suatu bakteri dapat dipengaruhi oleh lingkungan maupun sifat fisiologi dari koloni bakteri itu sendiri.

4.1.2 Identifikasi Mikroskopis Isolat Bakteri Resistan Vanadium dari Limbah Cair Tambang Minyak Bumi Desa Wonocolo.

Semua isolat kemudian dimurnikan dalam media baru dengan dilakukan metode streak secara zig-zag terhadap ke-15 isolat. Kemudian diinkubasi selama 1x24 jam dengan suhu 37°C. Pemurnian ini merupakan salah satu cara untuk memisahkan mikroba tertentu dari lingkungannya, sehingga kemudian diperoleh kultur murni yaitu sel-sel mikroba berasal dari pembelahan dari satu sel tunggal (Suriawiria, 2005). Hasil dari pemurnian ini kemudian diwarnai menggunakan pewarna Gram untuk melihat ukuran dan golongan gram bakteri tersebut.

Hasil pengamatan menunjukkan terdapat 15 isolat yang tumbuh. Isolat-isolat tersebut sudah merupakan isolat tunggal atau murni. Isolat tersebut kemudian dilakukan pewarnaan gram dan dilihat bentuk sel bakteri. Hasilnya 10 isolat termasuk dalam bakteri gram positif dan berbentuk batang dan 5 isolat bakteri gram positif berbentuk kokus (lampiran 2). Hasil bakteri yang masuk dalam gram positif dikarenakan hasil pengamatan bakteri berwarna ungu. Menurut Pelczar & Chan (2013) bakteri gram positif dapat mempertahankan zat pewarna kristal violet ketika dicuci dengan alkohol karena dinding sel mengalami dehidrasi, pori-pori menciut, daya rembes dinding sel dan membran menurun, serta tidak terpengaruhi sewaktu diberi pewarna safranin dan tetap berwarna ungu.

Bakteri gram positif dapat mempertahankan warna ungu dikarenakan sel penyusun dinding sel terdiri atas banyak lapisan peptidoglikan yang mampu mengikat zat warna dan tidak rusak saat dicuci dengan alkohol. Lapisan peptidoglikan ini membentuk struktur yang tebal dan keras (Tortora *et al.*, 2013). Karena hal inilah, kelompok bakteri gram positif lebih tahan terhadap lingkungan yang ekstrim daripada bakteri gram negatif. Bakteri dapat bertahan di lingkungan ekstrem seperti limbah cair minyak bumi yang terdapat logam vanadium. Menurut Issazadeh *et al.* (2011) dinding sel bakteri gram positif terdiri dari gugus karboksil yang menjadi agen uptake logam berat.

4.1.3 Uji Resistensi Isolat Bakteri Resisten-Vanadium Terhadap Vanadium

Uji Resistensi dilakukan untuk menyeleksi bakteri yang mempunyai kemampuan resistensi terhadap logam vanadium tertinggi. Uji ini menggunakan

metode difusi agar (difusi kertas cakram) untuk melihat sensitivitas berbagai jenis mikroba pada konsentrasi tertentu (Sabdono, 2009). Zona hambat yang terbentuk mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan bakteri oleh vanadium yang diberikan. Penentuan sensitivitas dalam metode difusi agar dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat (zona bening) yang terbentuk disekitar *paper disk*. Semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk maka semakin kecil nilai konsentrasi hambat minimum dari suatu senyawa (Soleha, 2015). Semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk maka semakin terhambat pertumbuhan suatu bakteri.

Hasil uji resistensi pada konsentrasi tertinggi 20 mM terdapat beberapa bakteri yang tumbuh dan terdapat zona hambat disekitar *paper disk* yang diberikan. Hal ini menunjukkan bahwa isolat yang mempunyai resistensi tertinggi yaitu isolat S2-4 dengan rata-rata ukuran zona hambat 0,3 mm. Sabdono (2009) mengatakan bahwa apabila ukuran zona hambat yang terbentuk kurang dari 1 mm maka tergolong bakteri yang resisten, sementara apabila ukuran zona hambat yang terbentuk lebih dari 1 mm maka bakteri tersebut tergolong bakteri yang sensitif.

Perbedaan derajat resistensi yang berbeda-beda pada hasil uji (tabel 4.2) disebabkan karena bakteri dapat melakukan mekanisme untuk beradaptasi terhadap keberadaan toksisitas logam berat. Selain itu, seperti yang dikatakan oleh Burnley (2000) bahwa besarnya diameter zona hambat tidak selalu bertambah besar seiring dengan meningkatnya konsentrasi perlakuan. Kesalahan faktor teknis dan kejadian internal yang tidak tampak dari mikroorganisme uji kadang kala mempengaruhi hasil uji. Sehingga sebaiknya dalam menentukan bakteri

seleksi dipilih dari strain yang menunjukkan zona hambat terbesar atau terkecil dari setiap konsentrasi. Oleh karena hal ini maka isolat yang dipilih untuk uji bioakumulasi dan identifikasi yaitu isolat S2-4.

Tabel 4.2 Hasil uji resistensi menggunakan metode difusi kertas cakram

Kode bakteri	Lebar rata-rata zona hambat berbagai konsentrasi dalam milimeter (mm)			
	5 mM	10 mM	15 mM	20 mM
S1-1	1,625	1,8	3,1	2,15
S1-2	1,4	0,9	1,1	1
S1-3	-	1,35	-	-
S1-4	-	3,3	-	-
S1-5	-	-	-	-
S2-1	-	-	-	-
S2-2	1,85	1	0,6	1,425
S2-3	-	-	-	-
S2-4	2,45	0,925	1,3	0,3
S2-5	1,5	3,8	1,425	1,8
S3-1	-	1,9	-	-
S3-2	-	-	-	-
S3-3	-	-	-	-
S3-4	-	-	-	-
S3-5	1,2	1,65	1,5	2,25

4.1.4 Identifikasi Bakteri S2-4 Menggunakan Kit *Microbact*

Isolat yang terpilih dalam uji sebelumnya yaitu isolat kode S2-4 selanjutnya diidentifikasi sampai dengan tingkat spesies melalui uji biokimia dengan menggunakan kit *Microbact*. Identifikasi bakteri secara biokimia dalam penelitian ini menggunakan kit *Microbact* 12A dan 12B. Uji biokimia ini merupakan salah satu uji untuk mengetahui atau mengidentifikasi jenis bakteri hasil isolasi berdasarkan sifat-sifat fisiologinya. Hal ini karena aktifitas fisiologi

yang berbeda-beda setiap bakteri dapat digunakan untuk mengkarakterisasi dan mengidentifikasi bakteri tertentu (Cowan, 2004).

Proses-proses biokimia erat kaitannya dengan metabolisme suatu bakteri. Uji-uji biokimia ini dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri yang dianalisa benar-benar bakteri yang diharapkan. Sifat metabolisme suatu bakteri dapat dilihat dari hasil interaksi metabolit yang dihasilkan dengan reagen-reagen kimia (Sumarsih, 2003). Hasil identifikasi bakteri dengan kit *Microbact* ini kemudian disesuaikan dengan *Bergey's Manual of Determination Bacteriology*.

Hasil uji biokimia isolat S2-4 dapat dilihat dalam tabel 4.3 yang didapat menggunakan kit *Microbact* 12A dan 12B. Sebelumnya sampel bakteri diuji oxidase terlebih dahulu untuk menentukan jenis kit yang digunakan. Jika hasil uji negatif maka menggunakan kit *Microbact* 12A/12E sedangkan jika hasil uji positif maka menggunakan kit *Microbact* 24E (Oxoid, 2004). Hasil uji oxidase isolat S2-4 positif, dibuktikan dengan perubahan kertas oxidase menjadi berwarna biru. Uji oxidase ini dilakukan untuk mengetahui penggunaan oksigen sebagai akseptor elektron oleh bakteri (Harley and Prescott, 2002).

Selanjutnya yaitu uji motilitas. Uji ini bertujuan untuk mengetahui pergerakan bakteri. Hasil pengujian motilitas isolat S2-4 menunjukkan hasil positif yang berarti bakteri tersebut memiliki flagel. Selanjutnya uji nitrat yang dilakukan untuk mengetahui bakteri tersebut dapat mereduksi nitrat atau tidak. Hasilnya positif yang berarti isolat tersebut dapat mereduksi nitrat.

Tabel 4.3 Hasil karakteristik pengamatan isolat S2-4 menggunakan kit *Microbact* 12A dan 12B

Kit <i>Microbact</i>	Karakteristik	Hasil pengamatan	
	Oxidase	+	
	Motilitas	+	
	Nitrate	+	
12 A	Lysine	-	
	Ornithine	-	
	H ₂ S	-	
	Glucose	+	
	Mannitol	-	
	Xylose	-	
	ONPG	+	
	Indole	-	
	Urease	+	
	VP	+	
	Citrat	-	
	TDA	-	
	12 B	Gelatin	-
		Malonate	-
Inositol		-	
Sorbitol		-	
Rhamnose		-	
Sucrose		-	
Lactose		-	
Arabinose		-	
Adonitol		-	
Raffinose		-	
Salicin		-	
Arginine	-		
	Pewarnaan gram	Positif	
	Bentuk bakteri	Batang	
Spesies bakteri	<i>Bacillus mycoides</i>		

Keterangan: (+) hasil uji positif; (-) hasil uji negatif

Hasil uji indol menunjukkan hasil negatif. Hasil negatif ini menunjukkan bahwa isolat S2-4 tidak memiliki enzim triptofanase yang berfungsi untuk mengoksidasi asam amino triptofan dalam membentuk indol. Selanjutnya hasil uji *voges-proskauer* (VP) juga menunjukkan hasil positif. Uji VP menentukan kemampuan untuk membentuk produk akhir non asam atau netral seperti asetilmetilkarbinol dari asam-asam organik yang dihasilkan dari metabolisme glukosa (Cappucino, 2013).

Uji citrat dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Saat dalam kondisi tidak ada glukosa atau laktosa yang dapat difermentasi beberapa bakteri dapat menggunakan nitrat sebagai sumber energi (Cappucino, 2013). Isolat S2-4 menunjukkan hasil negatif yang berarti bakteri tersebut tidak bisa menggunakan citrat sebagai sumber karbon.

