

**OPTIMALISASI BIOSORPSI OLEH FUNGI ENDOFIT AKAR *Tridax procumbens* DARI TANAH TERCEMAR TEMBAGA (Cu) DI
PERTAMBANGAN MINYAK, BOJONEGORO, JAWA TIMUR**

SKRIPSI

Oleh:

ATIK YULIA EKAWATI

NIM. 15620085



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2019

**OPTIMALISASI BIOSORPSI OLEH FUNGI ENDOFIT AKAR *Tridax procumbens* DARI TANAH TERCEMAR TEMBAGA (Cu) DI
PERTAMBANGAN MINYAK, BOJONEGORO, JAWA TIMUR**

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:

ATIK YULIA EKAWATI

NIM. 15620085

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2019

**OPTIMALISASI BIOSORPSI OLEH FUNGI ENDOFIT AKAR *Tridax procumbens* DARI TANAH TERCEMAR TEMBAGA (Cu) DI
PERTAMBANGAN MINYAK, BOJONEGORO, JAWA TIMUR**

SKRIPSI

Oleh:

ATIK YULIA EKAWATI

NIM. 15620085

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:

Tanggal: 7 November 2019

Pembimbing I,

Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si

NIP. 19650509 199903 2 002

Pembimbing II,

Dr. Ahmad Barizi, M.A

NIP. 19731212 199803 1 008

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M.Si., D.Sc

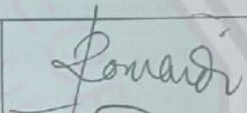
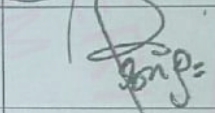
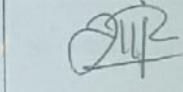
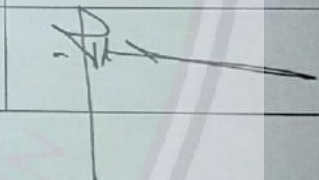
NIP.19810201 200901 1 019

OPTIMALISASI BIOSORPSI OLEH FUNGI ENDOFIT AKAR *Tridax procumbens* DARI TANAH TERCEMAR TEMBAGA (Cu) DI PERTAMBANGAN MINYAK, BOJONEGORO, JAWA TIMUR

SKRIPSI

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

Tanggal: November 2019

Penguji Utama	Romaidi, M.Si., D.Sc NIP. 19810201 200901 1 019	
Ketua Penguji	Prilya Dewi Fitriyani, M.Sc NIPT. 1990042820160801 2 062	
Sekretaris Penguji	Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si NIP.19650509 199903 2 002	
Anggota Penguji	Dr. Ahmad Barizi, M.A NIP. 19731212 199803 1 008	

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M.Si., D.Sc

NIP.19810201 200901 1 019

PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Atik Yulia Ekawati
NIM : 15620085
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi /Biologi
Judul Penelitian : Optimalisasi Biosorpsi oleh Fungi Endofit Akar *Tridax Procumbens* dari Tanah Tercemar Tembaga (Cu) di Pertambangan Minyak, Bojonegoro, Jawa Timur

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 mempertanggung jawabkan serta diproses sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Malang, November 2019

Yang Membuat Pernyataan



Atik Yulia Ekawati

NIM. 15620085

MOTTO

**Sesungguhnya bersama kesulitan pasti ada kemudahan
(QS. Al-Insyirah 5 &6)**

**Learn for, yesterday, live for today, hope for tomorrow. The important
thing is not to stop questioning (Albert Einstein)**

**Bermimpilah seakan kau akan hidup selamanya. Hiduplah seakan
kau akan mati hari ini (James Dean)**

**Malamnya tidur dan bermimpi. Paginya bangun dan mengejar mimpi
(Fiersa Besari)**

HALAMAN PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillah puji syukur atas kehadiran Allah SWT. Kupersembahkan sebuah karya kecil kepada orang-orang tersayang dan paling berpengaruh di dalam hidup saya terkhusus pada kedua orang tua tercinta Bapak Sukardi dan Ibu Suemi yang tiada hentinya telah memberikan semangat, doa, nasehat dan materi atas kelancaran skripsi ini. Doa di setiap sujud sholatmu tak lupa menyebut nama kedua anakmu, semoga Allah SWT menghadiahkan surga untukmu. Tak lupa kepada adek tercinta Dhafa Ardian Dwi Satriya terima kasih telah menghibur kakakmu, meberikan dorongan dan semangat.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayahnyalah penulis mampu menyelesaikan skripsi ini dengan berjudul “**Optimalisasi Biosorpsi oleh Fungi Endofit Akar *Tridax Procumbens* dari Tanah Tercemar Tembaga (Cu) di Pertambangan Minyak, Bojonegoro, Jawa Timur**”. Sholawat serta salam tak lupa terpanjatkan kepada Nabi besar Muhammad SAW yang memberikan bimbingan menuju jalan yang rahmatal lil alamin.

Penyusunan skripsi ini tentu tidak mampu terselesaikan jika tidak adanya bimbingan, arahan, dukungan dan support dari berbagai pihak. Ucapan terima kasih penulis ucapkan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abd. Haris, M. Ag. Selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M. Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si., D.Sc, selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus dosen kedua penguji yang memberikan pengarahan dan bimbingan kepada penulis akan penelitian skripsi ini.
4. Dr. Hj Ulfah Utami, M.Si, dan Dr. Ahmad Barizi, M.A selaku dosen pembimbing yang sudah bersabar, memberikan bimbingan dan pengarahan kepada penulis akan penyusunan skripsi ini.

5. Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc selalu dosen penguji skripsi yang telah memberikan saran, nasehat dan kritiknya untuk kelancaran penusunan skripsi ini.
6. Seluruh dosen, laboran, staf di jurusan biologi yang membantu memberikan kemudahan, terimakasih atas ilmu yang telah diberikan selama kurang lebih 4 tahun ini.
7. Kedua orang tua tercinta Bapak Sukardi dan Ibu Suemi serta adikku Dhafa Ardian yang selalu mendoakan dan memberi support kepada penulis.
8. Teman-teman Biologi C 2015, tim Mikro (Ina, Devi, Septian, Malik, Anita), mbak Inna, sahabatku (Lila, Warda, dan Sakho) terima kasih telah menemaniku, mensupportku, mengiburku, dan membantuku, dan mendoakanmu semoga kesuksesan menjadi hadiah kalian nanti.
9. Sahabat kecilku Nisa dan Arip terima kasih atas doa yang kalian khususkan kepadaku.
10. Adek-adek angkatan 2016 dan 2017 terima kasih supportnya, semoga penelitian ini memberikan manfaat untuk kalian.

Penulis berharap semoga skripsi ini memberi manfaat kepada pembacanya.
Aamiin.

Malang, November 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	xvii
البحث ملخص	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	9
1.3 Tujuan Penelitian	10
1.4 Hipotesis	10
1.5 Manfaat Penelitian	10
1.6 Batasan Masalah	11
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	12
2.1 Ekologi dalam Prespektif Islam	12
2.2 Pertambangan Minyak Desa Wonocolo	13
2.2.1 Pencemaran Logam Berat pada Pertambanagan Minyak	14
2.3 Tembaga	16
2.3.1 Toksisitas Tembaga (Cu)	17
2.4 Fungi Endofit	18
2.4.1 Karakteristik Fungi	20

2.4.2 Karakteristik Genus <i>Aspergillus</i>	22
2.4.3 Karakteristik Isolat I1 dan I2 Fungi Endofit	23
2.4.4 Fase Pertumbuhan	27
2.5 Biosorpsi	28
2.6 Mekanisme Toleransi Ion Tembaga oleh Fungi	30
2.6.1 Mekanisme Biosorpsi	31
2.6.2 Adsorpsi (<i>Passive Uptake</i>)	32
2.6.3 Absorpsi (<i>Active Uptake</i>)	34
2.7 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Biosorpsi	35
2.8 Pengujian Kadar Cu dengan Spektrofotometer UV-Vis	37
BAB III METODE PENELITIAN	40
3.1 Rancangan Penelitian	40
3.2 Desain Penelitian	40
3.3 Waktu dan Tempat	41
3.4 Alat dan Bahan	41
3.4.1 Alat	41
3.4.2 Bahan	41
3.5 Prosedur Penelitian	42
3.5.1 Persiapan	42
3.5.1.1 Pembuatan Media PDA	42
3.5.1.2 Pembuatan Media PDB	42
3.5.1.3 Sterilisasi Alat dan Bahan	42
3.5.2 Permurnian Fungi Endofit	42
3.5.3 Pembuatan Larutan Induk $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1000 ppm	43
3.5.4 Pembuatan Larutan Na-DDTK 1%	43
3.5.5 Pembuatan Kurva Kalibrasi Tembaga (Cu)	43
3.5.6 Uji Biosorpsi Tembaga (Cu)	43
3.5.7 Analisis Data	46
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	47
4.1 Kemampuan Toleransi Fungi Endofit <i>T. procumbens</i> terhadap logam Cu pada Perlakuan pH dan Konsentrasi yang Diberikan.....	47
4.2 Nilai pH dan Konsentrasi Biosorpsi Logam Cu Oleh Fungi	

Endofit Akar <i>T. procumbens</i> di Pertambangan Minyak Tradisional Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur	51
4.2.1 Nilai Ph Optimum dalam Proses Biosorpsi	51
4.2.2 Konsentrasi Optimum pada Proses Biosorpsi	55
BAB V PENUTUP	59
5.1 Kesimpulan	59
5.2 Saran	59
DAFTAR PUSTAKA	60
LAMPIRAN	67



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bentuk Hifa	21
Gambar 2.2 Karakteristik Isolat I2 secara makroskopis pada media PDA	24
Gambar 2.3 Karakteristik Isolat I2 secara mikroskopis pada media PDA	25
Gambar 2.4 Karakteristik Isolat I1 secara makroskopis pada media PDA	26
Gambar 2.5 Karakteristik Isolat I2 secara mikroskopis pada media PDA	27
Gambar 2.6 Representasi mekanisme utama resistensi tembaga dalam sel jamur	30
Gambar 2.7 Susunan Dinding Fungi	33
Gambar 2.8 Kompleksasi tembaga dan amina	34
Gambar 4.1 Prosentase Indeks Toleransi Isolat Fungi Endofit <i>Tridax procumbens</i> terhadap konsentrasi Cu	48
Gambar 4.2 Pertumbuhan miselian fungi endofit pada media PDB	50
Gambar 4.3 Efisiensi Biosorpsi Penghilangan Cu	52

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Karakteristik makroskopis dan mikroskopis I1 dan I2	23
Tabel 2.2 Spektrum cahaya tampak dan warna komplementer	38



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Peremajaan 2 isolat fungi endofit <i>T. procumbens</i>	68
Lampiran 2. Persiapan sediaan Larutan Stok $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	69
Lampiran 3. Persiapan Pembuatan Kurva Kalibrasi Cu	73
Lampiran 4. Uji Biosorpsi pada Logam Cu (200,300,400ppm)	74
Lampiran 5. Tabel Konsentrasi akhir Cu (ppm)	79
Lampiran 6. Tabel Prosentase efesiensi penghilangan Cu (Q%)	80
Lampiran 7. Tabel data indeks toleransi Cu	81
Lampiran 8. Tabel kapasitas biosorpsi Cu (Q_e)	83
Lampiran 9. Analisis data dengan SPSS	84

ABSTRAK

Ekawati, A. Yulia. 2019. Optimalisasi Biosorpsi oleh Fungi Endofit *Tridax procumbens* dari Tanah Tercemar Tembaga (Cu) di Pertambangan Minyak , Bojonegoro, Jawa Timur. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Biologi: Dr. Hj Ulfah Utami, M.Si,. Pembimbing Agama: Dr. Ahmad Barizi, M.A.

Kata kunci: Biosorpsi, Fungi Endofit, ,Toleransi, Tembaga (Cu)

Kontaminasi logam berat telah menjadi masalah serius, tingkat konsentrasi logam berat dapat menyebabkan toksisitas terhadap organisme biologis dan ketidakseimbangan alam. Desa Wonocolo merupakan salah satu desa di Bojonegoro yang memproduksi minyak bumi secara tradisional. Tembaga atau (Cu) adalah salah satu dari beberapa logam berat yang terakumulasi pada tanah tercemar pertambangan minyak bumi. Uji pendahuluan yang telah dilakukan di pertambangan minyak bumi di Desa Wonocolo berkisar antara 36.51-61.9 mg/kg. Kisaran kadar tersebut termasuk dalam kategori berbahaya, menurut Peraturan Energi dan Sumber Daya Mineral tahun 2006 kadar baku TCLP (*Toxicity Characteristic Leaching Procedure*) untuk Cu adalah 10 mg/kg. Berdasarkan penelitian Pratiwi (2019), bahwa 2 isolat dari fungi endofit tanaman *Tridax procumbens* L. berpotensi mengabsorpsi logam berat tembaga (Cu) dengan efisiensi biosorpsi 89.68% dan 85.44% dalam 200 ppm Cu. Tingkat efisiensi dalam penyerapan logam berat pada proses biosorpsi melibatkan beberapa faktor, salah satunya adalah nilai pH, suhu optimum dan kadar konsentrasi logam berat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui indeks toleransi, pH dan kadar konsentrasi logam berat untuk meningkatkan nilai efisiensi biosorpsi dan mengetahui kemampuan kedua isolat dalam mengabsorpsi logam Cu dari beberapa konsentrasi. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian deskripsi kuantitatif. Sampel fungi yang digunakan yaitu 2 isolat fungi dari akar *Tridax procumbens*. Parameter yang diamati adalah kemampuan biosorpsi dengan variasi pH (3,7,9) dan konsentrasi Cu (200,300,400) ppm. Analisa kandungan Cu dilakukan dengan Spektrofotometer UV-Vis. Hasil uji kuantitatif dianalisis menggunakan ANAVA. Jika berbeda nyata diuji lanjut dengan uji Post Hoc Tukey 95% menggunakan program SPSS. Hasil yang didapatkan bahwa isolat I1 memiliki tingkat toleransi tertinggi 68.40 % pada kondisi pH 3 (asam) dan 200 ppm Cu. Sedangkan kode I2 memiliki kemampuan biosorpsi Cu paling tinggi pada kondisi pH 3(asam) dengan kadar Cu akhir sebesar 6.54 ppm dengan prosentase biosorpsi sebesar 97.24% dibandingkan dengan isolat I1 pada konsentrasi 400 ppm.

ABSTRACT

Ekawati, A. Yulia. 2019. Optimization of Biosorption by *Tridax procumbens* Endophytic Fungi from Copper Polluted Land (Cu) in the Oil Mining, Bojonegoro, East Java. Thesis. Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Biology Advisor: Dr. Hj Ulfah Utami, M.Sc., Religious Counselor: Dr. Ahmad Barizi, M.A.

Keywords: Biosorption, Endophytic Fungi, Tolerance, Copper (Cu)

Heavy metal contamination has become a serious problem, the level of concentration of heavy metals can cause toxicity to biological organisms and natural imbalances. Wonocolo Village is one of the villages in Bojonegoro that produces oil traditionally. Copper or (Cu) is one of the several heavy metals that accumulates in oil-contaminated soils. Preliminary tests conducted at the petroleum mining in Wonocolo Village ranged from 36.51 to 61.9 mg / kg. The range of levels is included in the dangerous category, according to the Energy and Mineral Resources Regulation of 2006 the TCLP (Toxicity Characteristic Leaching Procedure) standard for Cu is 10 mg / kg. Based on Pratiwi's research (2019), that 2 isolates from the endophytic fungi of the *Tridax procumbens* L. plant have the potential to absorb heavy metal copper (Cu) with biosorption efficiency of 89.68% and 85.44% in 200 ppm Cu. The level of efficiency in the absorption of heavy metals in the biosorption process involves several factors, one of which is the pH value, optimum temperature and heavy metal concentration levels. This study aims to determine the tolerance index, pH and concentration of heavy metal concentrations to increase the biosorption efficiency and to determine the ability of the two isolates to absorb Cu metal from several concentrations. This research is an experimental study with quantitative description research design. The fungi samples used were 2 fungi isolates from *Tridax procumbens* roots. The parameters observed were biosorption ability with variations in pH (3,7,9) and concentration of Cu (200,300,400) ppm. Analysis of Cu content was performed with a UV-Vis spectrophotometer. Quantitative test results were analyzed using ANAVA. If it is significantly different, it is tested further with the Post Hoc Tukey 95% test using the SPSS program. The results obtained that the isolate I1 had the highest tolerance level of 68.40% under conditions of pH 3 (acidic) and 200 ppm. While the isolate I2 code has the highest Cu biosorption ability at pH 3 (acidic) with a final Cu level of 6.54 ppm with a biosorption percentage of 97.24% compared to isolate I1 at a concentration of 400 ppm.