Hasil uji ONPG menunjukkan hasil positif. Hal ini berarti isolat tersebut dapat menghidrolisis o-nitrophenil- β -d-galactopyranoside (ONPG) oleh enzim β galactosidase sehingga dapat memfermentasikan laktosa. Kemudian uji H₂S menunjukkan hasil negatif. Hal ini berarti isolat S2-4 tidak memproduksi H₂S (Hidrogen sulfida). Gandjar dkk (1992) mengatakan bahwa beberapa bakteri dapat membentuk hidrogen sulfida untuk memecah asam amino yang mengandung unsur belerang, seperti gugus samping intionin.

Uji biokimia selanjutnya yaitu uji gula-gula. Adam (2001) mengatakan bahwa uji gula-gula dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam fermentasi masing-masing gula menjadi asam. Uji gula-gula yang digunakan dalam kit *Microbact* meliputi glukosa, xylosa, sukrosa, laktosa, arabinosa,

rhamnosa, rafinosa, adonitol, inositol, manitol, dan salisin. Hasil fermentasi gula-gula pada isolat S2-4 semuanya negatif kecuali glukosa yaitu positif. Hasil ini ditandai dengan tidak adanya perubahan warna pada parameter uji. Isolat S2-4 merupakan bakteri yang hanya dapat melakukan fermentasi glukosa dan tidak dapat memfermentasikan selain itu seperti sukrosa, laktosa, dan lain sebagainya.

Selain uji gula-gula, terdapat pula uji enzim yaitu urease. Urease merupakan enzim hidrolitik yang menyerang ikatan nitrogen dan karbon pada senyawa amida dan menghasilkan produk akhir bersifat basa yaitu amonia Adam (2001). Hasil uji ini yaitu positif berarti isolat S2-4 dapat memproduksi enzim ini. Kemudian uji gelatin untuk mengetahui adanya enzim gelatinase. Hasil uji gelatin menunjukkan hasil negatif yang berarti tidak dapat menghasilkan enzim gelatinase. Uji TDA, arninin, lysine dan ornithin juga menunjukkan hasil negatif.

Hasil-hasil dari berbagai uji biokimia dalam kit *Microbact* selanjutnya disesuaikan dengan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th*. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isoalat S2-4 merupakan spesies *Bacillus mycoides* dengan kemiripan 78,57%. Hasil dari identifikasi menggunakan kit *Microbact* dapat menunjukkan sampai tingkat spesies dengan syarat bakteri yang teridentifikasi prosentase kemiripannya harus diatas 80%, jika kurang dari 80% maka bakteri hanya memiliki kersamaan sampai tingkat genus saja.

Penelitian terdahulu yang mengisolasi bakteri resisten vanadium dilakukan oleh Romaidi & Ueki (2016) yang mengambil sampel dari usus spesies *Ascidia sydneiensis samea*. Hasilnya ditemukan beberapa spesies dari genus *Vibrio* dan diantaranya yaitu spesies *Vibrio splendidus*, *Vibrio tasmaniensis*, *Vibrio tapetis*.

Selain itu juga terdapat spesies dari genus *Shewanella* yaitu *Shewanella pasifica* dan *Shewanella olleyana*. Wang *et al.* (2016) mengisolasi bakteri dari sampel tanah dari tambang vanadium di Xian-ning, Provinsi Hubei, China. Hasilnya ditemukan spesies dari genus *Pedobacter* diantaranya yaitu *Pedobacter suwonensis*, *Pedobacter alluvionis*, dan *Pedobacter soli*.

Kamika & Momba (2014) juga melakukan isolasi dari limbah cair tambang vanadium di Mpumalanga, Afrika Selatan. Hasilnya bakteri dari genus terbanyak yang ditemukan yaitu *Marinobacter*, *Anabaena*, *Clostridium*, dan *Achromobacter*. Salah satu spesies yang berhasil diidentifikasi yaitu spesies *Marinobacter goseongensis* yang mempunyai toleransi tinggi terhadap logam vanadium. Belum terdapat penelitian yang menemukan bakteri-resisten vanadium dari genus *Bacillus*. Perbedaan tempat, suhu, pH, nutrisi dan beberapa faktor lainnya membuat hasil isolasi yang dilakukan akan menghasilkan spesies yang berbeda. Dalam limbah cair tambang minyak bumi desa Wonocolo spesies yang ditemukan yaitu *Bacillus mycoides*.

Bacillus mycoides merupakan salah satu bakteri yang masuk dalam genus *Bacillus*. Bakteri ini berbentuk batang, gram positif, dan dapat membentuk biofilm. Hal ini didukung koloni isolat bakteri S2-4 bersifat lengket pada media dan susah diambil yang menunjukkan salah satu indikator pembentuk biofilm. Biofilm ini merupakan kumpulan sel dari bakteri yang melekat pada suatu permukaan. Selain sebagai perlindungan, biofilm ini juga berfungsi sebagai perangkat nutrisi (Turnbull, 1996; Madigan, 2006). Isolat S2-4 ini dapat dijadikan sebagai agen bioremediasi, karena logam vanadium akan terperangkap dalam

biofilm serta terakumulasi dalam bakteri sehingga vanadium yang tercemar menjadi berkurang.

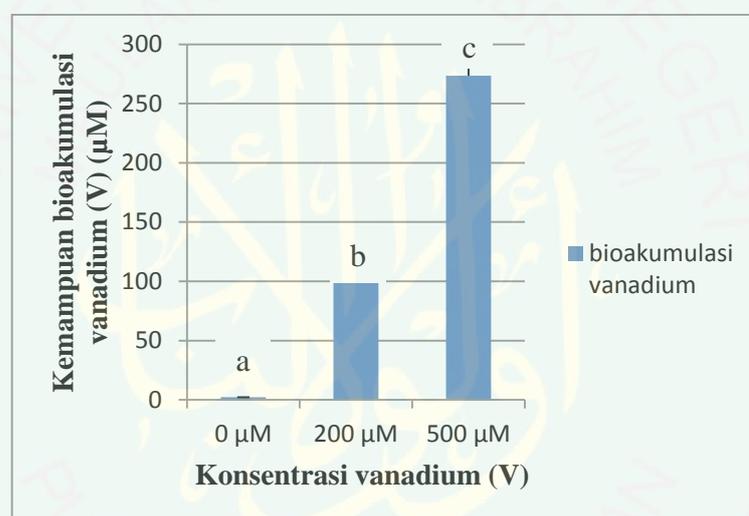
4.2 Uji Kemampuan Bioakumulasi Vanadium Oleh Isolat Bakteri S2-4

Bioakumulasi didefinisikan sebagai penyerapan zat-zat toksik oleh sel hidup (Lu, 1995). Bioakumulasi merupakan mekanisme *active uptake* yaitu proses yang melibatkan metabolisme oleh sel hidup. Bioakumulasi ini tergantung pada sifat biokimia dan struktural intrinsik, adaptasi fisiologis dan genetik, modifikasi lingkungan spesifikasi logam, ketersediaan dan toksisitas (Hodgson and Levy, 2000). Oleh karena itu dalam penelitian ini digunakan bakteri *indigenous* atau bakteri yang berasal dari habitat aslinya yang tercemar.

Uji bioakumulasi vanadium dilakukan dengan menggunakan isolat bakteri S2-4 yang terpilih pada uji resistensi difusi kertas cakram sebelumnya. Kemampuan resistensi ditunjukkan dengan cara presipitasi vanadium yang ditandai dengan koloni berwarna cream pada media HMC cair. Uji bioakumulasi vanadium pada isolat bakteri S2-4 dilakukan dengan memberikan 3 perlakuan atau konsentrasi dan masing-masing dilakukan 3 kali ulangan. Konsentrasi yang digunakan yaitu 0 μM , 200 μM , dan 500 μM . Bakteri diinkubasi dalam inkubator shaker pada suhu 37°C kecepatan 150 rpm selama 24 jam.

Hasil penelitian didapatkan hasil kemampuan bioakumulasi logam vanadium oleh bakteri S2-4 berbeda-beda setiap konsentrasinya (gambar 4.1). Notasi yang berbeda-beda menunjukkan bahwa terdapat perbedaan akumulasi vanadium oleh isolat bakteri S2-4 tersebut. Hasil ini kemudian dianalisis dengan

ANOVA *one way* yang menunjukkan ada pengaruh yang signifikan pada perbedaan konsentrasi terhadap kemampuan bioakumulasi ($\text{sig} < 0,05$). Pada perlakuan $0 \mu\text{M}$ isolat bakteri S2-4 dapat mengakumulasi vanadium sebesar $2,11 \mu\text{M}$. Pada perlakuan $20 \mu\text{M}$ isolat bakteri S2-4 dapat mengakumulasi vanadium sebesar $112,3 \mu\text{M}$ dan pada perlakuan $500 \mu\text{M}$ isolat bakteri S2-4 dapat mengakumulasi vanadium sebesar $273,53 \mu\text{M}$. Kemampuan bioakumulasi ini meningkat sejalan dengan bertambahnya konsentrasi vanadium yang diberikan.



Gambar 4.1 kemampuan bioakumulasi vanadium isolat bakteri S2-4 dalam media HMC cair dengan konsentrasi $0 \mu\text{M}$, $200 \mu\text{M}$, $500 \mu\text{M}$. Notasi dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan.

Bioakumulasi pada perlakuan kontrol ($0 \mu\text{M}$) menunjukkan adanya vanadium yang terakumulasi sebesar $2,11 \mu\text{M}$. Adanya vanadium yang terakumulasi tersebut merupakan vanadium yang terdapat pada beberapa uji sebelumnya, atau bahkan vanadium tersebut murni terdapat dalam tubuh isolat bakteri tersebut. Presentase bioakumulasi vanadium oleh isolat bakteri S2-4 pada

perlakuan kontrol yaitu 0 μM yaitu sebesar 0%, pada perlakuan 200 μM yaitu sebesar 56%, dan pada perlakuan 500 μM yaitu sebesar 54,7%.

Tabel 4.4 jumlah vanadium yang terakumulasi dalam berat basah bakteri S2-4
($\mu\text{M/g}$)

Konsentrasi vanadium (V)	Jumlah vanadium (V) terakumulasi (mM/g \pm SE)	Presentase bioakumulasi vanadium (V)
0 μM	2,11 \pm 0,137 (a)	0 %
200 μM	112,13 \pm 4,208 (b)	56 %
500 μM	273,53 \pm 3,914 (c)	54 %

Notasi yang berbeda pada presentase bioakumulasi setiap perlakuan menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara pengaruh konsentrasi vanadium terhadap presentase bioakumulasi vanadium oleh isolat bakteri S2-4.

Presentasi bioakumulasi vanadium oleh bakteri S2-4 termasuk dalam kategori kecil jika dibandingkan dengan penelitian Romaidi & Ueki (2016). Bakteri dapat mengakumulasi logam vanadium dengan presentase 56,06% (200 μM) dan 54,7% (500 μM). Sementara Romaidi & Ueki (2016) pada isolat V-RA-4 dan S-RA-6 keduanya dapat mereduksi vanadium +5 sampai 80%. Kemampuan bioakumulasi vanadium pada bakteri berbeda-beda tergantung pada konsentrasi logam yang diberikan, waktu inkubasi, jenis bakteri serta kemampuan resistensi bakteri terhadap logam vanadium. Utamanya proses bioakumulasi ini terjadi di dalam sel yaitu komponen-komponen intraselular.

Romaidi & Ueki (2016) menjelaskan bahwa proses bioakumulasi yang terjadi dalam isolat V-RA-4 dan S-RA-6 total vanadium yang ditahan dalam cytoplasma (kompartmen intraselular) kira-kira 80% dari total akumulasi vanadium. Sementara 20% sisanya dikeluarkan melalui ekstraksi EDTA. Selain itu, proses bioakumulasi dapat juga terjadi melalui proses pengecualian (*exclus*

ion), detoksifikasi, transport aktif (Rajendran *et.al.*, 2003) melalui sistem transportasi fosfat (Marwijk, 2005), dan sintesis protein pengikat vanadium (Antipov *et al.*, 2000).

4.3 Dialog Hasil Penelitian Perspektif Islam

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri S2-4 (*Bacillus mycoides*) mampu mengakumulasi vanadium hingga 64%. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu untuk mengurangi jumlah vanadium yang diberikan dalam media. Struktur sel bakteri yang kecil bukan berarti tidak dapat mengurangi jumlah polutan (logam vanadium) dalam media penelitian. Terbukti bahwa isolat S2-4 dapat mengakumulasi vanadium. Bakteri ini dapat berpotensi mengurangi jumlah pencemaran vanadium di tambang minyak Wonocolo.

Melalui hal ini kita harus selalu ingat bahwa Allah SWT tidak menciptakan sesuatu dengan sia-sia. Bakteri oleh Allah SWT salah satunya diberi kemampuan untuk dapat merubah lingkungan yang tercemar melalui proses bioakumulasi. Allah SWT berfirman dalam surah surah Al-Imron 191:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ
وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya: (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka.

Lingkungan merupakan bagian yang tidak bisa dipisahkan dari kehidupan manusia. Lingkungan perlu dijaga dari berbagai kerusakan serta pencemaran yang

akan berakibat bagi semua makhluk hidup bahkan manusia. Pencemaran ini salah satunya yaitu tercemar dengan limbah cair minyak bumi yang mengandung logam vanadium yang berbahaya jika terpapar dalam tubuh makhluk hidup. Ajaran agama islam menegaskan bahwa manusia diberi tanggung jawab untuk menjaganya lingkungan sebagai *kholifah* di bumi serta tidak merusaknya atau mengeksploitasi secara berlebihan. Allah SWT berfirman dalam surah Al A'rof ayat 56:

وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ بَعْدَ إِصْلَاحِهَا وَادْعُوهُ خَوْفًا وَطَمَعًا إِنَّ رَحْمَتَ اللَّهِ قَرِيبٌ مِّنَ الْمُحْسِنِينَ ﴿٥٦﴾

Artinya: dan janganlah kamu membuat kerusakan di muka bumi, sesudah (Allah) memperbaikinya dan Berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut (tidak akan diterima) dan harapan (akan dikabulkan). Sesungguhnya rahmat Allah Amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik.

Praktek pencemaran lingkungan yang terdapat pada Desa Wonocolo sebagai akibat pembuangan limbah minyak langsung ke sungai tanpa didetoksifikasi dapat merugikan makhluk hidup baik di darat maupun di air. Lingkungan di sekitar penambangan minyak Wonocolo juga merupakan suatu anugerah yang diciptakan oleh Allah SWT agar dapat dimanfaatkan dengan sebaik-baiknya. Lingkungan ini harus dijaga dan dilestarikan sebagai wujud kepedulian dan mengutarakan rasa cinta dan sayang terhadap ciptaan-Nya.

Menjaga kelestarian lingkungan juga merupakan bagian dari akhlak mulia yang harus dimiliki dan diterapkan oleh manusia. Salah satu cara dalam menjaga lingkungan di sekitar tambang minyak yaitu melalui bioremediasi limbah minyak yang berbahaya menjadi tidak berbahaya bagi makhluk hidup. Penelitian ini

merupakan suatu tanggung jawab sebagai seorang muslim dan peneliti dalam menjaga lingkungan.

Dari hasil penelitian mengajarkan bahwa untuk selalu bertauhid dan berakhlak melalui sains. Menjaga lingkungan merupakan tugas dan tanggung jawab manusia sebagai seorang muslim dan seorang peneliti. Salah satu langkah dalam menjaga lingkungan yaitu dengan melakukan penelitian ini mencari agen bioakumulasi bakteri-resisten vanadium dari limbah cair tambang minyak bumi desa Wonocolo sebagai bioakumulator logam vanadium. Bakteri resisten-logam vanadium selanjutnya dapat digunakan sebagai agen bioremediasi lingkungan yang tercemar logam vanadium agar tercipta keseimbangan dan keberlangsungan lingkungan hidup.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian yang dilakukan ini adalah:

1. Terdapat 15 isolat bakteri resisten terhadap vanadium yang diisolasi dari penelitian. 1 isolat mempunyai hasil uji resistensi difusi kertas cakram terkecil dibandingkan dengan isolat yang lain. Berdasarkan identifikasi secara biokimia isolat S2-4 memiliki kemiripan dengan spesies *Bacillus mycooides* sebesar 78%.
2. Kemampuan bakteri resisten terhadap vanadium yang diisolasi dari limbah cair tambang minyak bumi Desa Wonocolo dalam mengakumulasi vanadium dari isolat S2-4 dapat mengakumulasi vanadium sebesar 56% dalam perlakuan 200 μM , dan 54% dalam perlakuan 500 μM .

5.2 Saran

Saran dari penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukan pengaruh variasi pH dan suhu bakteri resisten vanadium agar dapat diterapkan secara aplikatif untuk proses remediasi lahan tercemar vanadium.
2. Melakukan identifikasi bakteri resisten vanadium secara molekuler.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, Mujiono. 2001. *Agama Ramah Lingkungan Perspektif Al Qur'an*. Jakarta: Paramadina.
- Adam, M.R. 2001. *Microbiology of Fermented Food*. New York: Elsvier Applied Science Publisher, Ltd.
- Ad-Dimasyqi, Ibnu Katsir. 2005. Tafsir Ibnu Katsir. Penterjemah: Bahrul Abu Bakar dan Anwar Abu Bakar. Bandung : Penerbit Sinar Baru Algensindo.
- Ali, Mohammad Daud. 2008. Pendidikan Agama Islam. Jakarta: PT. RajaGrafindo Persada.
- Afanasjeva, N., Lizcano-valbuena, W. H., Aristizabal, N., & Mañozca, I. 2015. Electrodeposición de vanadio y níquel de los asfaltenos de crudos pesados V and Ni electrochemical deposition from asphaltenes in heavy oils. *Ingeniería Y Competitividad*, 17(2), 9–17.
- Antipov, A. N., Lyalikova, N. N., Nikolay, P. L., & Bach, N. 2000. Vanadium-Binding Protein Excreted by Vanadate-Reducing Bacteria. *IUBMB Life*, 49, 137–141.
- Assem, F. L., & Levy, L. S. 2009. A Review of Current Toxicological Concerns on Vanadium Pentoxide and Other Vanadium Compounds; Gaps in Knowledge and Direcrion for Future Research. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 12, 289–306.
- Barceloux, D. G. 1999. Vanadium. *Clinical Toxicology*, 37(2), 265–278.
- British Petroleum Global (BP). *BP Sasitistical Review of World Energy Statistic 2016*. Paris: Chirat.
- Burnley, L. E. 2000. Heavy Metal Resistance in the Genus Gluconobacter. *Thesis*. Master of Science in Biology Faculty of Virginia Tech. Blacksburg USA.
- Cappucino, James G. dan Sherman Natalie. 2013. *Microbiology: A Laboratory Manual*. Sydney: Addison Wesley Publishing Company.
- Cohen, M. D. (1998). Vanadium. In J. T. Zelikoff & P. T. Thomas (Eds.),

Immunotoxicology of Environmental and Occupational Metals (p. 207).
United Kingdom: Taylor & Francis Ltd.

Cowan, S.T. 2004. *Manual for the Identification of Medical Fungi*. London:
Cambridge University Press.

Dwijoseputro, D. 1994. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.

Esposito, A., Pagnanelli, F., & Vegliâ, F. 2002. pH-related equilibria models for
biosorption in single metal systems. *Chemical Engineering Science*, 57, 307–
313.

Gandjar, I. I. R Koentjoro, W. Mangunwardoyo dan L. Soebagya. 1992. *Pedoman
Praktikum Mikrobiologi Dasar*. Depok: UI Press.

Gruse, W. A. & Donald, R. S. 1942. *Chemical Technology of Petroleum*. New
York: McGraw-Hill Companies, Inc.

Handrianto, P., Rahayu, Y. S., & Yuliani. 2012. Teknologi Bioremediasi dalam
Mengatasi Tanah Tercemar Hidrokarbon. In *Prosiding Seminar Nasional
Kimia Unesa* (pp. 978–979). Surabaya.

Hardjono, A. 2007. *Teknologi Minyak Bumi*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada
Press.

Hanifansyah, M. Nur. 2012. *Hilyah Mutiara Lisan*. Surabaya: Imtiyaz.

Harley, J.P., and Prescott, L.M. 2002. *Laboratory Exercise in Microbiology, fifth
Edition*. The McGraw-Hill.

Helmy, Q., & Kardena, E. 2015. Petroleum Oil and Gas Industry Waste
Treatment; Common Practice in Indonesia. *Journal Petroleum
Environmental Biotechnology*, 6(5).