ملخص البحث

إكواتي، أ. يوليو. 2019. التحسين الامتصاص الحيوي للفطريات النابت الداخلي تريداك فروكومبين (*Tridax procumbens*) التربة الملوثة من النحاس (Cu) في مناجم النفط بوجونيجورو، جاوة الشرقية. البحث الجامعي. قسم الأحياء ، كلية العلوم والتكنولوجيا ، جامعة مولانا مالك إبراهيم الحكومية الإسلامية مالانج. المشرفة: الدكتورة أوتمي، الحج الماجستير، و الدكتور أحمد باريزي، الماجستير

الكلمات الرئيسية: الامتصاص الحيوي، الفطريات الداخلية، التسامح ، النحاس (Cu) أصبح تلوث المعادن الثقيلة مشكلة كبيرة، يمكن أن يسبب مستوى تركيز المعادن الثقيلة سمية للكائنات البيولوجية والاختلالات الطبيعية. قرية وونوجولو هي واحدة من القرى في بوجونيجورو التي تنتج النفط تقليديا. النحاس أو (Cu) هو أحد المعادن الثقيلة الكثيرة التي تتراكم في التربة الملوثة بالنفط. قد قامت الاختبارات الأولية في تعدين في قرية وونوجولو بين 36.51 إلى 61.9 ملغم/كغم. تتضمن مجموعة المستويات في الفئة الخطرة، وفقًا لنظام الطاقة والموارد المعدنية لعام 2006 ، فإن معيار TCLP (*Toxicity Characteristic Leaching Procedure*) لـ Cu هو 10 ملغم/كجم. بناءً على بحث فراتيني (2019) ، فإن هذا العزلان من الفطرية الداخلية لمصنع تريداك فروكومبين لديها القدرة على امتصاص النحاس المعدني الثقيل (Cu) بكفاءة امتصاص حيوية تبلغ 89.68٪ و 85.44٪ في 200 جزء من المليون من النحاس. يتضمن مستوى الكفاءة في امتصاص المعادن الثقيلة في عملية الامتصاص الحيوي في عدة عوامل ، أحدها قيمة درجة الحموضة ودرجة الحرارة المثلى ومستويات تركيز المعادن الثقيلة. يهدف هذا البحث لأن يحدد مؤشر التسامح و درجة الحموضة وتركيزات المعادن الثقيلة لزيادة قيمة كفاءة الامتصاص الحيوي وتحديد قدرة كلا العزلة التي تمتص النحاس من التركيزات. هذا البحث هو دراسة تجريبية مع تصميم البحث الوصف الكمي. كانت عينات الفطريات من الفطريات المعزولة من جذور *Tridax procumbens* . المعلومات التي لوحظت هي قدرة الامتصاص الحيوي مع وجود اختلافات في قيم الهيدروجيني (pH) (3،7،9) وتركيز Cu (200، 300، 400 جزء في المليون). قام تحليل لمحتوى النحاس باستخدام مقياس الأشعة المرئية الطيفية. وقد قام تحليل نتائج الاختبار الكمي باستخدام أنافا. إذا كان مختلف كبير، فسيختبر من خلال اختبار Post Hoc Tukey 95٪ باستخدام برنامج SPSS دلت النتائج أن عزل I1 لها أعلى التسامح 68.40٪ في ظروف درجة الحموضة 3 (الحمضية) و 200 جزء في المليون من النحاس. في حين أن النمر I2 لديه أعلى قدرة إزالة للنحاس عند درجة الحموضة 3 (الحمضية) مع مستوى النحاس النهائي الذي يبلغ 6.54 جزء في المليون مع نسبة امتصاص حيوي بنسبة 97.24٪ مقارنة بعزل I1 في تركيز 400 جزء في المليون (ppm).

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kontaminasi logam berat dari tanah maupun air menjadi masalah serius yang harus ditangani. Tingginya konsentrasi logam berat pada suatu daerah berimbas kepada sifat toksisitas terhadap organisme biologis dan ketidakseimbangan alam, sebagaimana Allah SWT berfirman dalam surat ar Rum (30):41,

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

Artinya: *Telah nampak kerusakan di darat dan dilaut disebabkan karena perbuatan tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar) (QS. ar Rum (30):41).*

Berdasarkan arti surat diatas bahwa kata **الْفَسَادُ** dalam ayat tersebut berarti “kerusakan”. Tafsir al-Mishbah, *al-fasad* berarti keluarnya sesuatu dari keseimbangan. Keseimbangan tersebut dapat diartikan apabila suatu organisme dapat berinteraksi dengan baik dengan komponen lingkungan didalamnya (Shihab, 2002). Seperti yang terjadi di daerah penambangan minyak bumi tradisional Wonocolo yakni, lingkungan yang mulai tercemar karena tumpahnya minyak bumi pada proses pengolahan, produksi, distribusi maupun pengolahan yang kurang maksimal, menimbulkan komponen-komponen minyak bumi terlepas ke lingkungan dapat mengganggu keseimbangan lingkungan didaerah tersebut.

Surat ar-Rum ayat 41 menyebutkan kerusakan disebabkan oleh tangan manusia, artinya segala kerusakan yang ada di bumi baik darat atau laut merupakan hasil campur tangan dari manusia. Sebagai salah satu contoh kerusakan akibat tangan manusia di Indonesia adalah penambangan minyak bumi

tradisional di Wonocolo. Penambangan tradisional dengan mengesampingkan standar mutu atau tanpa penanganan yang baik harus cepat ditangani. Peningkatan konsentrasi logam di lingkungan, terutama logam berat mengakibatkan dampak yang cukup serius terhadap seluruh bentuk kehidupan. Bagi manusia toksisitas logam berat dapat berupa kerusakan jantung, hati, kanker, kelainan dan kerusakan sistem saraf. Pada tumbuhan toksisitas logam berat dapat menyebabkan memendeknya akar, gugurnya daun, klorosis, dan kekurangan nutrisi. Bagi mikroorganisme konsentrasi logam yang terlalu tinggi pada lingkungan dapat menurunkan atau menghambat pertumbuhan mikroba (Munir, 2006).

Desa Wonocolo adalah desa di Bojonegoro yang memproduksi minyak bumi pada skala yang kecil. Proses pengambilan minyak dilakukan secara tradisional dengan memproduksi minyak mencapai 25.771 liter perhari (Handrianto *et al*, 2012). Penambangan minyak tradisional di Desa Wonocolo menuai permasalahan, hal ini dikarenakan sistem pengelolaan ditangani secara tradisional. Pengelolaan minyak bumi secara tradisional menurut Tunggal (2012) merupakan suatu proses pengambilan minyak yang dilakukan oleh masyarakat di sekitar lokasi penambangan minyak dengan menggunakan alat yang sederhana. Aktivitas penambangan minyak yang dikelola secara tradisional ini menurut Dwiyanto (2007) merupakan proses mengeluarkan minyak mentah dari dalam perut bumi yang dilakukan oleh masyarakat lokal. Proses pengeluaran minyak tersebut menggunakan sistem tradisional dengan cara menimba menggunakan pipa. Penambangan di Desa Wonocolo dilakukan dengan peralatan sederhana dan menggunakan mesin truk untuk menarik pipa yang telah berisi minyak mentah. Akibat aktivitas penambangan ini pasti akan berdampak pada keadaan

lingkungan akibat dari kecerobohan manusia dalam proses pengangkutan minyak yang masih mengandalkan tenaga manusia menyebabkan minyak mentah dapat tercecer dan mencemari tanah atau pun sungai yang berada di lokasi penambangan. Aktivitas-aktivitas penambanangan ini lah yang nanti akan menuai permasalahan-permasalahan lingkungan antara lain pada proses pengeboran minyak bumi yakni sisa proses pengeboran berupa lumpur dari sisa saringan minyak langsung dibuang ke sungai (Naumi, 2015). Hal inilah yang pada akhirnya akan berdampak pada lingkungan sekitar dan membahayakan segala bentuk kehidupan dilingkungan sekitar.

Minyak bumi adalah sumber energi utama yang digunakan dalam rumah tangga, industri maupun transportasi. Komponen penyusun minyak bumi antara lain karbon sekitar 85% dan hidrogen 12% (hidrokarbon), serta 1-5% unsur nitrogen, fosfor, sulfur, oksigen, serta unsur logam lainnya (Koesmadinata, 1980). Unsur logam yang terkandung dalam minyak bumi dapat mencemari tanah, menguap, terbawa air hujan, atau masuk kedalam tanah yang lalu berubah menjadi zat-zat bersifat toksik yang mengakibatkan keracunan bagi makhluk hidup, mengganggu penyerapan cahaya untuk fotosintesis tumbuhan dan memengaruhi keseimbangan ekosistem sekitar (Rijal, 2017).

Tembaga (Cu) adalah salah satu dari beberapa logam berat yang terakumulasi pada tanah tercemar pertambangan minyak bumi. Cu merupakan logam nutrisi mikro esensial yang dibutuhkan organisme dalam kadar yang kecil, namun akan bersifat toksik jika terakumulasi dengan kadar tinggi (Ashish *et al*, 2013). Berdasarkan penelitian Ideriah *et al*, (2013) logam Cu yang terkandung pada tanah tercemar minyak bumi di Nigeria sebanyak 0.15-0.30 mg/kg.

Sedangkan uji pendahuluan yang telah dilakukan di kawasan pertambangan minyak bumi di Desa Wonocolo berkisar antara 36.51-61.9 mg/kg. Kisaran kadar tersebut termasuk dalam kategori berbahaya, hal ini karena melebihi kadar baku tetap menurut Peraturan Energi dan Sumber Daya Mineral tahun 2006 bahwa kadar baku *TCLP (Toxicity Characteristic Leaching Procedure)* untuk Cu adalah 10 mg/kg.

Pencemaran logam jenis tembaga termasuk salah satu bentuk kerusakan lingkungan, yang pada jangka waktu tertentu akan menimbulkan dampak negatif bagi kehidupan disekitarnya, sehingga dibutuhkan metode yang tepat untuk menanganinya. Menurut Angga (2009) bahwa bioremediasi adalah proses detoksifikasi bahan kimia berbahaya didalam tanah atau lingkungan lainnya dengan menggunakan mikroorganisme atau tanaman atau enzim mikroba. Mikroorganisme atau mikroba yang sering diujikan kedalam proses bioremediasi antara lain bakteri, fungi, khamir, dan algae. Dalam proses degradasi, mikroba menggunakan senyawa kimia yang beracun tersebut untuk pertumbuhan dan reproduksi melalui berbagai proses oksidasi (Munir, 2006). Pemanfaatan mikroorganisme sebagai agen bioremediasi memiliki prospek yang menjanjikan karena mikroorganisme diketahui dapat memecah molekul polutan melalui jalur metabolisme yang biasanya digunakan organisme untuk pasokan energi dan pertumbuhannya (Marimuthu *et al*, 2013).

Tumbuhan dan mikroorganisme sudah diujikan untuk menghilangkan kontaminasi lingkungan yang beracun, disebut sebagai remediasi biologi. Remediasi biologis oleh bakteri, fungi, ataupun jenis ganggang diyakini sebagai metode yang efektif untuk penghilangan logam berat. Hal ini dikarenakan proses

yang terjadi bersifat ramah lingkungan, biaya murah, dan diterima dengan baik oleh masyarakat (Ali *et al*, 2013). Dalam QS. An-Nahl ayat 13 Allah berfirman:

وَمَا ذَرَأَا لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَنًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَذَكَّرُونَ

Artinya: “dan Dia (menundukkan pula) apa yang Dia ciptakan untuk kamu di bumi ini dengan berlain-lain macamnya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran” (QS. An-Nahl: 13).

Tafsir Al-Jalalain Syuthi (2010) mengartikan bahwa apa yang Dia ciptakan adalah makhluk berupa hewan-hewan dan tumbuhan-tumbuhan serta lain-lainnya, seperti ada yang merah, kuning, hijau dan lain sebagainya. Karena sesungguhnya pada berbagai makhluk tersebut terdapat tanda kekuasaan Allah bagi kaum yang mengambil pelajaran. Oleh karena itu, berdasarkan arti surat diatas bahwa sesungguhnya Allah SWT telah menciptakan bermacam-macam bentuk makhluk hidup seperti tanaman gletang *Tridax procumbens* yang telah dikenal sebagai tanaman obat. Panchakarma (2014) menyebutkan bahwa *Tridax procumbens* L. merupakan ramuan obat yang umum dari keluarga Asteraceae. Biasanya digunakan sebagai obat tradisional untuk berbagai penyakit yang banyak didistribusikan secara luas di seluruh wilayah Asia.

Berdasarkan penelitian Pratiwi (2019) telah membuktikan bahwa 2 isolat dari fungi endofit tanaman *Tridax procumbens* L. berpotensi mengadsorpsi logam berat tembaga (Cu). Adsorpsi yang dilakukan dengan agen fungi merupakan jenis bioremediasi dalam bentuk mikoremediasi. Mikoremediasi dengan menggunakan agen fungi endofit dapat terjadi melalui proses biosorpsi. Menurut Ahmad (2018) biosorpsi merupakan rangkaian proses penghilangan logam berat yang dilakukan oleh agen mikroorganisme, dengan komponen dinding sel yang diekskresikan. Didalam prosesnya, proses ini terdiri beberapa komponen, yaitu *biosorben* dan

solven yang mengandung *sorbat* atau ion logam yang akan diserap (Ahalya *et al*, 2006). Selain itu, proses biosorpsi dipilih karena dalam proses ini mempunyai beberapa kelebihan, menurut Rao *et al* (2005) bahwa proses pemindahan logam biologis atau biosorpsi memiliki kelebihan yaitu prosesnya tidak menghasilkan lumpur kimia atau non-polusi, sangat selektif, lebih efisien, mudah dioperasikan, biaya efektif untuk perawatan besar volume air limbah.

Proses biosorpsi dipengaruhi oleh beberapa faktor untuk mencapai tingkat efisiensi penyerapan, salah satunya adalah nilai pH. Nilai derajat keasaman atau pH pada proses biosorpsi merupakan parameter yang sangat mempengaruhi kemampuan penyerapan logam. Hal ini dikarenakan keadaan pH pada media biosorpsi mempengaruhi kelarutan ion logam dan keadaan ionisasi fungsional kelompok penyusun dinding sel jamur (Arica *et al.*, 2003). Menurut Jasmidi (2001) bahwa berdasarkan proses yang terjadi, muatan ion positif yang ada pada logam berat dan muatan ion negatif pada mikroorganisme akan berinteraksi atau (pengikatan) yang disebabkan oleh adsorpsi logam berat. Adanya adsorpsi oleh mikroorganisme kemudian mengakibatkan terjadinya penurunan kadar pencemar dari logam berat. Oleh karena itu pada penelitian ini pH pada *solven* diatur dalam keadaan pH (3,7, dan 9) dimana tiap-tiap nilai pH yang diatur mewakili jenis pH asam, netral dan basa. Hal ini bertujuan agar dapat mengetahui nilai pH yang bekerja optimum dalam proses biosorpsi penghilangan logam Cu.

Fungi genus *Aspergillus* spp. adalah salah satu mikroorganisme yang telah sering diteliti berkaitan dengan potensinya sebagai agen biosorpsi logam berat. Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan Pratiwi (2019) bahwa kemampuan dua isolat fungi *Aspergillus* dari akar *T. procumbens* mampu mengurangi kadar

Cu pada larutan dengan efiseinsi biosorpsi sebesar 89.68% dan 85.44% dalam 200 mg/l tembaga tanpa pengaturan pH. Namun spesies dari genus *Aspergillus* lainnya, yaitu *Aspergillus flavus* menurut Shazia (2015) mengujikan pada kisaran pH 4-9. Berdasarkan kisaran nilai pH yang diberikan bahwa, penyerapan logam Cu maksimum terjadi pada kisaran pH 8-9 hingga mencapai efisiensi biosorpsi sebesar 97% dalam 100 mg/l tembaga. Potensi biosorpsi yang dipengaruhi oleh nilai pH pada penelitian Filipovic, *et al* (2000) bahwa spesies *Aspergillus niger* dalam proses biosorpsi yang dilakukan membuat kisaran nilai pH 2-7, berdasarkan hasilnya penyerapan Cu secara optimum dilakukan pada pH 5 (atau pH asam) dan mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya nilai pH. Hal ini menunjukkan bahwa genus *Aspergillus* telah terbukti memiliki potensi dalam mengabsorpsi logam berat, namun faktor pH ikut mempengaruhi biosorpsi logam berat Cu. Dari beberapa penelitian diatas, maka pengaturan nilai derajat keasaman pada solven sangat mempengaruhi tingkat pengikatan ion logam terhadap mikroorganisme.

Selain faktor nilai pH yang mempengaruhi tingkat efesiensi biosorpsi, faktor lingkungan lain yang mendukung proses penyerapan logam oleh biomassa atau biosorpsi adalah temperatur atau suhu. Faktor suhu menurut Listiarini (2006) dalam penelitiannya bahwa pengaruh yang terjadi akibat semakin tingginya suhu mengakibatkan penyerapan logam menjadi rendah. Hal ini terjadi akibat adanya degradasi kitin pada permukaan biomassa akibat suhu panas. Namun, kenaikan suhu juga menyebabkan bertambahnya reaktivitas dan difusifisitas ion dalam pori yang akan memperbanyak ion yang dapat terikat pada permukaan atau juga sebaliknya menyebabkan ion lebih mudah terlepas kembali dari ikatannya. Berdasarkan penelitian Shazia (2015) dalam penelitiannya menggunakan isolat

A. flavus dan *A.niger* dalam biosorpsi logam Cu dan Pb menggunakan retang suhu antara 22-37°C menghasilkan suhu optimum pada *A. flavus* terhadap Cu pada suhu 26°C, sedangkan *A. niger* pada Pb optimum pada suhu 37°C dengan masing-masing efesiensi penyerapan sebesar 40.8% dan 45.5%.

Rentang suhu pada proses biosorpsi logam Cu dengan isolat genus *Aspergillus* berdasarkan beberapa penelitian menyebutkan bahawa pada suhu kamar proses adsorpsi logam relatif lebih optimal dibandingkan dengan suhu yang tinggi. Hal ini menurut Akar (2006) bahwa kondisi optimum biosorpsi logam Pb dan Cu oleh *Aspergillus flavus* pada suhu 26°C. Filipovic, *et al* (2000) berdasarkan penelitiannya terhadap *Aspergillus niger* dalam mengadsorpsi logam Cr,Cu, Ni dan Zinc menggunakan suhu kamar $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan, suhu yang mendukung proses biosorpsi digunakan suhu ruang.