Hodgson, E. dan Levi, P.E. 2000. *A Textbook of Modern Toxicology 2^{Ed}*.
Singapore: McGraw-Hill Higher Education.

Imam Malik bin Anas. 2006. *Al Muwaththa' Imam Malik*. Diterjemahkan oleh:
Muhammad Iqbal Qadir. Jakarta: Pustaka Azzam.

Indonesia, *Peraturan Pemerintah tentang Pengelolaan Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun*. PP No. 18 Tahun 1999.

Issazadeh, K., Jahanpour, N., Pourghorbanali, F., Reisi, G., dan Faekhondeh, J. 2013. Heavy Metals Resistance By Bacterial Strains. *Annals of Biological Research*. 4(2): 60-63.

Kadiiska, M. B., Mason, R. P., Dreher, K. L., Costa, D. L., & Ghio, A. J. 1997. In Vivo Evidence of Free Radical Formation in the Rat Lung after Exposure to an Emission Source Air Pollution Particle †. *Chem. Res. Toxicol.*, 10, 1104–1108.

Kamika, I., & Momba, M. N. B. 2014. Microbial Diversity of Emalahleni Mine Water in South Africa and Tolerance Ability of the Predominant Organism to Vanadium and Nickel. *PLOS One*, 9(1).

Khuhawar, M. Y., Mirza, M. A., & Jahangir, T. M. 2012. Determination of Metal Ions in Crude Oils. In M. E.-S. Abdul-Raouf (Ed.), *Crude Oil Emulsions-Composition Stability and Characterization* (pp. 121–144). INTECH.

Lopez, A., Lazaro, N., Priego, J., & Marquez, A. 2000. Effect of pH on the biosorption of nickel and other heavy metals by *Pseudomonas fluorescens* 4F39. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 24, 146–151.

Lu, F.C. 1995. *Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko*. Diterjemahkan oleh Nugroho, E. Jakarta: UI Press.

Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Brock, T. D. (2006). *Brock biology of microorganisms*. Upper Saddle River, NJ: Pearson Prentice Hall.

Marwijk, J. Van. 2005. *Vanadium Reduction by Bacterial Isolates from South African mines*. University of The Free State.

Masruri, Ulin Niam. Pelestarian Lingkungan dalam Perspektif Sunnah. *Jurnal At Taqaddum*. 6(2): 411-428.

Munawar, Widjajanti, H., & Prihadini, U. 2006. isolasi bakteri pereduksi amoniak dari limbah cair minyak bumi.pdf. *Jurnal Pengelolaan Lingkungan Dan Sumberdaya Alam*, 5(4), 84–92.

- Mustafa, A. D., Juahir, H., Yunus, K., Amran, M. A., Hasnam, C. N. C., Azaman, F., ... Sulaiman, N. H. 2015. Oil Spill Related Heavy Metal : A Review. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 19(6), 1348–1360.
- Naumi, R. N., & Trilaksana, A. 2015. Pertambangan Minyak Tradisional di Desa Wonocolo, Kecamatan Kedewan Kabupaten Bojonegoro Tahun 1970-1987. *AVATARA, E-Journal Pendidikan Sejarah*, 3(1), 135–146.
- Nechay, B. R. 1984. Mechanisms of Action of Vanadium. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 24, 501–524.
- Ogbo, E. M., & Okhuoya, J. A. 2011. Bioavailability of Some Heavy Metals in Crude Oil Contaminated Soil Remediated with *Pleurotus tuber-regium* Fr.singer. *Asian Journal Biological Sciences*, 4(1), 53–61.
- Ortiz-bernad, I., Anderson, R. T., Vrionis, H. A., & Lovley, D. R. 2004. Vanadium Respiration by *Geobacter metallireducens* : Novel Strategy for In Situ Removal of Vanadium from Groundwater. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(5), 3091–3095.
- Owamah, H. I. 2013. Heavy Metals Determination and Assessment in a Petroleum Impacted River in the Niger Delta Region of Nigeria. *Journal Petroleum Environmental Biotechnology*, 4(1), 1–4.
- Oxoid. 2004. *Microbact Identification Kits*. Jakarta: IKAPI.
- Palar, H. 1994. *Pencemaran & Toksikologi Logam Berat*. Jakarta: PT Rineka Cipta.
- Patel, R., & Chandel, M. 2015. Effect of pH and Temperature on the Biosorption of Heavy Metals by *Bacillus licheniformis*. *International Journal of Science and Research (IJSR)*, 4(1), 2272–2275.
- Pelczar, M. J., & Chan, E. C. 2013. *Dasar Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press.
- Peter, O. A. 2010. Biological Remediation of Hydrocarbon and Heavy Metals Contaminated Soil. In S. Pascucci (Ed.), *Soil Contamination* (p. 128). Rijeka: INTECH.
- Prakash, B., & Irfan, M. 2011. *Pseudomonas aeruginosa* is Present in Crude Oil

Contaminated Sites of, 2(5).

- Prescott, L. M., John, P. H. and Donald A. K. 2005. *Microbiology: Sixth Edition*. New York: McGraw-Hill Companies Inc.
- Rajendran, P., Muthukrishnan, J., & Gunasekaran, P. 2003. Microbes in heavy metal remediation. *Indian Journal of Microbiology*, 41(September), 935–944.
- Romaidi, & Ueki, T. 2016. Bioaccumulation of Vanadium by Vanadium-Resistant Bacteria Isolated from the Intestine of *Ascidia sydneiensis samea*. *Marine Biotechnology*, 18(3), 359–371.
- Sabdono, Agus. 2009. Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Simbion Karang *Gonolastrea aspera* Resisten terhadap Logam Berat Cooper (Cu) dari P. Pajang, Jepara. *Ilmu Kelautan*. 14 (3): 117-125.
- Samino, S., Michibata, H., & Ueki, T. 2012. Identification of a Novel Vanadium-binding Protein by EST Analysis on the Most Vanadium-rich Ascidian , *Ascidia gemmata*. *Marine Biotechnology*, 14, 143–154.
- Sembel, Dantje Terno. 2015. *Toksikologi Lingkungan*. Yogyakarta: ANDI
- Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir Al Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur`an*. Jakarta: Lentera Hati.
- SKK Migas. (2016). SKK Migas Laporan Tahunan 2016. Tersedia di <http://www.SKKMigas.go.id/daftar-kkks>. diakses pada 24 Agustus 2018.
- Soleha, T.U. 2015. Uji Kepekaan terhadap Antibiotik. *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung*. 5(9): 119-123.
- Sugiyono, A., Siregar, E., Pominto, A. K., Fitriana, I., & Niode, N. 2016. *Outlook Energi Indonesia 2016*. (Anindhita, L. M. A. Wahid, & Adiarso, Eds.). Jakarta: Pusat Teknologi Sumberdaya Energi dan Industri Kimia BPPT.
- Sukarni. 2011. *Fikih Lingkungan Hidup Perspektif Ulama Kalimantan Selatan*. Jakarta: Kementerian Agama RI.
- Sulaiman, M. S. 2015. Factors Affecting Biosorption Of Cu (II) Ions From

- Industrial Wastewater. *Applied Research Journal*, 1(5), 311–315.
- Sumarsih, S. 2003. *Mikrobiologi Dasar*. Yogyakarta: UPN Yogyakarta.
- Sumotarto, U. 2016. *Geologi Minyak dan Gas Bumi*. Yogyakarta: Ombak.
- Suriawiria, U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Papas Sinar Sinanti.
- Suriyani, Irma dan Khotijah, Siti. 2013. Kajian Islam dalam Masalah Lingkungan Hidup di Kota Samarinda. *Risalah Hukum Fakultas Hukum Unmul*. 9(1): 71-78.
- Swisher, J.H., & Shankarnarayan, S. 1994. Inhibiting vanadium-induced corrosion. *Materials Performance; (United States)* 33:9.
- Tortora, Gerald J., Funke. Berdell R., dan Case, Christine L. 2013. *Microbiology And Introduction 11th edition*. USA: Pearson Education
- Turnbull, Peter C. B. 1996. *Medical Microbiology*. Galveston: University of Texas Medical Branch at Galveston.
- Ueki, T. 2015. Vanadium in the Environment and Its Bioremediation. In M. Öztürk, M. A. A. Aksoy, M. S. A. Ahmad, & K. R. Hakeem (Eds.), *Plants, Pllutants and Remediation* (pp. 13–26). New York: Springer Dordrecht Heidelberg.
- Ueki, T., Sakamoto, Y., Yamaguchi, N., & Michibata, H. 2003. Bioaccumulation of Copper Ions by Escherichia coli Expressing Vanabin Genes from the Vanadium-Rich Ascidian *Ascidia sydneiensis samea*. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(11), 6442–6446.
- Van Marwijk, J., Opperman, D. J., Piater, L. A., & Van Heerden, E. 2009. Reduction of Vanadium (V) by Enterobacter cloacae EV-SA01 Isolated from A South African Deep Gold Mine. *Biotechnol Lett*, 31, 845–849.
- Waluyo, L. 2010. *Teknik dan Metode Dasar Mikrobiologi* (1st ed.). Malang: UMM Press.
- Wang, Zhiyong. *et.al.* 2016. *Pedobacter vanadiisoli* sp. nov., Isolated from Soil of a Vanadium Mine. *Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.

(66): 5112-5117.

Wolicka, D., & Borkowski, A. 2012. Microorganisms and Crude Oil. In L. Romero-Zerón (Ed.), *Introduction to Enhanced Oil Recovery (EOR) Processes and Bioremediation of Oil-Contaminated Site* (pp. 115–116). Rijeka: INTECH.