Konsentrasi logam juga merupakan faktor yang ikut memengaruhi proses biosorpsi. Biosorpsi akan mengalami peningkatan sejalan dengan naiknya konsentrasi logam berat yang diatur hingga mencapai fase kejenuhan. Kadar awal logam sangat memengaruhi transfer massa ion dan pertukaran ion logam berat. Kadar konsentrasi pertama logam berfungsi untuk mengatasi proses transfer massa ion dan akan memengaruhi tingkat efisiensi penyerapan. Sehingga tingkat penyerapan ion logam oleh biomassa mikroorganisme akan meningkat seiring dengan meningkatnya kadar logam yang diberikan. Tetapi, apabila kadar pertama yang tinggi dapat berakibat pada prosentase efisiensi penyerapan logam menjadi menurun. Hal ini disebabkan karena kemampuan biomassa dalam mengadsorpsi

sudah mencapai titik kesetimbangan dan situs pengikat telah menjadi jenuh (Rakhmawati, 2006 dalam Lapik, 2017).

Penelitian Iskandar *et al* (2011) menggunakan konsentrasi Cu 10-300 ppm dan menunjukkan fase kejenuhan yang dialami biosorben pada saat konsentrasi fungi lebih dari 200 ppm. Kejenuhan terjadi karena nilai kapasitas biosorpsi mengalami penurunan saat konsentrasi logam diatas 200 ppm. Berdasarkan Shazia (2015) perbedaan konsentrasi logam berat yang di pakai adalah 200-1400 ppm. *A. falvus* pada Cu dengan efesiensi biosorpsi 92% pada konsentrasi Cu 1400 ppm. Sedangkan *A. niger* efesiensi biosorpsi 87% pada konsentrasi Pb 1400 ppm. Yalcin *et al* (2010) menyarankan agar konsentrasi awal logam diatur lebih tinggi sebagai kekuatan pendorong untuk mengatasi resistensi perpindahan massa antara logam dan dinding sel jamur. Aksu and Tezer (2005) juga melaporkan bahwa jumlah tabrakan antara logam ion dan biosorben meningkat dengan meningkatnya konsentrasi logam yang digunakan dan dengan demikian, biosorpsi ditingkatkan. Namun, pada konsentrasi logam tertentu yang lebih tinggi, efesiensi biosorpsi menurun. Oleh karena itu dilakukan perbedaan konsentrasi logam 200,300, dan 400 ppm.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas, rumusan masalah pada penelitian ini antara lain,

1. Bagaimana tingkat toleransi isolat fungi endofit akar *T. procumbens* pertambangan minyak tradisional Desa Wonocolo, Bojonegoro dengan variasi pH dan konsentrasi logam Cu yang diberikan?

2. Berapa nilai pH dan konsentrasi optimum dalam mendukung proses biosorpsi logam Cu oleh isolat fungi endofit akar *T. procumbens* pertambangan tradisional minyak Desa Wonocolo, Bojonegoro?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk,

1. Mengetahui kemampuan toleransi isolat fungi akar *T. procumbens* pertambangan minyak tradisional Desa Wonocolo, Bojonegoro terhadap logam berat Cu dari berbagai perlakuan pH dan konsentrasi logam berat yang diberikan.
2. Mengetahui nilai pH dan konsentrasi optimum biosorpsi logam Cu oleh fungi endofit akar *T. procumbens* pertambangan minyak tradisional Desa Wonocolo, Bojonegoro.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini yaitu,

1. Diketahui isolat fungi endofit akar *T. procumbens* yang memiliki kemampuan toleransi paling tinggi terhadap Cu dengan perlakuan nilai pH dan perlakuan konsentrasi yang dibuat.
2. Diketahui isolat fungi endofit dari akar *T. procumbens* yang memiliki potensi penghilangan Cu paling tinggi dengan salah satu variasi nilai pH dan konsentasi yang optimum.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan manfaat antara lain,

1. Memberikan informasi kepada pembaca akan kemampuan isolat fungi endofit akar *T. procumbens* dalam mentoleransi logam berat Cu dari beberapa nilai pH dan perlakuan konsentrasi.
2. Memberikan informasi kepada pembaca akan nilai pH dan konsentrasi yang sesuai dalam proses biosorpsi logam berat Cu dari isolat fungi endofit akar *T. procumbens*.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini, antara lain :

1. Isolat yang digunakan dalam penelitian ini hasil isolasi akar tanaman Gletang (*T. procumbens*) yang diperoleh dari pertambangan minyak tradisional Desa Wonocolo, Bojonegoro.
2. Jenis variasi nilai pH yang digunakan meliputi (pH 3, 7, 9).
3. Jenis variasi konsentrasi logam yang digunakan adalah (200, 300, 400 ppm).
4. Digunakan alat Spektrofotometer UV-Vis untuk mengukur kadar logam Cu.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ekologi dalam Perspektif Islam

Ekologi adalah ilmu yang mempelajari tentang masalah lingkungan., yaitu hubungan atau interaksi antara lingkungan dan makhluk hidup. Definisi ekologi adalah ilmu yang mempelajari tentang hubungan timbal balik antara makhluk hidup pada kondisi alam disekitarnya. Berdasarkan definisi tersebut, kata utama mengenai ekologi ialah adanya hubungan timbal balik, hubungan antar makhluk hidup, dan hubungan antar makhluk hidup tersebut dengan lingkungan sekitarnya (Abdillah, 2001).

Berdasarkan perspektif Al-Quran, istilah ekologi diperkenalkan dengan berbagai bentuk atau istilah. Terdapat tiga belas macam term ekologi dalam Al-Qur'an, yaitu lingkungan hidup (*al-bi'ah*), seluruh alam (*al-'alamin*), langit atau jagad raya (*al-sama'*), bumi (*al-ard*), manusia (*al-insan*), fauna (*alan'am* atau *dabbah*), flora (*al-nabt* atau *al-harts*), air (*ma'*), udara (*al-rih*), matahari (*al-syams*), bulan (*al-qamar*), bintang (*al-buruj*), dan gunung (*jabal*). Keseluruhan istilah di atas merupakan istilah atau term dalam Al-Quran mengenai ekologi. Sehingga dapat disimpulkan bahwa konsep lingkungan hidup dalam perspektif Al-Quran memiliki makna yang luas, mencakup lingkungan hidup biotik dan abiotik (Zufikar, 2018).

Oleh sebab itu manusia, sebagai khalifah dimuka bumi ini harus memiliki sikap bertanggung jawab mengelola, melestarikan, menjaga dan memanfaatkan sumber daya alam berdasarkan asas konservasi. Disebutkan dalam Al-Quran,

bahwa hamparan bumi dan isinya diciptakan Allah untuk kebutuhan manusia. Hal ini termaktub dalam Q.S. Al-Hijr (15) : 19-20,

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رُوسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ
وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيهَا مَعِيشَ وَمَنْ لَسْتُمْ لَهُ بِرُزُقِينَ

Artinya: *“Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran. Dan Kami telah menjadikan untukmu di bumi keperluan-keperluan hidup, dan (Kami menciptakan pula) makhluk-makhluk yang kamu sekali-kali bukan pemberi rezeki padanya.*

Pada ayat ini Allah SWT menciptakan dan menjadikan bumi dan seluruh isinya tidak lain adalah untuk kebutuhan umat manusia. Semua yang berada di muka bumi ini, baik yang di daratan dan laut, sungai, malam dan siang, binatang-binatang, tanaman, tidak lain adalah ciptaan Allah yang didedikasikan untuk kebutuhan manusia. Oleh karena itu seluruh komponen yang telah diciptakan haruslah dimanfaatkan dengan sebaik-baiknya, dilestarikan agar terbentuk kesetimbangan ekosistem untuk mencapai kemakmuran.

2.2 Pertambangan Minyak Desa Wonocolo

Beberapa kasus pencemaran yang terdapat di Indonesia menjadi masalah penting yang perlu diselesaikan saat ini, seperti yang terjadi di beberapa kota di Indonesia, misalnya Tarakan, Riau, Papua, Indramayu serta kasus pencemaran di Wonocolo Bojonegoro. Salah satu tempat pertambangan minyak di Jawa Timur adalah pertambangan minyak di wilayah Desa Wonocolo. Pertambangan minyak ini termasuk dalam jenis pertambangan tradisional, mempunyai 44 unit sumur, dengan kapasitas produksi minyak mencapai 25.771 liter perhari. Penambangan yang dilakukan secara tradisional mengakibatkan efek negatif diantaranya berupa tumpahan minyak pada lahan sekitar tambang. Tumpahan minyak terjadi pada

saat proses distribusi minyak, melalui alat pengeboran, sehingga banyak yang tercecer ke lingkungan sekitar pertambangan (Nugroho, 2006).

Hardjowigeno (2003) dan Hadrianto *et al.* (2012) melaporkan kondisi tanah disekitar pertambangan minyak Wonocolo mengandung unsur makro yaitu karbon (8,53%), nitrogen (0,20%), fosfor (0,01%) kalium (0,22%) serta kadar TPH mencapai 41.200 mg/kg. Selain itu menurut Mulyadi *et al.* (2008) beberapa aktivitas penambangan seperti batubara, emas, minyak bumi, dapat menimbulkan dampak negatif berupa logam berat. Dari pertambangan, bahan pencemar tersebut tidak ditambang secara tersendiri, tetapi merupakan bahan ikutan dari pengolahan tambang batubara dan minyak dan produksi timah hitam seperti, kontaminasi logam Pb, Zn, dan Cu.

2.2.1 Pencemaran Logam Berat pada Pertambangan Minyak

Pencemaran yang menjadi penyebab adanya penambangan minyak di Desa Wonocolo meliputi pencemaran air yang menjadi keruh, pencemaran tanah disekitar lokasi penambangan karena aktivitas pengolahan dan penambanangan yang berubah menjadi warna kehitaman dan pencemaran udara. Selain itu tumpahan *lantung (oil sludge)* adalah sisa-sisa minyak yang terbentuk dari proses pengumpulan dan pengendapan kontaminan minyak maupun kontaminan yang terkumpul dan sebelumnya telah terbentuk dalam suatu proses penanganan (Naumi, 2015).

Aguilera *et al.* (2010) menjelaskan efek dari tumpahan minyak berpengaruh pada kesehatan fisik dan mental pada populasi yang terkena, terutama mengacu pada gejala klinis dan kesehatan yang berhubungan dengan kualitas hidup. Populasi atau individu dengan derajat paparan yang lebih tinggi atau tinggal di

daerah yang paling dekat dengan tumpahan minyak menunjukkan rendahnya tingkat kesehatan dibandingkan dengan mereka dengan derajat paparan yang rendah atau tinggal di daerah yang jauh dari tumpahan minyak.

Pencemaran tanah adalah keadaan dimana bahan kimia alami dan/atau buatan manusia masuk dan mengubah tatanan tanah alami. Berdasarkan PP No. 150 tahun 2000, disebutkan bahwa kerusakan tanah untuk produksi biomassa adalah terdapat berubahnya sifat dasar tanah yang melampaui kriteria baku kerusakan tanah. Kegiatan eksplorasi dan eksploitasi minyak bumi yang meliputi pengeboran, produksi, pengilangan dan transportasi berpotensi menyebabkan terjadinya pencemaran tanah. Hal ini disebabkan oleh adanya tumpahan atau ceceran dari berbagai kegiatan tersebut.

Tingginya tingkat akumulasi logam pada tanah akan menimbulkan penurunan pertumbuhan mikroba dalam lingkungan, tingkat kesuburan tanah, sifat tanah, dan toksisitas bahan yang masuk, sehingga mempengaruhi rantai makanan (Atafar *et al*, 2010). Cemar pada lingkungan dari zat logam berat biasa terjadi, hal ini dikarenakan banyak diantaranya pabrik ataupun industri, maupun pertambangan yang menggunakan logam berat didalam prosesnya dan tidak menjaga lingkungan disekitar tanpa adanya pengolahan terlebih dahulu. Komponen lingkungan yang menjadi sasaran utama terhadap pencemaran logam berat adalah tanah dan air. Dimana dua komponen ini erat berhubungan dengan makhluk hidup, sehingga apabila tercemar oleh adanya logam berat, maka akan secara mudah masuk kedalam rantai makanan makhluk hidup dan akan berefek terhadap manusia sebagai konsumen tingkat tinggi pada piramida rantai makanan. (Sudarmaji *et al*, 2006).

2.3 Tembaga (Cu)

Tembaga (Cu) adalah logam berwarna merah muda di alam, bertekstur lunak bisa ditempa. Berdasarkan tabel periodik tembaga atau Cu menempati nomor atom 29 dan massa atomnya sebesar 63,546 g/mol. Tembaga memiliki titik lebur 1038°C dan titik didih 2562°C. Logam ini banyak digunakan pada pabrik yang memproduksi alat-alat listrik, gelas dan zat warna yang biasanya bercampur dengan logam lain seperti perak, kadmium, timah putih dan seng (Novita *et al*, 2014). Tembaga digolongkan berdasarkan nilai valensinya, Cu dinamakan cupro jika memiliki nomor valensi +1 dan dinamakan cupri saat valensinya +2. Garam-garam tembaga (II) berdasarkan bentuk morfologinya, umumnya berwarna biru, baik dalam bentuk hidrat, padat, maupun sudah terlarut dalam air (Vogel, 1985).

Pembahasan mengenai logam juga ditemukan dalam firman Allah yang terkandung dalam Al-Quran Surat Al-Hadid ayat, 25 :

لَقَدْ أَرْسَلْنَا رُسُلَنَا بِالْبَيِّنَاتِ وَأَنْزَلْنَا مَعَهُمُ الْكِتَابَ وَالْمِيزَانَ لِيَقُومَ النَّاسُ بِالْقِسْطِ وَأَنْزَلْنَا الْحَدِيدَ فِيهِ بَأْسٌ شَدِيدٌ وَمَنَافِعٌ لِلنَّاسِ وَلِيَعْلَمَ اللَّهُ مَنْ يَنْصُرُهُ وَرُسُلَهُ بِالْغَيْبِ إِنَّ اللَّهَ قَوِيٌّ عَزِيزٌ

Artinya :” Sesungguhnya Kami telah mengutus rasul-rasul Kami dengan membawa bukti-bukti yang nyata dan telah Kami turunkan bersama mereka Al Kitab dan neraca (keadilan) supaya manusia dapat melaksanakan keadilan. Dan Kami ciptakan besi yang padanya terdapat kekuatan yang hebat dan berbagai manfaat bagi manusia, (supaya mereka mempergunakan besi itu) dan supaya Allah mengetahui siapa yang menolong (agama)Nya dan rasul-rasul-Nya padahal Allah tidak dilihatnya. Sesungguhnya Allah Maha Kuat lagi Maha Perkasa”.

Ayat diatas, ada kata *wa anzalnal-hadida* yang artinya “Dan Kami turunkan besi”.

Kata turunkan berarti, besi tidak dibuat di bumi, melainkan turun dari langit. Sains memberikan informasi kepada kita bahwa besi termasuk logam berat tidak dapat dihasilkan oleh bumi sendiri. Contoh logam berat yang lainnya salah satunya ialah tembaga. Yang juga bisa bermanfaat bagi beberapa aspek industri, namun

keberadaannya harus diperhatikan agar tidak melebihi suatu kadar maksimum. Oleh karena itulah manusia sebagai makhluk yang berfikir harus dapat menemukan cara agar dapat mengontrol keberadaannya di bumi.

Logam tembaga merupakan logam yang juga banyak digunakan di kegiatan industri, seperti dalam industri pembuatan tekstil, elektronik dan pembuatan cat anti karat. Dalam sector industri pertanian, bahkan dijumpai juga Cu sebagai bahan untuk pestisida, pengawet kayu, bangunan dan juga industri. Beberapa sumber tembaga yang digunakan antara lain Cooper Sulfida (CuS_2), Azurite ($\text{Cu}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$), dan Chalcopyrite (CuFeS_2) (Moore *et al*, 1984).

2.3.1 Toksisitas Tembaga (Cu)

Pencemaran logam berat bisa terjadi di beberapa komponen diantaranya air, tanah dan udara. Logam tembaga masuk sebagai logam mikro nutri yang dibutuhkan semua makhluk hidup, namun dalam kadar yang rendah. Berperan pada organisme yaitu sebagai koenzim dalam proses metabolisme tubuh, toksisitasnya akan muncul dalam konsentrasi yang tinggi. Menurut Palar (2004) pada Cu 0,01 ppm pada fitoplankton akan mati karena logam tersebut dapat menghambat aktivitas enzim dalam pembelahan sel fitoplankton. Kadar Cu 2,5-3,0 ppm dalam sungai akan membunuh organisme air atau ikan. Air yang mengandung ion-ion cuprum (Cu), kromium (Cr), dan argentum (Ag) tersebut sangat berbahaya bagi tubuh manusia. Logam ini berbahaya karena cenderung untuk berakumulasi dalam jaringan tubuh manusia dan menimbulkan bermacam-macam keracunan. Keracunan kronis dari paparan logam berat Cu dapat memicu penyakit *Wilson* dan *Kinsky* (Windri, 2011).

Pada manusia logam Cu dibutuhkan untuk sistem enzim oksidatif seperti enzim askorbat oksidase, sistikrom C oksidase, polyfenol oksidase, amino oksidase dan lain-lain. Logam Cu juga dibutuhkan manusia sebagai kompleks Cu-protein yang mempunyai fungsi dalam pembentukan haemoglobin, kolagen, pembuluh darah dan myelin otak. Kebutuhan manusia terhadap tembaga cukup tinggi, pada dewasa membutuhkan Cu 30 µg/kg berat tubuh, pada anak-anak jumlah Cu yang dibutuhkan 40 µg/kg berat tubuh, sedangkan pada bayi dibutuhkan 80 µg/kg berat tubuh (Palar, 1994).