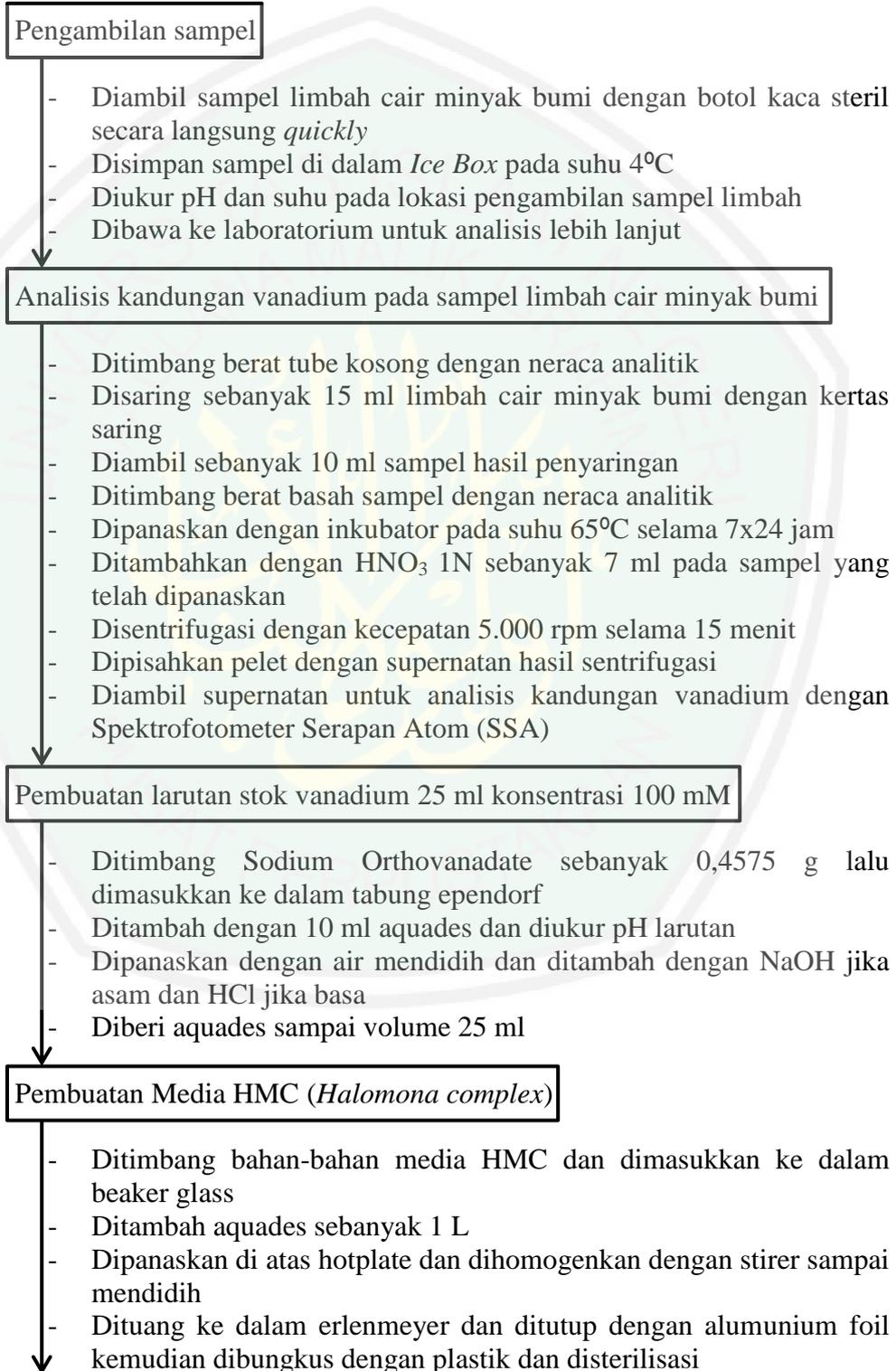
Wulansari, D. C. 2011. *Sosiologi: Konsep dan Teori*. Bandung: Refika Aditama.

Yi, Y., Yang, Z., & Zhang, S. 2011. Ecological risk assessment of heavy metals in sediment and human health risk assessment of heavy metals in fishes in the middle and lower reaches of the Yangtze River basin. *Environmental Pollution*, 159(10), 2575–2585.

Yudhanto. 2011. Strategi Perlawanan Petani Tambang Tradisional dalam Menjaga Kelangsungan Hidup di Tengah Rendahnya Imbal Jasa. *Jurnal Fisip UMRAH*, 1(1), 75–91.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian



Sterilisasi alat dan bahan

- Dibungkus alat gelas dengan plastik dan diikat dengan rapat dengan karet
- Dibungkus cawan petri dengan kertas kemudian dengan plastik dan diikat dengan rapat
- Dibungkus media yang sudah jadi dengan plastik
- Dimasukkan alat dan bahan ke dalam autoklaf dengan suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit

Uji Pendahuluan

- Ditumbuhkan bakteri pada media HMC agar dengan konsentrasi vanadium (V) 5 mM dan 10 mM
- Dilakukan pengenceran pada sampel limbah cair minyak bumi 10^{-1} sampai pengenceran 10^{-5} dan diinokulasikan pada media HMC agar
- Diinkubasi pada suhu 37°C selama 7x24 jam
- Diamati pertumbuhan bakteri terbaik

Isolasi bakteri resisten vanadium (V) dengan konsentrasi 10 mM

- Dilakukan pengenceran pada sampel limbah cair pada 10^{-3}
- Dituang ke dalam cawan sebanyak 20 ml media HMC dengan konsentrasi vanadium 10 mM
- Diinokulasikan sampel limbah pada media HMC dan diratakan dengan batang L
- Diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1x24 jam

Pemurnian dan Karakterisasi bakteri

- Dituang media HMC agar ke dalam cawan petri yang telah digaris menjadi 2
- Ditunggu sampai memadat lalu dipanaskan ose pada bunsen
- Diambil isolat bakteri terpilih dengan ose kemudian ditaruh pada media baru secara zig-zag
- Diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1x24 jam
- Dilakukan pengamatan mikroskopik dengan pewarnaan gram pada hasil pemurnian

Kultur Bakteri

- Diambil media HMC cair sebanyak 3 ml dengan pipet volume lalu dimasukkan pada tabung reaksi
- Dipanaskan ose lalu diambil bakteri sebanyak 1 ose kemudian dimasukkan pada media HMC cair

- Diinkubasi dalam inkubator shaker dengan suhu 37°C selama 1x24 jam kecepatan 150 rpm

Uji Resistensi Difusi Kertas Cakram

- Dimasukkan cakram yang berbentuk bulat pada vanadium dengan konsentrasi 5 mM, 10 mM, 15 mM, dan 20 mM.
- Dituang media HMC padat ke dalam cawan petri lalu dibiarkan samapi memadat
- Dituang kultur bakteri pada media dan diratakan dengan batang L
- Dimasukkan cakram yang telah tersuspensi vanadium ke dalam media HMC
- Diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C
- Diukur zona bening yang muncul dengan menggunakan jangka sorong

Uji Akumulasi bakteri resisten vanadium (V)

- Diinokulasikan isolat bakteri terpilih ke dalam media HMC *broth* yang mengandung vanadium (Na_3VO_4) pada konsentrasi 0 μM , 200 μM , 500 μM
- Diinkubasikan pada shaker inkubator pada suhu 37°C kecepatan 150 rpm selama 24 jam
- Diukur konsentrasi vanadium (V) yang terakumulasi dalam bakteri dengan menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)

Hasil

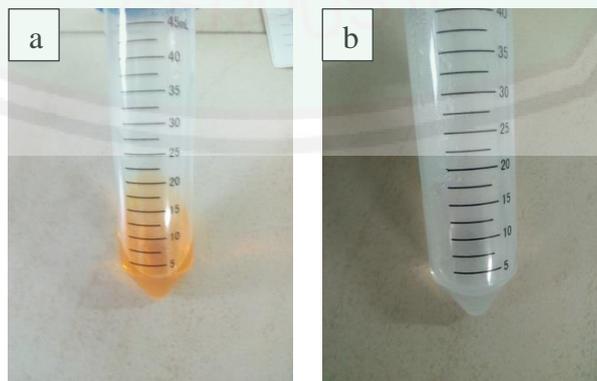
Lampiran 2. Persiapan Sediaan Larutan Stok Vanadium

1. Pembuatan larutan stok Sodium Orthovanadate (Na_3VO_4) 100 mM

Massa Molar dari Sodium Orthovanadate adalah 183 gr/mol

$$\begin{aligned}
 1\text{M} &= 1000 \text{ mM} = 183 \text{ gr/L} \\
 100 \text{ mM} &= \frac{183 \text{ g/L}}{10} \\
 &= 18,3 \text{ g/L (dalam 1000 mL)} \\
 100 \text{ mL} &= \frac{18,3 \text{ g}}{10} \\
 &= 1,83 \text{ g} \\
 25 \text{ mL} &= \frac{1,83}{4} \\
 &= 0,4575 \text{ g (dalam 25 mL)}
 \end{aligned}$$

Cara pembuatan larutan stok Vanadium (Na_3VO_4) 100 mM dalam 25 mL yaitu dengan memasukkan sebanyak 0,4575 gr Sodium Orthovanadate (Na_3VO_4) ke dalam tabung ependorf dan ditambah dengan aquades sebanyak 10 mL dihomogenkan kemudian dipanaskan ke dalam beaker glass yang berisi air. Secara bertahap diukur pH menggunakan kertas pH. Jika asam ditambah dengan larutan NaOH sementara jika basa ditambah dengan Hcl sampai pH larutan vanadium menjadi 7 dan berwarna bening. Setelah bening dan pH 7 larutan dibiarkan selama 1 hari. Jika berubah warna dipanaskan kembali sampai larutan tetap bening atau tidak berwarna.



Keterangan: Pembuatan larutan stok vanadium (Na_3VO_4) a) larutan stok pada saat belum jadi masih dalam keadaan asam pH 4 b) hasil larutan stok yang sudah jadi warna bening pH 7.