Tembaga adalah salah satu kontaminan lingkungan paling luas, yang dapat menjadi racun bagi kehidupan organisme. Toksisitasnya dapat dikaitkan dengan aktivitas pro-oksidannya dan dapat menyebabkan kerusakan DNA, telah terbukti bahwa konsumsi tembaga dalam bentuk tembaga sulfat (CuSO_4) lebih dari 3 mg/l pada air minum menyebabkan mual dan efek buruk lainnya pada saluran pencernaan pada manusia. Selanjutnya, konsentrasi > 20 ppm adalah dianggap beracun bagi tanaman (Bradl, 2005).

2.4 Fungi Endofit

Mikroba endofit adalah mikroba yang hidup di dalam jaringan tanaman yang tidak terpapar udara dan tidak menyebabkan penyakit terhadap tanaman inangnya. Mikroba bahkan dapat mensintesis senyawa atau zat yang berfungsi sebagai zat anti toksik atau pertahanan terhadap nematoda (Strobel dan Bryn, 2003). Fungi endofit terletak pada jaringan internal tanaman, tepatnya pada lapisan sel epidermis, dan tumbuh dalam jaringan sehat dan hidup (Stone *et al*, 2000). Fungi endofit juga merupakan kelompok polifiletik mikroorganisme, dan dapat

berkembang asimtomatik dalam jaringan sehat dari tanaman yang hidup diatas atau bawah tanah, termasuk batang, daun, akar, buah dan biji (Faeth dan Fagan, 2002).

Asosiasi antara fungi endofit dan tanaman merupakan salah satu jenis simbiosis mutualisme antara makhluk hidup ciptaan Allah SWT berfirman dalam Al-Qur'an suar'at Yaasin ayat 36:

سُبْحٰنَ الَّذِيْ خَلَقَ الْاَرْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنْبِثُ الْاَرْضُ وَمِنْ اَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا يَعْلَمُوْنَ

Artinya: “Maha suci Tuhan yang telah menciptakan pasangan-pasangan semuanya, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka maupun dari apa yang tidak mereka ketahui (QS. Yaasin (36):36).”

Menurut Al-Mahalil dan As-Syuthi (2010) pada surat Yaasin (36) ayat 36 menjelaskan “(Maha Suci Allah yang telah menciptakan pasangan-pasangan) yang berjeni-jenis (semuanya, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi) berupa biji-bijian dan lain-lainnya (dan dari diri mereka) yaitu jenis pria dan wanita (maupun dari apa yang tidak mereka ketahui) yaitu makhluk-makhluk yang ajaib dan aneh.” Menurut Al-Jazairi (2006) menjelaskan tafsir surat Yaasin ayat 36 “pada konteks ini disebutkan tanda-tanda kekuasaan ilmu Allah. Hal ini terlihat dari penciptaan makhluk yang berpasang-pasangan, baik tumbuhan, hewan, atau makhluk yang tidak diketahui.”

Berdasarkan firman Allah SWT dan tafsir di atas, dapat diketahui bahwa Allah telah menciptakan pasangan-pasangan. Pasangan-pasangan yang telah dijelaskan diatas ialah makhluk hidup yang diketahui atau bahkan yang tidak diketahui. Di dalam konteks ilmu biologi, dapat diambil contohnya berupa pasangan fungi endofit dan tanaman inang. Fungi endofit dan tanaman inang adalah pasangan yang memiliki hubungan simbiosis mutualisme saling

menguntungkan. Menurut Rodriguez *et al* (2008) yaitu sebuah bentuk hubungan yang saling menguntungkan. Mikroba endofit memperoleh nutrisi dari tubuh tanaman inang, sebaliknya tanaman inang memperoleh proteksi terhadap patogen dari senyawa yang dihasilkan mikroba endofit.

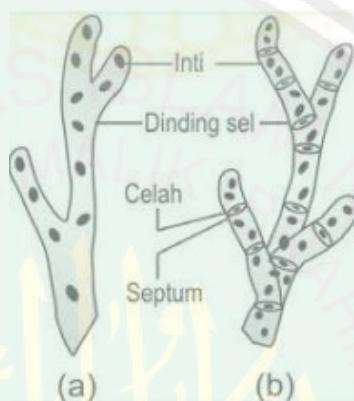
Fungi endofit yang terdapat dalam tanaman memacu perkecambahan, untuk bertahan dalam kondisi yang kurang menguntungkan, mempercepat pertumbuhan, ketahanan terhadap patogen lemah, dan beberapa kasus yang dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap tekanan lingkungan (Radji, Maksum. 2005). Kemampuan tanaman bertahan hidup pada lingkungan yang terkontaminasi logam berat adalah karena keberadaan fungi endofit yang memiliki kemampuan mendegradasi, mengeliminasi, atau menggunakan logam-logam tersebut dalam sistem metabolismenya (Weyen *et al.*, 2009 *cit* Aly *et al.*, 2011).

2.4.1 Karakteristik Fungi

Fungi merupakan mikroorganisme tak berklorofil, uniseluler atau multiseluler berbentuk hifa membentuk seperti jalinan jala yang disebut miselium. Namun sebagian besar fungi terdiri atas benang-benang yang disebut hifa. Miselium dapat dibedakan menjadi dua, yaitu miselium vegetatif yang berfungsi untuk menyerap sumber nutrisi atau sumber makanan. Sedangkan miselium fertil atau generatif sebagai reproduksi (Gandjar *et al*, 1999).

Hifa merupakan struktur fungus berbentuk tabung menyerupai seuntai benang panjang yang terbentuk dari pertumbuhan spora atau konidia. Hifa yang sudah bisa bereproduksi memiliki ukuran tebal berkisar 100-150 μm . Saat hifa telah dewasa mempunyai tambahan bahan pada dinding selnya, yaitu melanin dan lipid

(Sigler, 1983). Menurut Summerbell *et al* (1988) berdasarkan bentuk hifanya, terbagi atas dua macam hifa yaitu, hifa tidak bersepta dan hifa bersepta. Hifa yang memiliki tidak memiliki sekat (septa) termasuk golongan phycomycetes (fungi tingkat rendah). Hifa ini memiliki sel yang memanjang, bercabag, terdiri dari sitoplasma dengan banyak inti (multinukleat). Hifa tidak bersepta merupakan ciri fungi tingkat tinggi atau Eumycetes.



Gambar 2.1 Hifa (a) Cenocytic (b) Septate (Moser and Greer, 1998)

Gambar 2.1 menunjukkan gambaran bentuk hifa fungi dengan struktur hifa tidak bersekat (a) dan hifa bersekat atau septa (b). Jenis fungi dengan hifa non septa yaitu dari kelas Zygomycota dan Oomycota. Hifa bersekat memiliki inti (nucleus) satu bahkan lebih dengan septum sebagai dinding antar bagiannya. Namun, sekat tersebut masih memungkinkan sitoplasma dari bagian hifa yang lain tetap bisa bergerak. Fungi dari kelas Ascomycota, Basidiomycota dan Deutromycota memiliki hifa bersekat (Waluyo, 2007).

2.4.2 Karakteristik Genus *Aspergillus*

Aspergillus merupakan salah satu kapang yang berasal dari filum Ascomycota, dapat dikenali dengan adanya struktur konidia yang berbentuk oval, semibulat, atau bulat. Konidia melekat pada bagian fialid dan fialid melekat pada

bagian ujung konidiofor yang mengalami pembengkakan atau disebut vesikel. Fialid dapat melekat langsung pada vesikel (tipe sterigmata uniseriat) atau dapat melekat pada struktur metula (tipe sterigmata biserial) (Samson *et al*, 2004 dalam Hafsari, 2013). Miselium semula berwarna putih kemudian akan bersporangium menjadi berwarna coklat kekuning-kuningan, hijau, atau kehitam-hitaman (Dwidjoseputro, 2010)

Karakteristik fungi *Aspergillus* sp secara makroskopis mempunyai hifa fertil yang muncul dipermukaan dan hifa vegetatif terdapat dibawah permukaan. Jamur tumbuh membentuk koloni kapang berserabut, *smooth*, cembung serta koloni yang kompak berwarna hijau kelabu, hijau coklat, hitam, putih. Warna koloni dipengaruhi oleh warna spora misalnya spora berwarna hijau, maka koloni hijau (Srikandi, 1992). Miselia jamur *Aspergillus* sp. mulai tumbuh pada hari ke dua berupa koloni-koloni kecil yang menyebar pada permukaan media berwarna putih kehijauan. Miselia membentuk koloni luas dan kompak serta berwarna cokelat krem pada hari ke enam (Sukma *et al*, 2010).

Schlegel (1994) mengemukakan bahwa *Aspergillus* sp ciri-cirinya memiliki septa pada hifanya dan terdapat percabangan pada miseliumnya, memiliki hifa *fertile*, mengelompok, jenis konidiofor dengan septat atau tidak berseptat, gelembung yng muncul dibagian hifa paling ujung disebut konidium, dan tangkai konidium yang disebut sterigmata. Warna-warna pada beberapa jamur *Aspergillus* yang berbeda yaitu coklat, kuning, hijau dan hitam dikarenakan dari perbedaan dari konidiumnya.

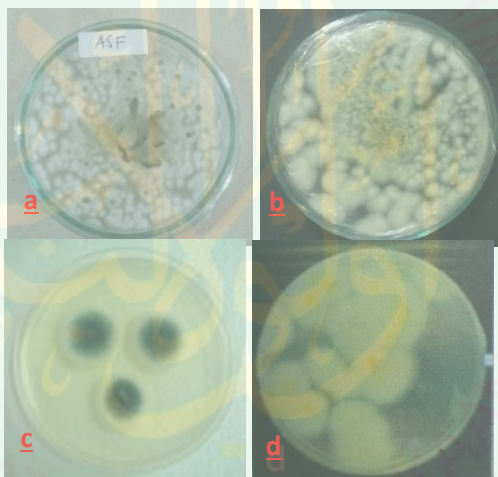
2.4.3 Karakteristik Isolat I1 dan I2 Fungi Endofit *Tridax procumbens*

Karakteristik kedua isolat fungi endofit tanaman *Tridax procumbens* dengan kode isolat I1 dan I2 yang terpilih merupakan hasil toleransi pada konsentrasi 100 ppm, 300 ppm dan 500 ppm pada media PDA. Pengamatan melalui metode *slide culture* dan secara makroskopik sebagai berikut (Pratiwi, 2019) :

Tabel 2.1 Karakteristik makroskopis dan mikroskopis I1 dan I2

Karakteristik		Kode Isolat	
		I1	I2
Warna	Atas	Hitam	Hijau tepi putih
	Bawah	Putih kekuningan	Putih kekuningan
Hifa Udara		-	-
Tekstur Permukaan		Seperti tepung	Seperti tepung
Bentuk Koloni		Sirkular	Sirkular
Pola Pertumbuhan		Menyebar	Menyebar
Elevasi		Datar	Datar
Hifa	Warna	Hitam Kecoklatan	Hijau
	Sekat	Ada	Ada
	Diameter	0,03-0,04 mm	0,01-0,02 mm
Konidiofor	Bercabang	Tidak	Tidak

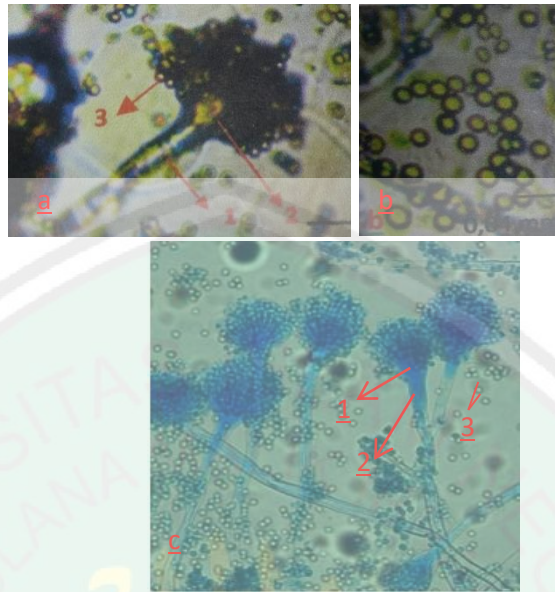
	Dinding	Halus	Halus
Vesikula		Tidak terlihat	Seperti buah pir
Metula		-	-
Konidia	Dinding	Halus	Halus
	Bentuk	Bulat	Bulat
	Diameter	2-3 μm	2-3 μm
	Warna	Hitam kecoklatan	Hijau



Gambar 2.2 Karakteristik Isolat I2 secara makroskopis pada media PDA, (a-b) permukaan atas dan bawah hasil pengamatan, (c-d) permukaan atas dan bawah *Aspergillus novofumigatus* (Nyongsa *et al*, 2015).

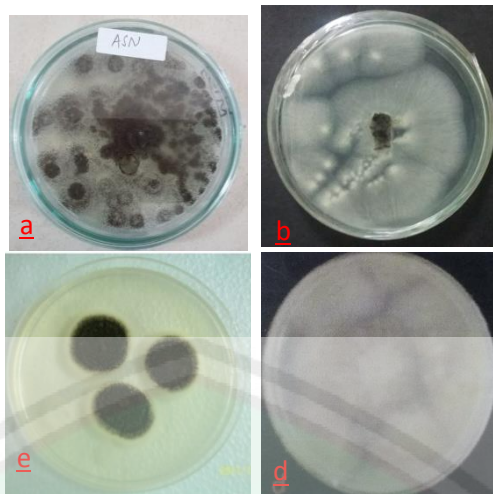
Karakteristik makroskopik isolat I2 pada gambar 2.2 berupa permukaan berwarna putih pada hari 1-2. Kemudian muncul warna hijau tua yang perlahan menutupi warna putih tadi, sedangkan warna permukaan bawahnya putih kekuningan (Pratiwi, 2019). Menurut Nyogesa *et al* (2015) koloni fungi *Aspergillus novofumigatus* pada media PDA memiliki karakteristik koloni

berwarna hijau gelap dengan miselia putih dibagian ujungnya serta permukaan bawah berwarna putih sedikit kehijauan.



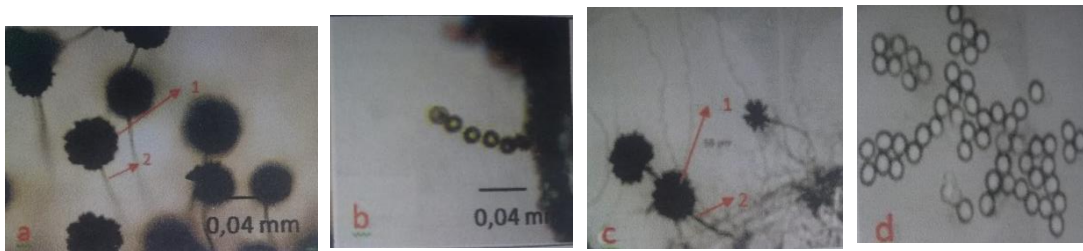
Gambar 2.3 Karakteristik isolat I2 secara mikroskopis pada media PDA, (a) kepala konidia perbesaran 40x dan (b) konidia perbesaran 40x, (c) kepala konidia *Aspergillus novofumigatus* (Nyongsa *et al*, 2015). 1: konidiofor, 2: vesikel, 3: konidia

Karakteristik mikroskopis menurut isolat I2 memiliki konidiofor bersekat yang tumbuh pada sel kaki. Terdapat gelembung pada ujung konidiofor yang membentuk kepala konidia berukuran 0.04 mm yang pada atasnya ditumbuhi konidia dengan diameter 2-3 μm berbentuk bulat, halus, dan berwarna hitam kehijauan membentuk untaian (Pratiwi *et al*, 2019). Menurut Nyongsa *et al* (2015) *Aspergillus novofumigatus* memiliki kepala konidia berbentuk kolumnar, uniseriate dengan fialid dan tersusun loggar. Vesikel berbentuk buah pir dengan diameter 4-7 μm halus, bulat, berwarna hijau.



Gambar 2.4 Karakteristik Isolat I1 secara makroskopis pada media PDA
(a-b) permukaan atas dan bawah hasil pengamatan
(c-d) permukaan atas dan bawah *Aspergillus niger*
(Nyongsa *et al*, 2015)

Isolat I1 berdasarkan pengamatan makroskopis tampak berwarna putih bening pada hari pertama dan berubah menjadi warna hitam pada hari kedua dengan tepian berwarna putih, sedangkan permukaan bawah berwarna putih kekuningan (Pratiwi, 2019). Menurut Nyogesa *et al* (2015) karakteristik fungi *Aspergillus niger* memiliki koloni pada media PDA dengan warna awal putih bening dan berubah menjadi warna hitam seperti tepung pada hari kedua. Secara mikroskopis pada gambar 2.5 memiliki konidia berukuran 70.0-120.0 μm , konidiofor berbentuk hialin, berwarna coklat. Vesikula berbentuk hialin, bulat dan berwarna coklat. Sterigma bebrbentuk uniseriate. Konidianya bulat dan kasar berdiameter 4.0-5.0 μm .



Gambar 2.5 Karakteristik isolat I1 secara mikroskopis pada media PDA, (a-b) kepala konidia perbesaran 10x dan konidia perbesaran 40x, (c-d) kepala konodia dan konidia *Aspergillus novofumigatus* (Nyongsa *et al*, 2015). 1 : konidiofor, 2: kepala konidia

2.4.4 Fase Pertumbuhan

Setiap mikroorganisme memiliki fase pertumbuhan atau yang disebut kurva pertumbuhan, begitu pula pada fungi. Menentukan kurva pertumbuhan fungi dilakukan dengan menghitung massa sel pada kapang atau kekeruhan media jika pada khamir pada panjang waktu tertentu. Beberapa fase pada kurva pertumbuhan antara lain (Gandjar *et al*, 2006) :

1. Fase lag, yaitu fase adaptasi atau penyesuaian sel-sel dengan kondisi lingkungannya. Fungi mengalami fase adaptasi saat fungi mulai dipindahkan pada media yang mengandung nutrisi untuk pertumbuhannya. Pada fase ini fungi biasanya belum mengadakan perbanyakan sel, bahkan bisa jadi selnya mati, tergantung pada lamanya fase adaptasi fungi tersebut. Beberapa faktor yang mempengaruhi yaitu, media, kondisi lingkungan, dan jumlah inokulum.
2. Fase log, pada fase ini kemampuan mikroba dalam pembelahan sangat cepat dan konstan. Terjadi aktivitas sel yang meningkat, dan merupakan fase yang penting dalam kehidupan fungi. Hal ini dikarenakan pada awal fase ini kita dapat memanen enzim-enzim yang dihasilkan. Keadaan pertumbuhan yang

seimbang, dengan laju pertumbuhan spesifik konstan, massa menjadi duakali lipat, dengan keadaan pertumbuhan seimbang.

3. Fase stasioner, yaitu fase dimana jumlah sel menunjukkan pertambahan dan jumlah sel yang mati relatif seimbang atau sama. Ini menyebabkan kurva pada fase ini merupakan garis lurus atau linear yang horizontal. Reproduksi pada selnya mungkin masih terjadi dengan memanfaatkan cadangan makanan yang terdapat diprotoplasma untuk sel baru. Namun jumlah nutrisi dalam media yang mulai habis menyebabkan terdapat perbedaan komposisi dengan sel yang sebelumnya pada fase eksponensial. Keadaan fungi pada fase ini cenderung memiliki sifat tahan terhadap keadaan ekstrim, panas, dingin dan radiasi.
4. Fase kematian, populasi mikroba mengalami penurunan pertumbuhan atau kematian. Pada fase ini jumlah sel yang mati atau tidak aktif lebih banyak daripada sel-sel yang masih hidup. Beberapa penyebabnya yaitu ketersediaan nutrisi dalam media dan cadangan makanan dalam sel yang sudah habis.

2.5 Biosorpsi

Pengolahan secara biologi untuk mengurangi logam berat pada limbah tercemar diketahui sebagai teknologi alternatif yang berpotensi untuk dikembangkan dibandingkan dengan proses kimia. Karena perlindungan terhadap lingkungan saat ini telah menjadi masalah yang sangat penting, biosorpsi menjadi teknik yang menjanjikan dalam menghilangkan logam berat (Ratnawati *et al*, 2010). Upaya dalam penanganan suatu kerusakan lingkungan di bumi akibat ulah

tangan manusia dijelaskan pada firman Allah SWT dalam Al-Quran surat Al-A'raf ayat 56:

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

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 rahmay Allah dekat kepada orang-orang yang berbuat baik.”*

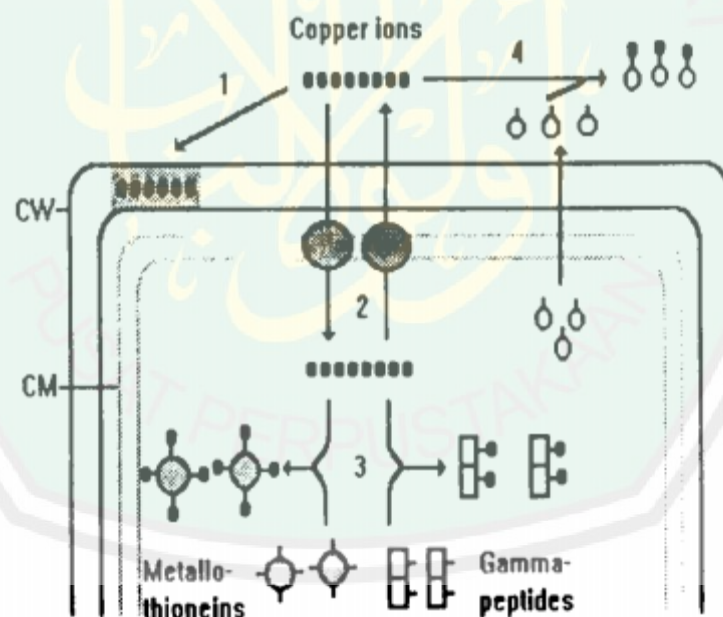
Makna kata ‘ardh (bumi) menurut Mawil Izz Deen disebut sebanyak 485 kali di dalam Al-Quran. Hal ini menunjukkan makna penting bumi atau tanah dalam kehidupan. Seluruh hamparan tanah yang terdapat dimuka bumi adalah penopang kehidupan seluruh makhluk hidup. karena demikian penting bagi kita untuk memikirkan dan menjaga atau melindungi bumi dari pencemaran lingkungan atau polusi (Abdullah, 2010). Telah tertuang pada arti surat diatas, bahwa sesungguhnya rahmat Allah dekat kepada orang-orang yang bebuat baik. Salah satunya yakni dengan upaya memperbaiki kerusakan dengan cara biosorpsi logam berat yang dilakukan dengan agen fungi endofit untuk mengendalikan pencemaran logam berat tembaga. Teknik biosorpsi merupakan teknologi pengolahan limbah untuk mengikat logam berat yang berada dalam suatu larutan yaitu dengan cara pertukaran ion dimana ion-ion pada dinding sel mikroorganisme digantikan oleh ion-ion logam berat (Ratnawati *et al*, 2010).

Berdasarkan prosesnya biosorpsi adalah penghilangan logam dari suatu larutan dengan menggunakan bahan biologis. Proses penghilangan logam berat melalui pengikatan pasif ke biomassa dari suatu larutan dan mekanisme reduksinya tidak dikendalikan secara metabolik. Biosorpsi merupakan proses penyerapan logam secara pasif oleh sel-sel mikroorganisme, hasil dari formasi

organik kompleks logam dengan komponen dinding sel mikroorganisme (Gavrilescu, 2004).

2.6 Mekanisme Toleransi Ion Tembaga oleh Fungi

Mekanisme toleransi mikroba terhadap logam berat dengan cara kompleksasi meliputi produksi polisakarida ekstraselular yang memiliki sifa-sifat anion yang berfungsi sebagai bioakumulator yang efisien, produksi metabolit organik yang memiliki sifat pengkelat dan membentuk kompleks dengan logam (*Aspergillus niger*, *Penicilium spinulosum* dan *Verticillium psalliotae*), presipitasi, serta kristalisasi ekstraselular oleh bakteri pereduksi sulfat sehingga membentuk deposit sulfida yang kaya akan logam, dan pembentukan metalothionein (protein kaya sistein dalam sel dapat mengikat logam) yang berfungsi untuk detoksifikasi, penyimpan



Gambar 2.6 Representasi Skematis Dari Mekanisme Utama Resistensi Tembaga Dalam Sel Jamur 1. Pengikatan ion tembaga oleh komponen dinding sel (cell wall) "2, Membran sel (cell mebran) tembaga masuk kebagian sitosol, 3. khelasi tembaga intraseluler oleh mctallothionein protein dan glutathionc-dcrived y-peptides, 4. sekresi hasil metabolit tembaga ke bagian ekstraseluler (Cervantes *et al*, 1994).

2.6.1 Mekanisme Biosorpsi

Proses atau mekanisme terjadinya biosorpsi melibatkan beberapa komponen didalamnya. Komponen biologi atau material biologi yang disebut *biosorben* dan adanya larutan yang mengandung logam atau *sorben* yang mengandung logam berat dengan afinitas tinggi sehingga mudah berikatan dengan *biosorben* (Sinly dan Johan, 2007). Proses biosorpsi ion (Cu) pada *biosorben* berbeda dibandingkan dengan ion-ion logam lainnya. Hal tersebut disebabkan oleh afinitas ion logam (Cu) yang tinggi terhadap *binding sites*. Komponen sel, yaitu karboksil dan amina berinteraksi lebih kuat terhadap ion Cu di bandingkan ion logam lainnya (Ghaed *et al*, 2013).

Proses pengikatan terjadi akibat pengikatan logam berat yang berada pada larutan terjadi dengan cara pertukaran ion. Dimana ion-ion yang ada di dinding sel mikroorganisme digantikan oleh ion-ion logam (Martias *et al*, 2006). Kompleksitas ion logam yang bermuatan positif akan berinteraksi dengan pusat aktif yang bermuatan negatif di permukaan dinding sel mikroorganisme atau dalam polimer ekstraseluler, seperti protein dan polisakarida sebagai sumber gugus fungsi yang berperan mengikat ion logam (Ratnawati *et al*, 2010).

Penyisihan atau removal logam berat sebagian besar dilakukan mikroorganisme dengan cara pertukaran ion. Terdapat 3 (tiga) proses yakni : metabolisme seluler (tergantung pada metabolisme dan tidak tergantung pada metabolisme sel); berdasarkan posisi logam berat yang diremoval (akumulasi ekstraseluler, akumulasi intraseluler dan penyerapan oleh permukaan sel); dan berdasarkan cara pengambilan logam berat (Sinly dan Johan, 2007).

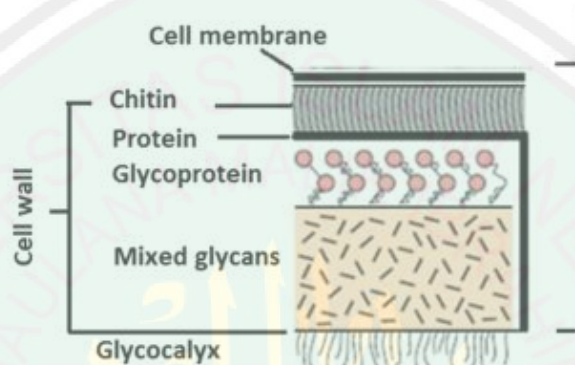
Mekanisme biosorpsi terjadi melalui dua langkah, yaitu langkah pertama adalah pasif biosorpsi, adalah metabolisme yang independen dan berproses cepat. Proses ini dapat berlangsung oleh salah satu atau kombinasi dari mekanisme pengikat logam: koordinasi, kompleksasi, pertukaran ion, adsorpsi fisik (mis. elektrostatik) atau mikropresipitasi anorganik. Sedangkan proses mekanisme biosorpsi pada langkah kedua melalui biosorpsi aktif, ion logam masuk ke dalam sel-sel (Das *et al*, 2008).

2.6.2 Adsorpsi (*Passive Uptake*)

Proses ini terjadi ketika ion logam berat terikat pada dinding sel dengan dua cara yang berbeda, pertama pertukaran ion dimana ion monovalent dan divalent seperti Na, Mg dan Ca pada dinding sel digantikan oleh ion-ion logam berat, dan kedua adalah pembentukan kompleks ion-ion logam berat dengan gugus fungsional seperti *carbonyl*, amino, *thiol*, *hydroxy*, *phosphate*, dan *hydroxy – carboxyl* yang berada pada dinding sel. Proses biosorpsi ini bersifat bolak-balik dan cepat. Proses bolak-balik ikatan logam berat di permukaan sel ini dapat terjadi pada biomassa mati dan biomassa hidup. (Ratnawati *et al*, 2010). Bagian dinding sel adalah bagian awal terjadinya adsorpsi logam pada fungi. Fungi memiliki dinding sel yang tersusun atas 80-90% polisakarida. Komponen lain didalamnya terdiri dari polifosfat, lipid, ion-ion dan protein. Kitin merupakan polisakarida yang terdiri dari N-asetikglukosamin, termasuk unsur penting dari dinding sel jamur yang khas (Shakya *et al*, 2015).

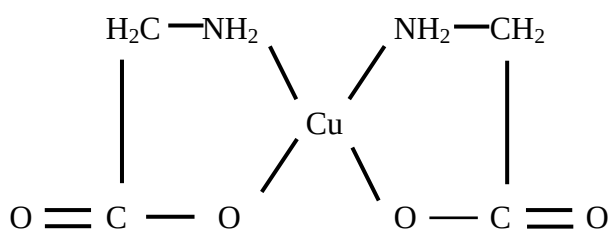
Biosorpsi logam berat oleh fungi terjadi melalui bagian ekstraseluler yaitu permukaan sel. Proses biosorpsi terjadi tergantung terhadap komponen dinding sel

fungi tersebut. Polisakarida yang berbeda memainkan peran penting di dinding sel fungi. Kelompok fungsional yang terlibat dalam proses pengikatan dengan ion logam adalah gugus karboksil (RCOO^-), hidroksil (HO^-), sulfat (SO_2^{4-}), fosfat dan gugus amino. Hal ini karena kelompok fungsional ini berperan sebagai situs donor bermuatan negatif yang akan berikatan dengan kation logam selama biosorpsi (Shakya *et al*, 2015).



Gambar 2.7 Susunan Dinding Fungi (Shakya *et al*, 2015)

Ekstraksi EPS (*Extraceluler Polymeric Substance*) dari *Aspergillus fumigatus* sebagian besar terdiri dari asam uronoat, yang mengandung gugus fungsional seperti karboksil dan amina. Dimana berdasarkan penelitiannya, pada pH yang rendah terdapat persaingan antara ion logam dan ion hidrogen untuk situs mengikat di EPS. Berdasarkan analisis EDX bahwa mekanisme penyerapan logam berat Cu oleh ekstraksi bagian EPS *Aspergillus fumigatus* terjadi melalui pertukaran ion atau ion-exchange (Yin, 2011).



Gambar 2.8 Kompleksasi tembaga dan amina (Kotrba *et al*, 2011)

Kompleksasi antara tembaga dan gugus amina seperti pada gambar 2.3 memiliki peranan penting dalam interaksi logam dan ligan sorbate dan sorbent. Komponen kompleks merupakan molekul polyatomic yang terdiri dari satu atau beberapa atom yang berada di tengah (kation logam) yang dikelilingi oleh ligan (Akinkumni *et al*, 2016). Asam amino seperti histidine yang terdapat pada genus *Aspergillus* berfungsi sebagai matrik dari ^-COOH dan ^-NH yang menstimulasi bagian amina dan karboksil dalam pengikatan kompleksasi ion logam (Mukopadhyay *et al*, 2007).

2.6.3 Absorpsi (*Active Uptake*)

Absorpsi yang terjadi pada berbagai sel-sel makhluk hidup terjadi karena adanya akumulasi di bagian intraseluler sel organisme tersebut. Logam berat dapat diendapkan pada proses metabolisme dan dapat juga diekskresikan. Oleh karena itu mekanisme ini hanya terjadi pada mikroorganisme hidup dimana prosesnya sangat bergantung pada metabolisme sel. Hal ini tentunya akan mengganggu pertumbuhan mikroorganisme dan sistem metabolisme selnya, akibat mengalami keracunan sifat toksik pada logam tertentu (Lapik *et al*, 2017).

Proses absorpsi pada bagian intraseluler sel salah satunya karena adanya MTs (*metallothioneins*). Metallothioneins ini bersifat meregulasi dan mencegah sifat toksik dari logam Cu pada saat kadarnya mulai tinggi. Saat sudah terakumulasi banyak dan meningkat pada intraseluler tembaga *transcription factor* akan aktif oleh ikatan logam Cu(I) melalui sistein thiolates. Ikatan tersebut selanjutnya dapat mengakibatkan perubahan struktur ikatannya, dan akhirnya

mampu mengikat DNA dari mikroorganisme dan memicu transkripsi gen MT (Calvo Jenifer *et al*, 2017).

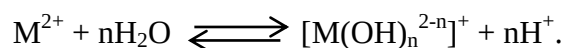
2.7 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Biosorpsi

Efisiensi dalam proses biosorpsi logam berat dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Faktor-faktor ini juga disesuaikan dengan kondisi operasi laboratorium. Beberapa faktor yang mempengaruhi biosorpsi, diantaranya:

1. Derajat Keasaman (nilai pH)

Derajat keasaman atau nilai pH pada biosorpsi menggunakan mikroba adalah faktor yang mempengaruhi kemampuan penyerapan logam berat. Nilai derajat keasaman dapat berpengaruh terhadap interaksi kimia yang terjadi dalam biosorpsi antara ion logam, gugus fungsional pada bagian ekstraseluler sel mikroba, dan derajat ionisasi *adsorbat* selama reaksi berlangsung. Ikatan gugus fungsi biomassa dengan ion-ion logam bekerja dengan pergantian proton sehingga mengakibatkan nilai derajat keasaman (pH) sesuai agar proses penyerapan terjadi dan berlangsung secara optimum (Goksungur *et al*, 2002).

Nilai derajat keasaman (pH) mempengaruhi spesiasi logam dalam larutan. Ion-ion yang terkandung di larutan sebelum memasuki proses adsorpsi oleh *biosorben* akan mengalami hidrolisis terlebih dahulu, sehingga menghasilkan proton seperti pada persamaan dibawah ini :



Kompleksisasi hidroksida $[M(OH)_n^{2-n}]^+$ yang dibentuk dari persamaan tersebut akan lebih mudah untuk teradsorpsi bila dibandingkan dengan kation logam bebas (M^{2+}). Pada kondisi asam persamaan di atas akan bergeser kearah kiri, sehingga

jumlah kompleks hidroksida logam yang terbentuk lebih sedikit dan jumlah kation logam bebas lebih banyak (Sembiring dan Buhani, 2009).