2. Perhitungan Konsentrasi Vanadium dalam HMC Agar

Perhitungan konsentrasi Vanadium dalam media HMC agar dapat dilakukan melalui rumus pengenceran sebagai berikut:

$$M1.V1=M2.V2$$

Keterangan:

M1 = Konsentrasi larutan stok V sodium orthovanadate (Na_3VO_4)

M2 = Konsentrasi Vanadium yang digunakan untuk perlakuan

V1 = Volume larutan yang diambil dari larutan stok V sodium orthovanadate (Na_3VO_4)

V2 = Volume total pada cawan petri (100 ml)

0 mM	5 mM	10 mM
100 ml media HMC agar tanpa penambahan logam vanadium (V)	$M1 \cdot V1 = M2 \cdot V2$ $100 \cdot V1 = 5 \cdot 100$ $100 \cdot V1 = 500$ $V1 = 500/100$ $= 5 \text{ ml}$ Media HMC = 100 – 5 $= 95 \text{ ml}$	$M1 \cdot V1 = M2 \cdot V2$ $100 \cdot V1 = 10 \cdot 100$ $100 \cdot V1 = 1000$ $V1 = 1000/100$ $= 10 \text{ ml}$ Media HMC = 100 – 10 $= 90 \text{ ml}$

3. Perhitungan Konsentrasi Logam pada Uji Resistensi Difusi Kertas Cakram

Cakram dimasukkan ke dalam tabung endorf yang berisi logam vanadium sebanyak 5 ml dengan konsentrasi 5 mM, 10 mM, 15 mM, dan 20 mM dengan perhitungan sebagai berikut:

5 mM	10 mM
$M1 \cdot V1 = M2 \cdot V2$ $100 \cdot V1 = 5 \cdot 5$ $100 \cdot V1 = 25$ $V1 = 25/100$ $= 0,25 \text{ ml}$	$M1 \cdot V1 = M2 \cdot V2$ $100 \cdot V1 = 10 \cdot 5$ $100 \cdot V1 = 50$ $V1 = 50/100$ $= 0,5 \text{ ml}$

15 mM	20 mM
$M1 \cdot V1 = M2 \cdot V2$ $100 \cdot V1 = 15 \cdot 5$ $100 \cdot V1 = 75$ $V1 = 75/100$ $= 0,75 \text{ ml}$	$M1 \cdot V1 = M2 \cdot V2$ $100 \cdot V1 = 20 \cdot 5$ $100 \cdot V1 = 100$ $V1 = 100/100$ $= 1 \text{ ml}$

4. Pembuatan Media Bioakumulasi Vanadium (V) (30ml)

Konsentrasi vanadium (V) yang digunakan yaitu 0 μM , 200 μM , dan 500 μM sebanyak 3x ulangan (10 ml/perlakuan)

Larutan stok vanadium 100 mM

$$200 \mu\text{M} = 200 \times 10^{-3} \text{ mM}$$

$$= 0,2 \text{ mM}$$

$$200 \mu\text{M} = 500 \times 10^{-3} \text{ mM}$$

$$= 0,5 \text{ mM}$$

200 μM	500 μM
$M1 \cdot V1 = M2 \cdot V2$ $100 \cdot V1 = 0,2 \cdot 30$ $V1 = 0,06 \text{ mL} = 60 \mu\text{l}$	$M1 \cdot V1 = M2 \cdot V2$ $100 \cdot V1 = 0,5 \cdot 30$ $V1 = 0,15 \text{ mL} = 150 \mu\text{l}$

Konsentrasi	Media	Vanadium	Bakteri	Total
0 μM	29,7 ml	0	0,3 ml	30 ml
200 μM	29,64 ml	0,06 ml	0,3 ml	30 ml
500 μM	29,55 ml	0,15 ml	0,3 ml	30 ml

Volume bakteri : Media = 1:99

5. Konversi ppm ke milimolar (mM)

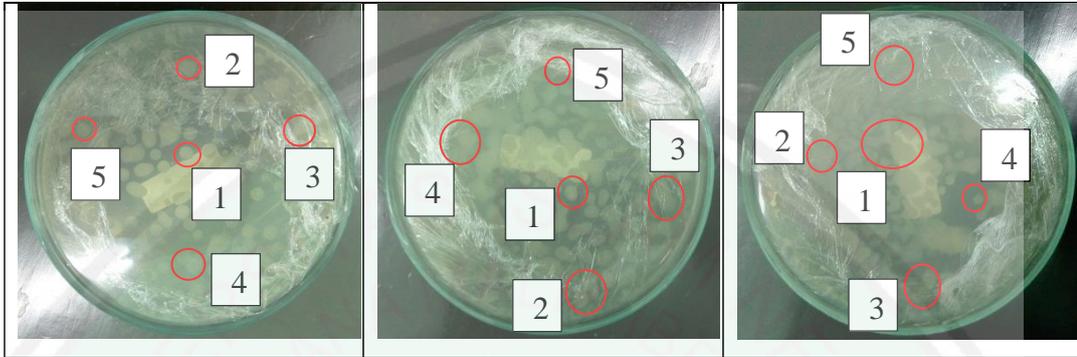
Ppm = Mg/L

M = mol/L

Contoh: 16,58 ppm

Lampiran 3. Hasil Pengamatan Bakteri Resisten Vanadium dari Limbah Cair Tambang Minyak Wonocolo

1. Pengamatan Mikroskopik Koloni Bakteri

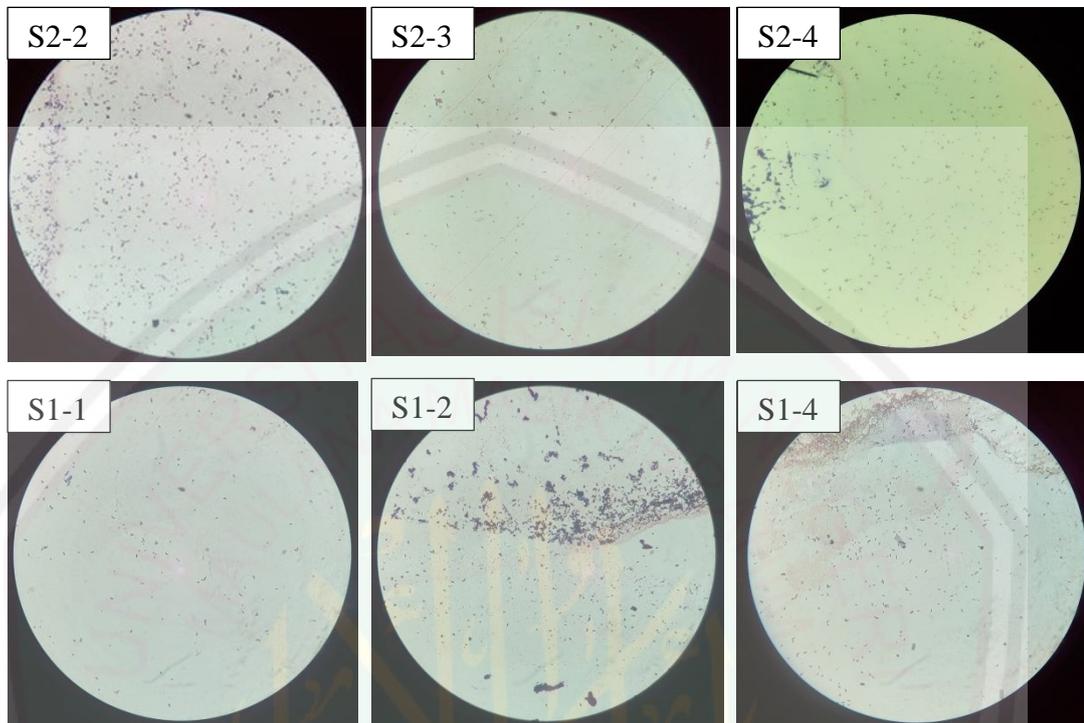


Keterangan: hasil isolasi ke 15 isolat bakteri resisten vanadium (V) yang tumbuh dalam media HMC dengan konsentrasi vanadium (V) 10 mM.

Tabel Karakter makroskopik koloni bakteri resisten vanadium (V) dari limbah cair tambang minyak Wonocolo

Kode bakteri	Makroskopik Koloni Bakteri			
	Warna	Bentuk	Permukaan	Tepi
S1-1	Cream	Circular	Flat	Rata
S1-2	Cream	Irregular	Flat	Berombak
S1-3	Cream	Irregular	Flat	Berombak
S1-4	Cream	Irregular	Flat	Berombak
S1-5	Cream	Circular	Flat	Rata
S2-1	Cream	Circular	Flat	Rata
S2-2	Cream	Irregular	Flat	Berombak
S2-3	Cream	Irregular	Flat	Berombak
S2-4	Cream	Irregular	Flat	Berombak
S2-5	Cream	Irregular	Flat	Rata
S3-1	Cream	Irregular	Flat	Berombak
S3-2	Cream	Irregular	Flat	Berombak
S3-3	Cream	Irregular	Flat	Berombak
S3-4	Cream	Circular	Flat	Rata
S3-5	Cream	Irregular	Flat	Berombak

2. Pemurnian Bakteri dan Pengamatan Mikroskopik Bentuk Sel Bakteri



Keterangan: Sebagian hasil pengamatan bentuk sel basilus dan cocus bakteri resisten vanadium (V) dari limbah cair minyak bumi.

Penamaan **S2-4** hal ini menunjukkan **S** (Sampel isolasi), angka awal **2** (menunjukkan ulangan ke-2), dan angka **-4** (pengambilan isolat ke-4 dari cawan isolasi).

Tabel Karakter Mikroskopik bentuk sel isolat bakteri resisten vanadium (V) dari limbah cair minyak bumi Wonocolo

Kode isolat	Pewarnaan gram	Bentuk sel bakteri	Kode isolat	Pewarnaan gram	Bentuk sel bakteri
S1-1	Positif	Cocus	S2-4	Positif	Batang
S1-2	Positif	Cocus	S2-5	Positif	Batang
S1-3	Positif	Batang	S3-1	Positif	Batang
S1-4	Positif	Cocus	S3-2	Positif	Batang
S2-1	Positif	Cocus	S3-4	Positif	Batang
S2-2	Positif	Batang	S3-5	Positif	Cocus
S2-3	Positif	Batang			

Lampiran 4. Hasil Pengamatan Zona Hambat Bakteri terhadap Berbagai Konsentrasi Logam Vanadium

Kode bakteri		Zona hambat dalam mm			
		5 mM	10 mM	15 mM	20 mM
S1-4	1		3,9		
	2		2,7		
	Rata2		3,3		
S3-4	1				
	2				
	Rata2				
S3-5	1	1,1	1,4	1,3	1,7
	2	1,3	1,9	1,7	2,8
	Rata2	1,2	1,65	1,5	2,25
S3-2	1				
	2				
	Rata2				
S2-4	1	2,4	1,3	1,4	0,3
	2	2,5	0,55	1,2	
	Rata2	2,45	0,925	1,3	0,3
S2-2	1	2,2	1	0,6	1,1
	2	1,5	-	-	1,75
	Rata2	1,85	1	0,6	1,425
S2-5	1	1,4	3,7	1,55	1,7
	2	1,6	3,9	1,3	1,9
	Rata2	1,5	3,8	1,425	1,8
S2-3	1				
	2				
	Rata2				
S1-2	1	1,4	0,9	1,1	1
	2				
	Rata2	1,4	0,9	1,1	1
S3-1	1		1,9		
	2				
	Rata2		1,9		
S2-1	1				
	2				
	Rata2				
S1-1	1	1,75	1,2	3,1	2,2
	2	1,5	2,4		2,1
	Rata2	1,625	1,8	3,1	2,15
S1-3	1		1,3		
	2		1,4		
	Rata2		1,35		