2. Konsentrasi Logam

Konsentrasi logam juga mempengaruhi proses biosorpsi. Proses biosorpsi menjadi meningkat bersamaan dengan naiknya kadar konsentrasi logam hingga mencapai titik jenuh. Kadar logam awal mempengaruhi proses transfer massa ion maupun pertukaran ion logam diantara fase padat dan fase cair. Konsentrasi pertama pada logam berat berperan dalam mengatasi permasalahan transfer berat ion logam berat oleh biomassa hingga mengalami peningkatan bersamaan dengan meningkatnya konsentrasi logam berat. Namun, konsentrasi pertama yang tinggi dapat menyebabkan efisiensi prosentase penghilangan logam menjadi berkurang. Hal ini disebabkan oleh kapasitas biomassa dalam proses penyerapan telah mencapai titik kesetimbangan dan situs pengikat telah menjadi jenuh. Akan tetapi, konsentrasi pertama logam berat dengan kadar rendah mampu meningkatkan interaksi ion logam dan situs pengikat sehingga efisiensi penghilangan logam berat menjadi maksimal (Rakhmawati, 2006 dalam Lapik, 2017).

3. Waktu Kontak

Waktu kontak antara biosorben dengan adsorbat sangat mempengaruhi biosorpsi. Laju biosorpsi akan meningkat secara signifikan seiring dengan bertambahnya waktu kontak hingga mencapai titik kesetimbangan atau optimum. Hal ini dipengaruhi oleh kapasitas permukaan biosorben yang masih cukup besar untuk mengikat logam sebelum mencapai titik jenuh. Untuk mengikat logam sebelum mencapai titik jenuh. Setelah mencapai titik kesetimbangan, kemampuan

biomassa dalam mengikat logam berat akan mengalami penurunan Fenner *et al*, 2005).

4. Suhu

Pengaruh suhu pada proses biosorpsi merupakan faktor yang perlu diperhatikan terkait komponen sel dari mikroorganisme yang digunakan. Keadaan suhu kamar relatif lebih optimal daripada suhu yang lebih tinggi. Semakin tinggi suhu maka menyebabkan proses penyerapan yang terjadi semakin lemah. Hal ini terjadi akibat adanya degradasi komponen kitin akibat panas pada permukaan biomassa. Disamping itu kenaikan suhu menyebabkan bertambahnya reaktivitas dan difusifitas ion dalam pori yang akan memperbanyak ion yang dapat terikat pada permukaan, namun di sisi lain bertambahnya reaktifitas menyebabkan ion lebih mudah terlepas kembali dari ikatannya. Kombinasi sorpsi-desorpsi ini menyebabkan penjerapan terlihat semakin menurun dengan kenaikan suhu (Listiarini, 2006).

2.8 Pengujian Kadar Cu menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri dapat digunakan untuk keperluan menganalisis konsentrasi suatu zat didalam larutan berdasarkan absorbansi terhadap warna dari larutan pada panjang gelombang tertentu. Metode spektrofotometri memerlukan larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya. Larutan standarnya terdiri dari beberapa tingkat konsentrasi mulai yang rendah sampai konsentrasi tinggi. Berikut merupakan spektrum cahaya tampak dan warna-warna komplementer (Khopkar, 2003).

Tabel 2.2 Spektrum cahaya tampak dan warna komplementer

Panjang Gelombang	Warna	Warna Komplementer
400-435	Violet	Kuning-Biru
435-480	Biru	Kuning
480-490	Hijau-Biru	Oranye
490-500	Biru-Hijau	Merah
500-560	Hijau	Ungu
560-580	Kuning-Hijau	Violet
580-595	Kuning	Biru
595-610	Oranye	Hijau-Biru
610-750	Merah	Biru-Hijau

Ion Cu dapat dianalisis dengan beberapa metode salah satunya yakni spektrofotometer UV-Vis yang memiliki keuntungan reaksi cepat, sensitif dan selektif. Larutan akan menjadi kurang sensitif terhadap spektrofotometer UV-Vis apabila tanpa pengompleks. Menurut Serotiak, *et al* (2014) bahwa Ion Cu (II) dapat dikomplekskan dengan Na-dietilditiokarbamat (Na-DDTK). Ligan khelat tersebut mudah membentuk senyawa kompleks dengan ion Cu (II) yaitu kompleks Cu(II) yaitu berwarna kuning kecoklatan dan sensitif terhadap cahaya.

Larutan pengompleks Cu menurut Pratiwi, *et al* (2018) dipilih karena ligan khelat mudah untuk membentuk senyawa kompleks dengan logam Cu dan gugus

kromofor berupa C-S yang akan mengikat ion Cu(II). Reaksi ion Cu(II) dengan Na(DDTK) sebagai berikut:



Berdasarkan penelitian Pratiwi, *et al* (2018) bahwa perbandingan pengukuran ion Cu tanpa dan dengan larutan pengompleks Na(DDTK) dengan metode spektrofotometri Uv-Vis membuktikan akurasinya 98,9% dengan pengompleks dan 94,56% tanpa pengompleks. Oleh karena itu metode analisis Cu(II) dengan pengompleks Na-DDTK lebih baik dibandingkan Cu(II) tanpa pengompleks secara spektrofotometri UV-Vis.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskripsi kuantitatif. Deskriptif kuantitatif karena dilakukan dengan menguji kemampuan isolat fungi endofit akar *T. procumbens* melalui uji biosorpsi Cu dengan variasi pH, dan konsentrasi logam berat yang berbeda.

3.2 Desain Penelitian

Desain penelitian ini adalah sebagai berikut,

Perlakuan		
pH	Konsentrasi (ppm)	Isolat Fungi
3	200	I1
		I2
	300	I1
		I2
	400	I1
		I2
7	200	I1
		I2
	300	I1
		I2
	400	I1
		I2
9	200	I1
		I2
	300	I1

		I2
	400	I1
		I2

*Keterangan: I1: Isolat 1 Fungi Endofit Akar *T.procumbens*

I2: Isolat 2 Fungi Endofit Akar *T.procumbens*



3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada bulan Maret-Oktober 2019 di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Kadar penurunan logam (Cu) oleh Spektrofotometer pada panjang gelombang 447 nm di Laboratorium Genetika, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan meliputi Lemari LAF, Spektrofotometer UV-Vis, oven, autoklaf, hotplate, neraca analitik, rotary shaker, sentrifuse, cawan petri, erlenmeyer, tabung reaksi, gelas ukur, gelas ukur, jarum eenten, bunsen, *magnetic stirrer*, pH meter.

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan, yaitu media PDA (*Potato Dextrose Agar*), isolat fungi endofit akar *T. procumbens*, PDB (*Potato Dextrose Broth*), kloramfenikol, akuades steril, alkohol 70%, NaOCl, Cooper (II) Chloride Dihydrate ($\text{CuCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), NaOH 1N, kapas, kertas saring Whatman no.1, alumunium foil, plastik wrap, plastik.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan

3.5.1.1 Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Pembuatan media PDA (*Potato Dextrose Agar*) dilakukan dengan menimbang media sebanyak 39 gram dan kloramfenikol 0,02 mg ke dalam Erlenmeyer, kemudian ditambahkan akuades 1000 ml. Dihomogenkan dan dipanaskan hingga mendidih di hotplate dan dimasukkan *magnetic stirrer* untuk menghomogenkan saat dipanaskan (Emilia, 2017).

3.5.1.2 Pembuatan Media *Potato Dextrose Broth* (PDB)

Pembuatan media PDB (*Potato Dextrose Agar*) dilakukan dengan menimbang media sebanyak 24 gram pada 1000 ml akuades. Dihomogenkan dan dipanaskan hingga mendidih di hotplate dan dimasukkan *magnetic stirrer* untuk menghomogenkan saat dipanaskan.

3.5.1.3 Sterilisasi Alat dan Bahan

Disterilkan terlebih dahulu alat dan bahan yang akan dipergunakan dengan autoklaf. Dibungkus alat gelas dengan plastik, lalu diikat. Pada alat cawan petri terlebih dahulu dibungkus dengan kertas. Untuk alat gelas seperti tabung reaksi ditutup dengan kapas yang dibungkus oleh kasa, lalu dibungkus dengan plastic dan diikat rapat. Media PDA dalam erlenmeyer dimasukkan kedalam plastik dan diikat, lalu semua alat dan bahan disterilkan.

3.5.2 Pemurnian Fungi Endofit

Pemurnian atau peremajaan dilakukan dengan mengambil isolat pada media PDA baru dengan *cork borer* 1 cm. Kemudian diletakkan pada media PDA steril dilakukan pada keadaan aseptis di laminar air flow. Perlakuan kontrol dibuat

dengan cara memasukkan aquades steril kedalam media PDA. Semua isolat diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang. Dilakukan subkultur hingga diperoleh isolat murni dan disimpan pada tabung reaksi yang berisi media agar miring dan disimpan pada kulkas.

3.5.3 Pembuatan Larutan Induk $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1000 ppm

Kristal $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 2,6826 gram dilarutkan dan larutan dituangkan kedalam labu ukur 1000 mL + akuades hingga tanda batas.

3.5.4 Pembuatan Larutan Diethildithiocarbamate-thrihidrate 1%

Bubuk diethildithiocarbamate-thrihidrate ditimbang dengan neraca analitik sebanyak 1 gram. Lalu dilarutkan diethildithiocarbamate-thrihidrate dengan menambahkan 100 ml akuades (Serotiak *et al*, 2014).

3.5.5 Pembuatan Kurva Kalibrasi Cu

Pembuatan kurva kalibrasi Cu menggunakan larutan standar Cu dengan konsentrasi yang rendah sampai konsentrasi Cu yang tinggi. Membuat konsentrasi bertingkat sebesar 2,5 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm dan 50 ppm dalam 5 ml. Larutan standar Cu terdiri dari beberapa tingkat konsentrasi mulai yang rendah sampai konsentrasi tinggi (Khopkar *et al*, 2003).

Langkah selanjutnya yaitu ditambahkan 1 ml ammonium hydrate p.a dan 1 ml larutan diethildithiocarbamate thrihidrate 1%. Lalu ditunggu hingga 15 menit sampai larutan tersebut homogen. Setelah homogen larutan tersebut diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer Uv-Vis dengan panjang gelombang 447 nm (Serotiak *et al*, 2014). Kemudian dibuat kurva kalibrasi berdasarkan nilai absorbansi yang terbaca menggunakan Msc. Excel (Lampiran 3). Spektrofotometri dapat digunakan untuk menganalisis konsentrasi suatu zat di

dalam larutan berdasarkan absorbansi terhadap warna dari larutan pada panjang gelombang tertentu. Metode spektrofotometri memerlukan larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya (Khopkar, 2003).

3.5.6 Uji Toleransi Fungi terhadap Logam Cu

Isolat yang telah dimurnikan dengan umur 7 hari diinokulasi ke dalam botol flakon yang berisi media cair PDB dengan konsentrasi logam Cu sebesar 200, 300, dan 300 ppm serta variasi nilai pH (3,7, dan 9). Fungi dimasukkan dalam botol flakon ukuran 2 ml. Kemudian fungi yang sudah diberi perlakuan diinkubasi pada suhu ruang selama kurun waktu 7 hari. Dihitung nilai indeks toleransinya dengan menggunakan rumus $Ti = \frac{DWt}{DWc} \times 100\%$, (Li *et al*, 2011)

Keterangan: Ti: indeks toleransi

DWt: berat kering miselia perlakuan

DWc: berat kering miselia kontrol

3.5.7 Uji Biosorpsi Tembaga (Cu) pada Isolat

Uji kemampuan biosorpsi Cu dilakukan pada isolat fungi endofit genus *Aspergillus* sebanyak 2 isolat. Sebanyak 10 ml media PDB yang mengandung variasi konsentrasi logam Cu (200,300,400) dan variasi pH (3,7,9) dengan menambahkan 1 N HCl untuk mendapatkan suasana asam dan 1 N NaOH untuk mendapatkan suasana basa dalam tabung flakon 20 ml. Kemudian dimasukkan isolat fungi endofit dari media biakan PDB sebanyak 2 ml dengan pipet tetes. Dosis inokulum fungi berpengaruh terhadap presentasi biosorpsi Cu. Hal ini karena jika dosis inokulum banyak maka daerah *binding sites* untuk mengikat ion logam berat akan lebih banyak (Tu *et al*, 2018). Diinkubasi hingga akhir fase

logaritmik selama 7 hari dengan rotary shaker kecepatan 150 rpm (Pratiwi, 2019). Pengulangan dilakukan tiga kali setiap perlakuan dan membuat perlakuan kontrol.

Disaring biomassa fungi dengan kertas Whatman No1. Diambil hasil saringan berupa larutan tadi sebanyak 1 ml. Lalu ditambahkan 1ml larutan diethidithiocarbamate, 1 ml larutan ammonium hydroxide lalu didiamkan selama 15 menit. Lalu diukur kadar penurunan logam Cu pada dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 447 nm (Serotiak *et al*, 2014). Setelah diketahui nilai absorbansi pada masing-masing isolat, nilai absorbansi dimasukkan pada rumus yang telah didapatkan pada kurva kalibrasi (Lampiran 3). Dihitung kemampuan biosorption Cu dengan rumus (Tu *et al*, 2018) :

$$Q(\%) = \frac{Co - Ce}{Co} \times 100$$

$$qe = \frac{(Co - Ce) \times V}{m}$$

Keterangan : Q = Efisiensi biosorpsi (%)

qe = Kapasitas biosorpsi (mg/g)

Co = Konsentrasi kadar logam Cu awal (mg/L)

Ce = Konsentrasi kadar logam Cu akhir (mg/L)

m = Massa biosorben (g)

V = Volume media PDB (L)

3.5.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil uji kemampuan biosorpsi logam Cu dianalisis menggunakan uji (*Two Way ANOVA*). Dilanjutkan dengan uji Post Hoc Tukey apabila data hasil analisis diketahui berbeda nyata ($\text{Sig.} < 0.05$) analisis dilakukan pada selang kepercayaan 95% ($\alpha=0.05$) menggunakan program SPSS.



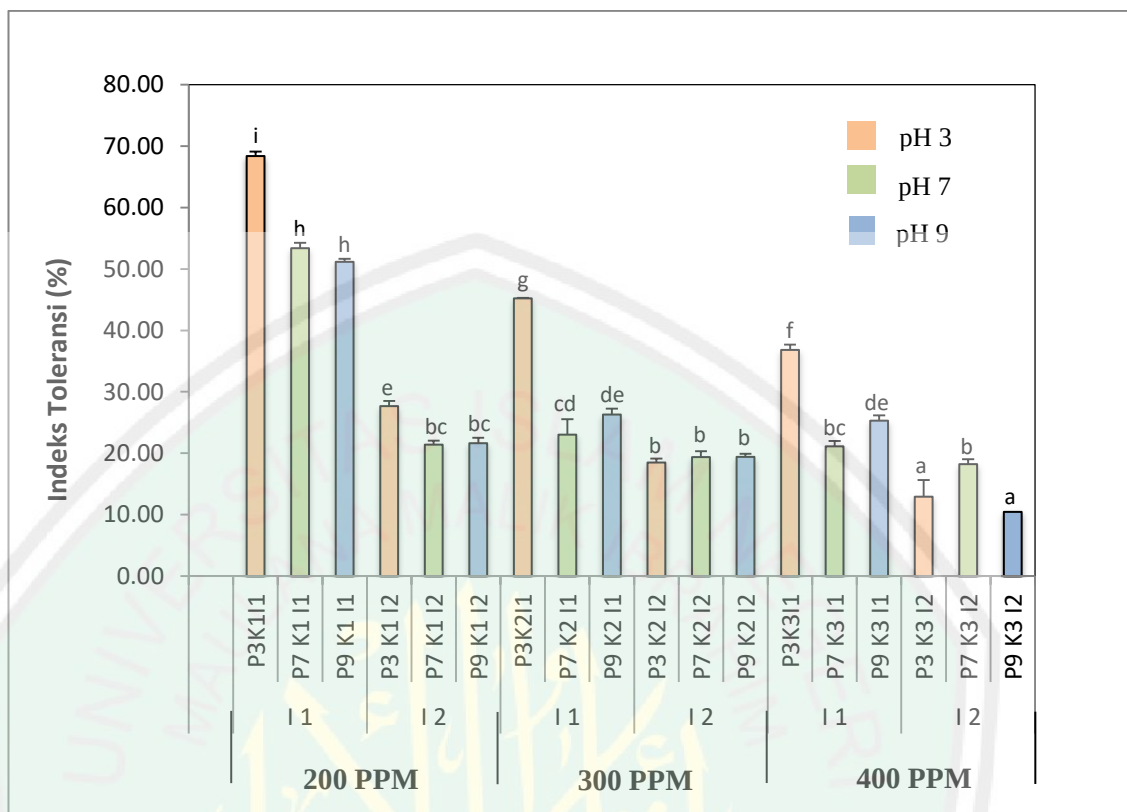
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kemampuan Toleransi Fungi Endofit *Tridax procumbens* terhadap logam Cu pada Perlakuan pH dan Konsentrasi yang Diberikan

Berdasarkan hasil berat kering isolat fungi endofit akar *Tridax procumbens* yaitu I1 dan I2 dapat diketahui nilai prosentase tingkat toleransi fungi atau disebut indeks toleransi yang menurut Mahmood *et al* (2007) indeks toleransi digunakan untuk mengevaluasi kemampuan toleransi suatu organisme terhadap kerentanan dari efek logam berat. Gambar 4.1 menunjukkan bahwa kemampuan toleransi isolat fungi endofit akar *Tridax procumbens* paling besar ditunjukkan oleh kode I1 (isolat 1) dengan presentasi indeks toleransi mencapai 68,40%, 53,40% dan 51,18% pada konsentrasi 200 ppm kadar Cu (Lampiran 5). Presentase indeks toleransi yang tinggi membuktikan bahwa isolat fungi endofit I1 mempunyai kemampuan resisten dari efek kadar logam Cu yang diberikan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Li *et al* (2011) bahwa isolat fungi dapat dikategorikan toleran terhadap logam berat jika memiliki presentase nilai indeks toleransi yaitu lebih dari 50%.