**Lampiran 5. Hasil Identifikasi Isolat Bakteri Resisten Vanadium (V)
Menggunakan Kit *Microbact***



**UNIT LAYANAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Kampus C Mulyorejo Surabaya (60115) Telephon 62 – 31 5936501, Faks 62 – 31 5926804, 5936502
E-mail : unitlayanan.biologiua@gmail.com

Tabel hasil karakteristik pengamatan kode Isolat 1

No.	Karakteristik	Hasil Pengamatan
1	Oxidase	+
2	Motilitas	+
3	Nitrate	+
4	Lysine	-
5	Ornithine	-
6	H ₂ S	-
7	Glucose	+
8	Mannitol	-
9	Xylose	-
10	ONPG	+
11	Indole	-
12	Urease	+
13	VP	+
14	Citrate	-
15	TDA	-
16	Gelatin	-
17	Malonate	-
18	Inositol	-
19	Sorbitol	-
20	Rhamnose	-
21	Sucrose	-
22	Lactose	-
23	Arabinose	-
24	Adonitol	-
25	Raffinose	-
26	Salicin	-
27	Arginine	-
28	Pewarnaan Gram	Positif
29	Bentuk	Batang

Hasil identifikasi menunjukkan bahwa bakteri teridentifikasi spesies *Bacillus mycoides* dengan persen probabilitas 78,57 %.



**UNIT LAYANAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

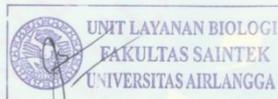
Kampus C Mulyorejo Surabaya (60115) Telephon 62 – 31 5936501, Faks 62 – 31 5926804, 5936502
E-mail : unitlayan.biologiua@gmail.com

Hasil pengujian bakteri Gram positif dilakukan dengan penghitungan koefisien sebanding. Hasil uji morfologi dan fisiologi bakteri *Bacillus* digunakan untuk menentukan presentase koefisien sebanding (Ss) yang mencakup kesamaan positif dan negatif dari karakter masing-masing spesies bakteri dari genus *Bacillus* (Stanier *et al.*, 1986).

Surabaya, 28 Maret 2018

Mengetahui,
Sekretaris Departemen Biologi,

Bagian Analisis,



Dr. Junairiah, S.Si., M.Kes.
NIP. 197107142002122002

Dr. Ni'matuzahroh
NIP. 196801051992032003

**Lampiran 6. Hasil Pengukuran Kadar Vanadium pada Limbah cair
Tambang Minyak Wonocolo**

BALAI PENELITIAN DAN KONSULTASI INDUSTRI
LABORATORIUM
PENELITIAN DAN KONSULTASI INDUSTRI
SURABAYA – JAWA TIMUR

REPORT

Certificate of Analisis

No	:07039 /KI/IX-2017
Code	: Penelitian
Sample Sender	: Mhs. UIN Malang
Sample Name	: Limbah cair M Bumi
Test	: Vanadium
Sample Brand	:
Sample Identity	: Cairan keruh
Sample Accepted	: 20 Sept.2017

Chemical laboratory test result is :

Kadar Vanadium : 16,58 ppm

Surabaya, 27 Sept. 2017
Head of Chemical Laboratory Researcher

M. Fatoni
M. Fatoni, M.S.

Laboratory Office Jl. Ketintang Baru XVII no 14
Telp 08155151337, Bank BCA – Bank Jatim
Surabaya

Lampiran 7. Hasil Pengukuran Bioakumulasi Vanadium oleh Isolat Bakteri Resisten Vanadium Terpilih

BALAI PENELITIAN DAN KONSULTASI INDUSTRI
LABORATORIUM
PENELITIAN DAN KONSULTASI INDUSTRI
SURABAYA – JAWA TIMUR



REPORT

Certificate of Analysis

No : 07289/KI/III-2018
 Code : Penelitian
 Sample Sender : Mhs. Bio UIN Malang
 Sample Name : Lar. Vanadium
 Test : Kadar Vanadium
 Sample Brand :
 Sample Identity : Cairan jernih
 Sample Accepted : 8 Maret 2018

Chemical laboratory test result is :

Vanadium		
Kode	micromol/jmhl.bakt.	micromol/gr bakteri
500 1.	281,3 micromol/0,38g	737,8 micromol/g
2.	270,5 micromol/0,35 g	759,8 micromol/g
3.	268,8 micromol/0,37g	734,4 micromol/g
200 1.	105,8 micromol/0,374g	282,8 micromol/g
2.	110,5 micromol/0,366g	310,4 micromol/g
3.	120,1 micromol/0,360g	334,1 micromol/g
0 1.	1,85 micromol/0,35 g	5,2 micromol/g
2.	2,31 micromol/0,36 g	6,4 micromol/g
3.	2,18 micromol/0,34g	5,3 micromol/g



Surabaya, 15 Maret 2018

Head of Chemical Laboratory Researcher

Drs M. Fatoni, M.S.

Laboratory Office Jl. Ketintang Baru XVII no 14
 Telp 08155151337, Bank BCA – Bank Jatim
 Surabaya

Jumlah vanadium (V) yang terakumulasi dalam sel bakteri dapat dinyatakan dalam berat basah dan berat kering bakteri. Kemampuan bioakumulasi vanadium (V) pada isolat bakteri S2-4 yaitu:

Tabel jumlah vanadium (V) yang terakumulasi oleh isolat bakteri S2-4 (mM/g)

Konsentrasi vanadium (V)	Jumlah vanadium (V) terakumulasi (mM/g \pmSE)	Presentase bioakumulasi vanadium (V)
0 μ M	5,63 \pm 0,384	0 %
200 μ M	309,1 \pm 14,823	152,55 %
500 μ M	744 \pm 7,96	1488,8 %



Lampiran 8. Hasil Analisis Statistik Uji Bioakumulasi Vanadium Berdasarkan Berat Basah Bakteri

1. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		akumulasi
N		9
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	129,2600
	Std. Deviation	118,33293
Most Extreme Differences	Absolute	,214
	Positive	,198
	Negative	-,214
Test Statistic		,214
Asymp. Sig. (2-tailed)		,200 ^{c,d}

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

akumulasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4,654	2	6	,060

3. Uji Anova

ANOVA

akumulasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	111823,177	2	55911,588	1691,848	,000
Within Groups	198,286	6	33,048		
Total	112021,463	8			

4. Uji Duncan

akumulasi

Duncan^a

konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	2,1133		
200	3		112,1333	
500	3			273,5333
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 9. Hasil Analisis Statistik Uji Bioakumulasi Vanadium Berdasarkan Berat Kering Bakteri

1. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		akumulasi
N		9
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	352,9111
	Std. Deviation	321,73647
Most Extreme Differences	Absolute	,215
	Positive	,193
	Negative	-,215
Test Statistic		,215
Asymp. Sig. (2-tailed)		,200 ^{c,d}

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

akumulasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,970	2	6	,127

3. Uji Anova

ANOVA

akumulasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	826415,362	2	413207,681	1458,803	,000
Within Groups	1699,507	6	283,251		
Total	828114,869	8			

4. Uji Duncan

akumulasi

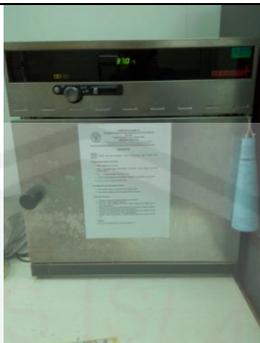
Duncan^a

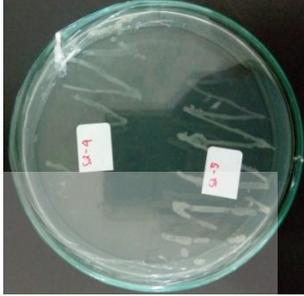
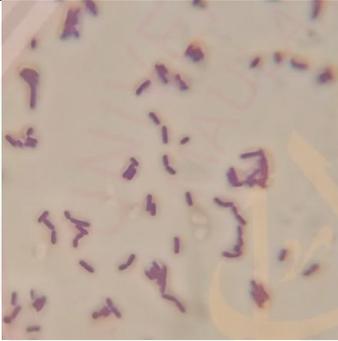
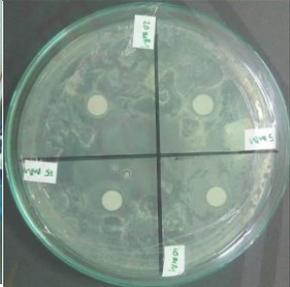
konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	5,6333		
200	3		309,1000	
500	3			744,0000
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