Berbeda dengan persentase pada saat kadar tembaga ditinggikan hingga 300 ppm dan 400 ppm kemampuan toleransi fungi I1 menurun pada setiap penambahan konsentrasi yang diberikan, yakni dengan indeks toleransi <50%. Menurut Anahid *et al* (2011) bahwa dari beberapa kasus apabila terjadi penurunan TI (Indeks toleransi) dengan peningkatan konsentrasi logam berat mungkin disebabkan oleh sifat adaptasi jamur yang menurun, tetapi hal ini tidak berarti bahwa fungi tidak dapat mentoleransi konsentrasi logam berat yang tinggi

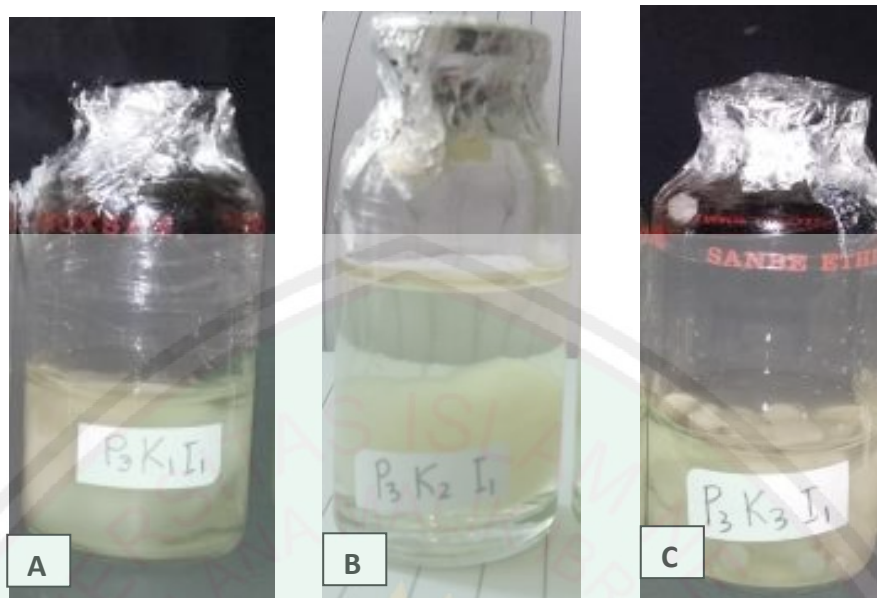


Gambar 4.1 Prosentase Indeks Toleransi Isolat Fungi Endofit *Tridax procumbens* terhadap kadar konsentrasi Cu. Perbedaan huruf atau notasi menunjukkan perbedaan antar perlakuan pada taraf kepercayaan 95%.

Lain halnya dengan kemampuan pertumbuhan isolat fungi endofit kode I2 hanya mampu toleran dengan persentase toleransi paling tinggi hanya mencapai 45% atau <50% (Lampiran 7). Hal ini dikarenakan setiap spesies fungi endofit memiliki tingkat kerentanan terhadap kadar spesiasi logam berat yang diberikan. Menurut Shaky (2015) bahwa fungi memiliki potensi toleransi terhadap logam berat yang berbeda-beda pada tiap-tiap spesiesnya. Hal tersebut disebabkan karena beberapa spesies fungi memiliki penyusun dinding sel yang berbeda dengan fungsi yang berbeda pada setiap spesiesnya.

Toleransi pertumbuhan yang ditunjukkan dari kedua isolat fungi dalam keberadaan logam tembaga pada konsentrasi yang tinggi ditandai dengan adanya miselia yang masih mampu tumbuh pada media dengan kadar Cu yang ditunjukkan pada (Gambar 4.2). Menurut Nazareth dan Marbaniang (2008) organisme yang hidup dibawah tekanan lingkungan asli atau buatan akan mengembangkan berbagai mekanisme untuk mengatasi kondisi buruk. Dalam fungi, tekanan logam berat dapat ditoleransi oleh karakteristik fisiologi atau dengan adaptasi melalui perubahan sementara dalam perkembangan fungi. Hal tersebut terbukti pada penelitian ini yaitu pertumbuhan miselia fungi mengalami perubahan morfologi atau bentuk misellium searah dengan bertambahnya konsentrasi Cu yang diberikan. Dapat diamati pada gambar 4.2 bahwa morfologi fungi pada media cair dengan konsentrasi 200 dan 300 membentuk miselium yang solid atau menebal sedangkan pada konsentrasi 400 ppm miselium terpisah. Hal ini juga dibuktikan dengan berat kering yang menurun seiring konsentrasi logam Cu dinaikkan.

Hal ini sesuai dengan sifat logam tembaga yang merupakan logam esensial yang dibutuhkan oleh makhluk hidup, namun akan berubah menjadi toksik apabila ditemukan pada lingkungan dengan konsentrasi tinggi Avery (2001). Selain itu dikarenakan menurut Avery (2001), Cu dalam bentuk cupro (Cu^{2+}) akan lebih bersifat racun pada sel mikroba. Logam berat Cu yang masuk kedalam sel akan berakibat untuk membentuk senyawa radikal bebas yang selanjutnya berikatan dengan protein dan DNA, merusak membrane sel mikroba, inhibitor kerja enzimatis, dan menyebabkan keluarnya sitosol sel dan merubah morfologi dari sel mikroba tersebut.



Gambar 4.2 Pertumbuhan miselia fungi endofit : A. Isolat I1 pada konsentrasi Cu 200 ppm, B. Isolat I1 pada konsentrasi Cu 300 ppm, C. Isolat I1 pada konsentrasi Cu 400 ppm.

Mekanisme toleransi fungi dalam dalam mentolerir keberadaan logam berat Cu yaitu dengan adanya mekanisme dinding sel (ekstraseluler) seperti pada gambar 2.2. Menurut Cervates dan Felix (1994) bahwa mekanisme resistensi fungi terhadap tembaga melalui pengikatan permukaan oleh dinding sel fungi. Fase pengikatan pada dinding sel fungi dibuktikan oleh penelitian Germann dan Lerch (1987) bahwa strain mutan *N.crasa* tanpa dinding sel menunjukkan adanya pengurangan akumulasi tembaga saat dikultur dengan penambahan logam dari pada strain yang memiliki dinding sel. Selain itu perubahan secara kualitatif dan kuantitatif ditunjukkan pada penelitian Venkateswerlu (1989) bahwa fungi *Cunninghamella blakesleeana* saat dikontakkan dengan logam Cu mengalami perubahan ultrastruktural morfologi berupa perubahan miselian berwarna biru dengan diameter lebih besar serta lebih tebal. Penebalan dinding sel karena

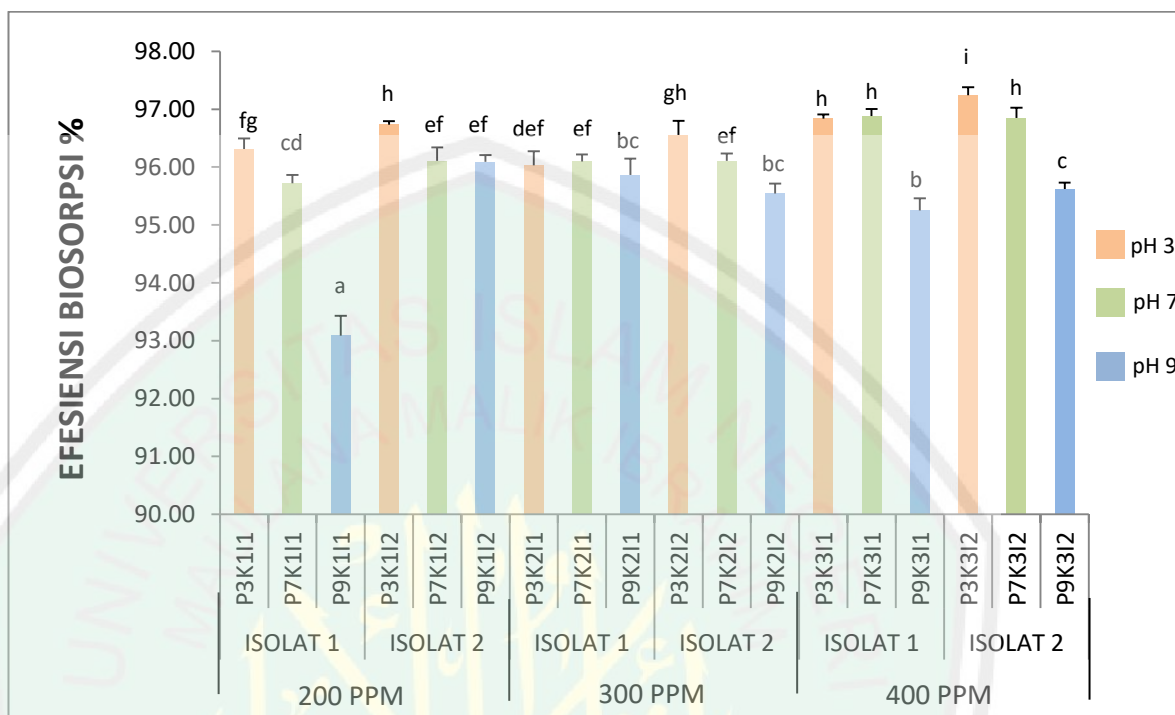
adanya perubahan komposisi dinding sel yaitu peningkatan protein hydroxyl dibandingkan miselia kontrol.

Fungi telah mengembangkan berbagai mekanisme resistensi tembaga untuk bertahan hidup di hadapan konsentrasi racun ion tembaga. Representasi skematis dari mekanisme utama resistensi tembaga dalam sel fungi diawali dengan pengikatan ion tembaga oleh komponen dinding sel. Kemudian ion tembaga masuk dalam membran sel lalu terjadi khelasi tembaga intraseluler oleh protein metallothionein dan glutathione-derived γ -peptides, lalu metabolit tembaga disekresikan dengan sifat yang tidak toksik (Cervantes *et al*, 1994).

4.2 Nilai pH dan Konsentrasi Optimum Biosorpsi Logam Cu oleh Fungi Endofit Akar *T. procumbens* di Pertambangan Minyak Tradisional Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur

4.2.1 Nilai pH Optimum dalam Proses Biosorpsi

Berdasarkan uji biosorpsi yang dilakukan bahwa kode isolat I2 memiliki tingkat biosorpsi dalam penghilangan Cu paling tinggi. Hal ini terbukti pada konsentrasi akhir setelah dilakukan uji biosorpsi, bahwa presentase penghilangan Cu oleh fungi isolat 2 mencapai 97.24% pada kode P3K3I2 seperti yang ditunjukkan pada (Gambar 4.3). Isolat fungi I2 merupakan isolat fungi endofit yang pada penelitian sebelumnya Pratiwi (2019) juga memiliki potensi yang tinggi dibandingkan isolat I1 mencapai 89,88% pada 200 ppm kadar Cu. Sedangkan kemampuan prosentase efesiensi penghilangan logam pada penelitian ini mencapai 97.24 % dari kadar logam yang diujikan sebesar 400 ppm.



Gambar 4.3 Efisiensi Biosorpsi Logam Cu (%) oleh isolat fungi endofit akar *Tridax procumbens*. Perbedaan huruf atau notasi menunjukkan perbedaan antar perlakuan pada taraf kepercayaan 95%.

Berdasarkan beberapa kondisi pH dan konsentrasi yang diatur isolat I2 merupakan isolat yang berpotensi paling tinggi dalam penghilangan Cu, yaitu pada kondisi asam (pH 3) (Gambar 4.5). Hal tersebut menunjukkan bahwa kondisi lingkungan sangat mempengaruhi proses biosorpsi suatu fungi. Menurut Das *et al* (2018) mekanisme biosorpsi merupakan suatu proses yang rumit. Beberapa faktor seperti penggunaan biomassa, sifat-sifat kimia larutan logam, kondisi nilai pH dapat mempengaruhi mekanisme biosorpsi suatu mikroba. Menurut Al-Homaidan *et al* (2014) nilai suatu pH adalah faktor utama yang mempengaruhi kelarutan ion logam dan derajat ionisasi. Sedangkan berdasarkan hasil bahwa fungi endofit I1

menunjukkan penghilangan logam Cu paling optimum pada pH antara 3 dan 7. Hal ini dibuktikan dengan konsentrasi akhir Cu yang tidak begitu berbeda nyata atau signifikan yaitu secara berurutan (pH 3 sebesar 96.84% dan pH 7 sebesar 96,88%) dalam konsentrasi awal Cu sebesar 400 ppm. Sedangkan pada konsentrasi 300 ppm (pH 3 sebesar 96.03% dan pH 7 sebesar 96.10%) selain itu diperkuat oleh hasil analisis pada (lampiran 3). Serta pada konsentrasi awal Cu 400 ppm (pH 3 sebesar 12,66 ppm dan pH 7 sebesar 12,48 ppm).

Kondisi optimal dalam biosorpsi pada penelitian ini cenderung pada keadaan pH asam pada I1 maupun I2. Menurut Filipovic, *et al* (2000) potensi biosorpsi yang dipengaruhi oleh nilai pH pada penelitiannya yaitu spesies *Aspergillus niger* menyerap Cu secara optimum dilakukan pada pH 5 (atau pH asam) dan mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya nilai pH. Selain itu berdasarkan Lapik (2017) bahwa pH larutan yang efektif dalam biosorpsi kisaran 3-5. Berdasarkan penelitiannya *Sacharomyces cereviceiae* mampu menyerap logam berat Cr (IV) secara bioorpsi pada pH 3. Hal ini juga didukung oleh Basyiruddin *et al* (2018) pada penelitiannya bahwa penurunan logam Cu oleh *Sacharomyces cereviceae* paling tinggi berada pada pH 5. Selain itu pada Peng *et al* (2010) bahwa prosentase penghilangan logam Cu oleh *Sacharomyces cereviceae* maksimum 98% pada pH 4 dan mulai mengalami penurunan removal pada pH 7. Oleh itu bioorpsi logam Cu dapat bekerja maksimum dapat terjadi pada kisaran pada nilai pH 2-6. Penyerapan logam tersebut dapat terjadi karena adanya muatan negatif pada dinding fungi yang berikatan dengan muatan positif larutan logam sehingga mampu menurunkan kadar ion logam pada larutan (Lapik, 2017).

Dinding sel fungi terdiri dari polisakarida, protein, lipid, kitin yang mempunyai gugus fungsional seperti karboksil, hidroksil, sulfat, fosfat dan amino. Dalam proses biosorpsi adanya gugus-gugus fungsional yang ada pada dinding sel fungi inilah yang menjadi *binding sites* berikatan dengan ion logam. Kim *et al* (2005) mengatakan gugus karboksil dan amina adalah merupakan gugus utama yang berperan dalam proses pengikatan ion logam. Namun ketika nilai pH tinggi dari nilai tertentu atau 7, maka sifat logam Cu akan cenderung bergabung dengan OH⁻ dan itu dapat bersaing dengan ligan untuk mengikat ion logam, yang akhirnya akan mengarah ke penurunan efisiensi penghilangan Cu. Oleh karena itu penurunan ion logam Cu sangat dipengaruhi oleh gugus fungsional dinding sel fungi. Dengan demikian, pH 3 optimum dalam solusi penurunan Cu untuk isolat I2 pada penelitian ini. Namun konsentrasi akhir sangat berbeda pada nilai pH 9 atau basa.

Hal diatas didukung oleh Saefudin (2000) bahwa pada kondisi pH berada diatas 7 kemampuan biomassa untuk mengikat ion logam menjadi semakin kecil dan mengurangi kemampuan penyerapan. Hal ini dikarenakan bahwa pada pH basa ion logam cenderung mengalami presipitasi menjadi garam dan mengurangi kelarutan ion logam sehingga jumlah ion yang teradsorpsi oleh permukaan sel menjadi berkurang. Oleh karenanya kemampuan biomassa fungi dalam menyerap logam Cu tidak dapat diketahui secara optimal karena pengaruh presipitasi.

Berdasarkan keampuannya bahwa isolat I2 adalah isolat yang memiliki efektifitas paling tinggi dalam proses biosorpsi penghilangan Cu, namun berdasarkan nilai indeks toleransi atau berat kering biomassa bahwa isolat fungi endofit I1 lebih toleran terhadap kehadiran logam Cu. Hal ini dibuktikan dengan

tingkat indeks toleransi logam Cu hingga mencapai >50% atau tinggi pada I1. Berdasarkan hal tersebut, telah menunjukkan bahwa tidak adanya korelasi antara kemampuan suatu fungi dalam mentolerir adanya logam dan kemampuan biosorpsi fungi dalam mengadsorpsi logam Cu. Menurut Zafar *et al* (2007) bahwa dalam penelitiannya kurangnya korelasi antara toleransi logam dan penyerapan logam oleh biomassa hidup atau mati dikarenakan perbedaan dalam mekanisme resistensi suatu biomassa tersebut. Hal ini dikarenakan mekanisme resistensi yang mungkin tidak terkait dengan biosorpsi.