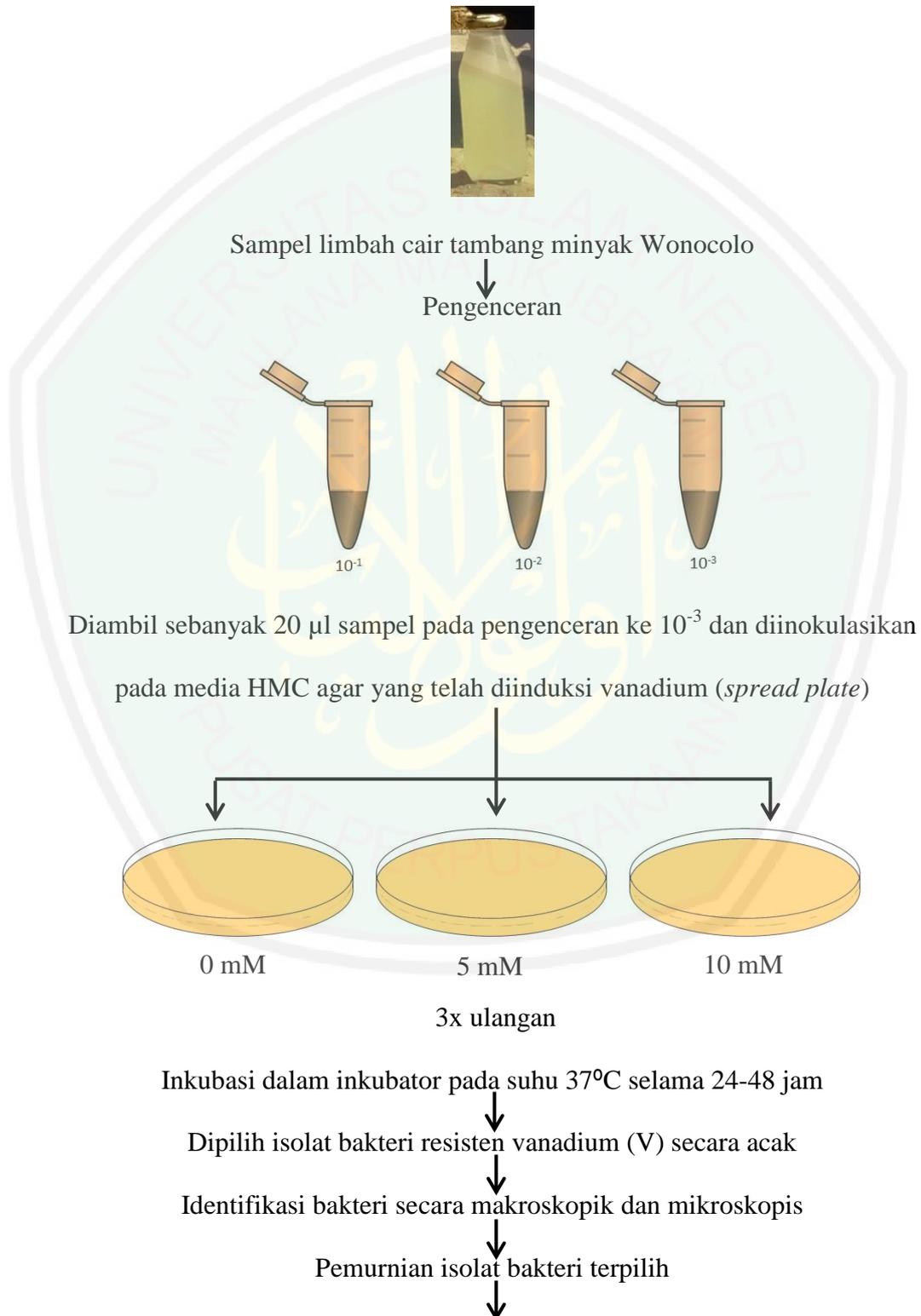
Lampiran 10. Dokumentasi Penelitian

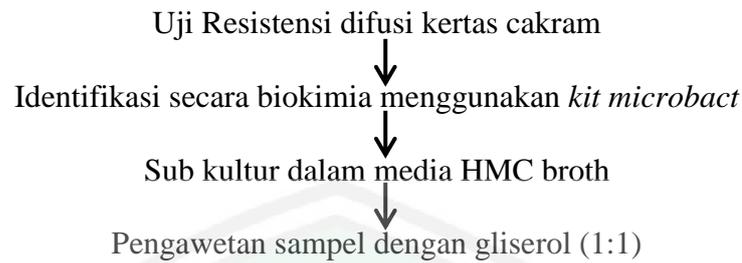
 <p>Gambar 1. Autoklaf</p>	 <p>Gambar 2. Inkubator</p>	 <p>Gambar 3. Shaker inkubator</p>
 <p>Gambar 4. Neraca analitik</p>	 <p>Gambar 5. Laminar Air Flow (LAF)</p>	 <p>Gambar 6. Oven</p>
 <p>Gambar 7. Hot plate</p>	 <p>Gambar 8. Vortex</p>	 <p>Gambar 9. Mikroskop</p>
 <p>Gambar 10. Lokasi pengambilan sampel</p>	 <p>Gambar 11. Pengambilan sampel limbah cair minyak bumi</p>	 <p>Gambar 12. Pembuatan larutan stok sodium orthovanadate</p>

 <p>Gambar 13. Isolasi Bakteri</p>	 <p>Gambar 14. Koloni bakteri yang tumbuh pada perlakuan 10 mM ulangan 1</p>	 <p>Gambar 15. Pemurnian bakteri secara <i>continuous streak</i></p>
 <p>Gambar 16. Hasil pewarnaan gram isolat S2-4</p>	 <p>Gambar 17. Uji <i>minimum inhibitory concentration</i></p>	 <p>Gambar 18. Zona hambat yang terdapat dalam uji Resistensi</p>
 <p>Gambar 19. Hasil identifikasi bakteri dengan kit <i>Microbact</i></p>	 <p>Gambar 20. Pemisahan supernatan dan pelet dalam uji bioakumulasi</p>	 <p>Gambar 21. Pengukuran bioakumulasi dengan SSA</p>

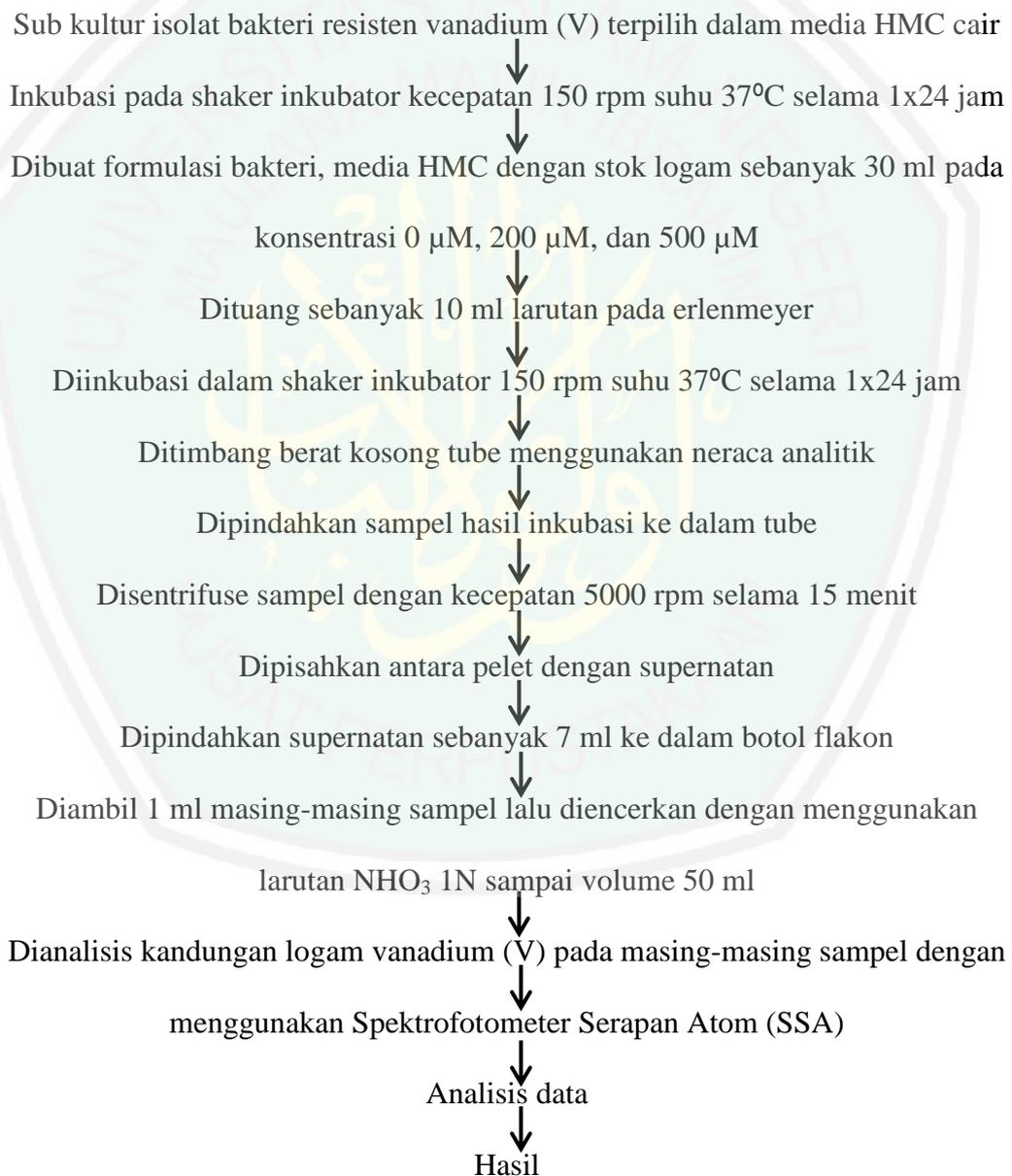
Lampiran 11. Prosedur Penelitian

1. Isolasi bakteri resisten vanadium (V)





2. Uji bioakumulasi isolat bakteri resisten vanadium (V) terpilih





KEMENTERIAN AGAMA
 UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
 FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
 JURUSAN BIOLOGI
 Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Muhammad Hsanuddin
 NIM : 13620073
 Program Studi : S1 Biologi
 Semester : Ganjil/ Genap TA.....
 Pembimbing : Romaidi, M. Si., D.Sc
 Judul Skripsi :

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	02 November 2016	Konsultasi Judul Skripsi	<i>[Signature]</i>
2.	5 Januari 2017	Konsultasi BAB I	<i>[Signature]</i>
3.	15 Februari 2017	Revisi BAB I, konsul BAB III	<i>[Signature]</i>
4.	16 Maret 2017	Konsultasi BAB II	<i>[Signature]</i>
5.	21 Mei 2017	Revisi BAB I, II dan III	<i>[Signature]</i>
6.	17 April 2018	Konsultasi IV	<i>[Signature]</i>
7.	4 Mei 2018	Konsultasi BAB IV dan V	<i>[Signature]</i>
8.	23 Juni 2018	Revisi BAB IV dan V	<i>[Signature]</i>
9.	31 Agustus 2018	Konsul Naskah Skripsi I, II, III, IV & V	<i>[Signature]</i>
10.	31 Agustus 2018	ACC Naskah	<i>[Signature]</i>

Pembimbing Skripsi,

[Signature]
 Romaidi, M. Si., D.Sc
 NIP.

Malang, 2 September 2018
 Ketua Jurusan

 ROMADI, M. Si., D. Sc
 NIP 19810201 200901 1 019