4.2.2 Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Cu Terhadap Biosorpsi Optimum

Logam Cu oleh Fungi Endofit Akar *T. procumbens*

Berdasarkan faktor konsentrasi, logam Cu yang pada larutan berdasarkan hasil yang didapatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi logam yang diberikan maka efisiensi penghilangan Cu oleh biomassa isolat fungi semakin meningkat, sebagaimana yang ditunjukkan pada (gambar 4.3). Menurut Rakhmawati 2006 dalam Lapik (2017) bahwa biosorpsi akan meningkat sejalan dengan kenaikan konsentrasi logam berat sampai mengalami kejenuhan. Berdasarkan hal ini konsentrasi awal suatu logam mempengaruhi efisiensi penyerapan logam Cu oleh fungi. Fase kejenuhan didapatkan apabila terjadi penurunan efisiensi penghilangan Cu pada saat konsentrasi logam dinaikkan. Namun pada penelitian ini bahwa penghilangan logam Cu mengalami peningkatan sejalan dengan penambahan konsentrasi logam yang diberikan. Hal ini juga didukung oleh Oscik (1982) bahwa pada permukaan adsorben terdapat sejumlah situs aktif yang proposional dengan luas permukaan penyerapan. Jadi dengan membesarkan konsentrasi ion logam yang dikontakkan, adsorpsi ion logam akan meningkat linear sampai

konsentrasi tertentu. Bila situs adsorpsi telah jenuh, maka kenaikan konsentrasi relatif tidak meningkatkan jumlah zat teradsorpsi. Hal ini membuktikan bahwa berat adsorben yakni miselia isolat fungi endofit I2 masih dapat menyerap logam Cu hingga mencapai konsentrasi 400 ppm.

Hal diatas sesuai dengan penelitian Iram *et al* (2015) yang menyatakan bahwa *Aspergillus flavus* mampu meningkatkan penghilangan Cu searah dengan meningkatnya konsentrasi 200-1400 ppm dengan prosentase removal 20-93%. Hasil penemuan ini jelas menunjukkan bahwa kapasitas penyerapan meningkat dan mencapai nilai saturasi karena konsentrasi ion logam meningkat dalam media berair. Penelitian ini sejalan dengan data logam yang dilaporkan sebelumnya yakni mengenai penyerapan ion oleh *Aspergillus niger* terhadap logam Cu dan banyak penelitian serupa lainnya. Mukhopadhyay *et al* (2007) menyatakan bahwa pada peneltiannya menggunakan fungi *Aspergillus niger* pada konsentrasi ion logam Cu yang tinggi jumlah ion Cu yang teradsorpsi lebih banyak dari pada konsentrasi logam rendah, di mana lebih banyak interaksi yang mengikat bebas ion logam tersebut kedalam *biding site*. Hal ini juga diperkuat oleh penelitian Say *et al* (2001) bahwa data biosorpsi Cu pada fungi jenis *Phanerochaete chrysoorium* mengalami peningkatan penyerapan seiring dengan bertambah tingginya konsentrasi ion logam.

Besarnya penyerapan atau adsorpsi logam oleh biomassa fungi dikaitkan dengan kontak antara dinding sel fungi dan logam berat Cu. Menurut Deshmukh dan Rai (2005) bahwa peningkatan serapan logam dikaitkan dengan toksisitas logam dan permeabilitas membran sel mikroorganisme dalam mengikat logam kedalam situs intraseluler. Protein Metalothioneins (MTs) adalah protein yang

bertanggung jawab dalam mengikat dan mendetoksifikasi berbagai logam berat. Price *et al* (2001) dalam penelitiannya bahwa bahwa *A.niger* diketahui memiliki protein metallothionein tembaga (CuMT) sebagai protein intraseluler yang bertanggung jawab dalam mengikat logam tembaga.

Selain faktor nilai pH dan konsentrasi terdapat faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi proses biosorpsi, antara lain waktu kontak, laju biosorpsi dan suhu. Faktor yang mendukung pengoptimalan penghilangan logam Cu dalam larutan. Waktu kontak juga berpengaruh dalam tingkat efektifitas penyerapan biomassa terhadap logam berat terkait. Semakin lama logam dikontakkan dengan permukaan sel, maka semakin banyak permukaan sel yang menjadi aktif dan melakukan penyerapan terhadap logam (Lapik, 2017). Menurut Fenner *et al* (2005), mengatakan peningkatan persentase penyerapan terjadi secara cepat pada waktu kontak antara 0 sampai 180 menit. Setelah itu kemampuan penyisihan logam oleh biomassa menjadi menurun sampai mendekati konstan. Kondisi konstan mengindikasikan bahwa tidak ada lagi permukaan sel yang dapat menjadi aktif dan membentuk ikatan dengan logam.

Penelitian mengenai kemampuan suatu organisme makhluk hidup contohnya fungi endofit dalam mengatasi suatu masalah kerusakan lingkungan yang ada di muka bumi ini terkandung dalam Al-Quran surat Al-Qasas ayat 77:

وَابْتَغِ فِيمَا آتَاكَ اللَّهُ الدَّارَ الْآخِرَةَ وَلَا تَنْسَ نَصِيبَكَ مِنَ الدُّنْيَا وَأَحْسِنْ كَمَا أَحْسَنَ اللَّهُ إِلَيْكَ وَلَا تَبْغِ الْفُسَادَ فِي الْأَرْضِ إِنَّ اللَّهَ لَا يُحِبُّ الْمُفْسِدِينَ

Artinya: "Dan carilah pada apa yang telah dianugerahkan Allah kepadamu (kebahagiaan) negeri akhirat, dan janganlah kamu melupakan kebahagiaanmu dari (kenikmatan) duniawi dan berbuat baiklah (kepada orang lain) sebagaimana Allah telah berbuat baik kepadamu dan janganlah kamu berbuat kerusakan di (muka) bumi. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berbuat kerusakan.

Ayat diatas menjelaskan bahwasanya Allah telah memberikan nikmat yang tak terhingga kepada manusia, berupa akal dan nafsu. Dimana kedua anugerah tersebut harus dimanfaatkan untuk berfikir dan bertindak dalam mengatasi permasalahan kerusakan lingkungan yang ada dimuka bumi. Hal ini karena manusia adalah makhluk yang sempurna diantara makhluk Allah yang lain di muka bumi. Oleh karena itu rasa menjada lingkungan akan kerusakan merupakan salah satu bentuk rasa syukur manusia kepada Allah sebagai umatnya yang sempurna.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan berdasarkan penelitian mengenai Optimalisasi biosorpsi oleh fungi endofit akar *Tridax procumbens* dari tanah tercemar tembaga adalah sebagai berikut,

1. Kemampuan toleransi pada isolat fungi endofit paling tinggi oleh kode isolat I1 yaitu hingga mencapai prosentase toleransi mencapai 68,40%, 53,40% dan 51,18% pada konsentrasi 200 ppm kadar Cu.
2. Nilai pH optimum pada proses biosorpsi logam berat Cu adalah pada kondisi pH 3 (asam). Sementara hasil efisiensi biosorpsi logam tembaga yang dilakukan oleh isolat I2 mencapai 97.24% dari kadar konsentrasi awal Cu sebesar 400 ppm

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat dikemukakan beberapa saran yaitu menambahkan beberapa faktor yang mempengaruhi proses biosorpsi seperti waktu kontak, laju biosorpsi dan temperatur sehingga proses biosorpsi dapat berjalan dengan optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M., & Mubarak, M. Z. (2010). *Al-Qur'an & konservasi lingkungan: argumen konservasi lingkungan sebagai tujuan tertinggi syari'ah*. Dian Rakyat.
- Aguilera, F., Méndez, J., Pásaro, E., & Laffon, B. (2010). Review on the effects of exposure to spilled oils on human health. *Journal of Applied Toxicology: An International Journal*, 30(4), 291-301.
- Ahalya, N., Ramachandra, T. V., & Kanamadi, R. D. (2003). Biosorption of heavy metals. *Res. J. Chem. Environ*, 7(4), 71-79.
- Ahmad, Riza Zainuddin. (2018). Mikoremediasi menghilangkan polusi logam berat pada lahan bekas tambang untuk lahan peternakan. *Wartazoa*. 28(1).
- Akar, T., & Tunali, S. (2006). Biosorption characteristics of *Aspergillus flavus* biomass for removal of Pb (II) and Cu (II) ions from an aqueous solution. *Bioresource Technology*, 97(15), 1780-1787.
- Akinkunmi, W. A., Husaini, A. A. S. A., Zulkharnain, A., Guan, T. M., & Roslan, H. A. (2016). Mechanism of biosorption of lead (II) and copper (II) ions using dead biomass of *Fusarium equiseti* strain UMAS and *Penicillium citrinum* strain UMAS B2. *Journal of Biochemistry, Microbiology and Biotechnology*, 4(2), 1-6.
- Aksu, Z., & Tezer, S. (2005). Biosorption of reactive dyes on the green alga *Chlorella vulgaris*. *Process Biochemistry*, 40(3-4), 1347-1361.
- Al-Homaidan, A. A., Al-Houri, H. J., Al-Hazzani, A. A., Elgaaly, G., & Moubayed, N. M. (2014). Biosorption of copper ions from aqueous solutions by *Spirulina platensis* biomass. *Arabian Journal of Chemistry*, 7(1), 57-62.
- Ali, H., Khan, E., & Sajad, M. A. (2013). Phytoremediation of heavy metals concepts and applications. *Chemosphere*, 91(7), 869-881.
- Al-Jazairi, Abu Bakar Jabir. (2006). *Tafsir Al-Aisar*. Jakarta: Darus Sunnah.
- Al-Mahali, Jalaludin, dan As Syuthi. (2010). *Tafsir Jalalain*. Surabaya: Pustaka Elba.
- Anahid, S., Yaghmaei, S., & Ghobadinejad, Z. (2011). Heavy metal tolerance of fungi. *Scientia Iranica*, 18(3), 502-508.
- Arıca, M. Y., Arpa, C., Ergene, A., Bayramoğlu, G., & Genç, Ö. (2003). Ca-alginate as a support for Pb (II) and Zn (II) biosorption with immobilized *Phanerochaete chrysosporium*. *Carbohydrate Polymers*, 52(2), 167-174.

- Ashish, B., Neeti, K., & Himanshu, K. (2013). Copper toxicity: a comprehensive study. *Research Journal of Recent Sciences* ISSN, 2277, 2502.
- Asriani, A. (2017). *Identifikasi Logam Tembaga (Cu) pada Zonasi Radius 1-5 Km Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Antang Makassar terhadap Pengaruh Kualitas Air Sumur Gali* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar).
- Atafar, Z., Mesdaghinia, A., Nouri, J., Homae, M., Yunesian, M., Ahmadimoghaddam, M., & Mahvi, A. H. (2010). Effect of fertilizer application on soil heavy metal concentration. *Environmental monitoring and assessment*, 160(1-4), 83.
- Avery, S.V.(2001). Metal toxicity in yeast and the role of oxidative stress. *Adv.Appl.Micrbial*.49.
- Stone, J. K., Bacon, C. W., & White Jr, J. F. (2000). An overview of endophytic microbes: endophytism defined. In *Microbial endophytes* (pp. 17-44). CRC Press.
- Basyiruddin, F., Setiawan, A., & Dermawan, D. (2018). Identifikasi Pengaruh pH Terhadap Kemampuan Biosorpsi *Saccharomyces cerevisiae* dalam Mengurangi Kadar Cu. In *Conference Proceeding on Waste Treatment Technology* (Vol. 1, No. 1, pp. 85-90).
- Bradl, H. (Ed.). (2005). *Heavy metals in the environment: origin, interaction and remediation* (Vol. 6). Elsevier.
- Calvo, J., Jung, H., & Meloni, G. (2017). Copper metallothioneins. *IUBMB life*, 69(4). 236-245.
- Chanif, I., Djauhari, S., & Aini, L. Q. (2015). Uji potensi jamur pelapuk putih dalam bioremediasi insektisida karbofuran. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan*, 3(2), pp-83.
- Cervantes, C., & Gutierrez-Corona, F. (1994). Copper resistance mechanisms in bacteria and fungi. *FEMS microbiology reviews*, 14(2), 121-137..
- Das, N., Vimala, R., & Karthika, P. (2008). Biosorption of heavy metals—an overview.
- Deshmukh, S. K., & Rai, M. K. (2005). *Biodiversity of fungi*. Enfield: Science Publishers, Inc.
- Dwijoseputro. D. (2010). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Cet 17. Jakarta : Djambatan.
- Dwiyanto, Arif. (2007). Peranan Penambangan Minyak Tradisional Dalam Pembangunan Masyarakat Desa (Studi Kasus Desa Ledok, Kecamatan Sambong, Kabupaten Blora). *Tesis*. MPPWK UNDIP.
- Emilia, Rahmawati. (2017). Isolasi dan Identifikasi Fungi Endofit dari Buah dan Daun Strawberry sebagai Penghasil Senyawa Antioksidan. *Skripsi*. UIN Malang.

- Fenner, R., Sortino, M., Rates, S. K., Dall'Agnol, R., Ferraz, A., Bernardi, A. P., ... & Zacchino, S. (2005). Antifungal activity of some Brazilian Hypericum species. *Phytomedicine*, 12(3), 236-240.
- Gadd, G. M. (1992). Microbial control of heavy metal pollution. *Microbial control of pollution*, 69-88.
- Gandjar, I., W. Sjamsuridjal, dan A. Detrasi. (2006). *Mikologi Dasar dan Terapan*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Gavrilescu, M. (2004). Removal of heavy metals from the environment by biosorption. *Engineering in Life Sciences*, 4(3), 219-232.
- Germann, U. A., & Lerch, K. (1987). Copper accumulation in the cell-wall-deficient slime variant of *Neurospora crassa*. Comparison with a wild-type strain. *Biochemical journal*, 245(2), 479-484.
- Ghaed, S., Shirazi, E. K., & Marandi, R. (2013). Biosorption of copper ions by *Bacillus* and *Aspergillus* species. *Adsorption Science & Technology*, 31(10), 869-890.
- Goksungup, Y., Uren, S., & Guvenc, U. (2002). Biosorption of Cooper Ion by Caustic Treated Waste Baker's Yeast Biomass. *Turk. J. Biol.* 27.
- Handrianto, P. (2012). Bioremediasi Tanah Tercemar Minyak Bumi di Lokasi Pertambangan Tradisional Bojonegoro dengan Metode Stimulasi Menggunakan Kotoran Sapi. (*Doctoral Dissertation*, Universitas Airlangga).
- Ideriah, T. J. K., Ikpe, F. N., & Nwanjoku, F. N. (2013). Distribution and speciation of heavy metals in crude oil contaminated soils from Niger Delta, Nigeria. *World Environment*, 3(1), 18-28.
- Iram, Shazia dan Sumera Abrar. (2015). Biosorption of copper and lead by heavy metal resistant fungal isolates. *International Journal of Sciencetific and Research Publications*. 5(1).
- Iskandar, N. L., Zainudin, N. A. I. M., & Tan, S. G. (2011). Tolerance and biosorption of copper (Cu) and lead (Pb) by filamentous fungi isolated from a freshwater ecosystem. *Journal of Environmental Sciences*, 23(5), 824-830.
- Jasmidi. (2001). Pengaruh pH Awal Larutan Terhadap Biosorpsi Mn(II) oleh Biomassa *Saccharomyces cereviceae*. Jurusan Kimia FMIPA. *Prosiding*. Universitas Negeri Medan.
- Khopkar, S. M., & Saptorahardjo, A. (2003). *Konsep dasar kimia analitik*. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press).
- Kim, T. Y., Park, S. K., Cho, S. Y., Kim, H. B., Kang, Y., Kim, S. D., & Kim, S. J. (2005). Adsorption of heavy metals by brewery biomass. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 22(1), 91-98.
- Koesmadinata, R.P. (1980). *Geologi Minyak dan Gas Bumi*. Bandung: ITB Press.

- Kotrba, P., Mackova, M., & Macek, T. (2011). *Microbial Biosorption of Metal*. Springer, New York.
- Filipović-Kovačević, Ž., Sipos, L., & Briški, F. (2000). Biosorption of chromium, copper, nickel and zinc ions onto fungal pellets of *Aspergillus niger* 405 from aqueous solutions. *Food Technology and Biotechnology*, 38(3), 211-216.
- Lapik, C. (2017). Biosorpsi Logam Berat Cr (Vi) Dengan Menggunakan Biomassa *Saccharomyces Cerevisiae*..
- Listiarini, Maeko P, A. Amri, Ahmad Fadli, D. Heltina, Chairul. (2006). Keseimbangan Biosorpsi Logam Berat Pb(II) dengan biomassa *Aspergillus niger*. *Seminar Nasional Teknik Kimia*. Teknologi Oleo dan Petrokimia Indonesia.
- Mahmood, T., Islam, K. R., & Muhammad, S. (2007). Toxic effects of heavy metals on early growth and tolerance of cereal crops. *Pakistan Journal of Botany*, 39(2), 451.
- Marimuthu, T., Rajendran, S., & Manivannan, M. (2013). A review on bacterial degradation of textile dyes. *J Chem Chem Sci*, 3, 201-212.
- Mukhopadhyay, M., Noronha, S. B., & Suraishkumar, G. K. (2007). Kinetic modeling for the biosorption of copper by pretreated *Aspergillus niger* biomass. *Bioresource technology*, 98(9), 1781-1787..
- Munir E, (2006). *Pemanfaatan Mikroba dalam Bioremediasi: Suatu teknologi Alternatif untuk Pelestarian Lingkungan*. Medan: USU e-Repository.
- Naumi, Rizha N. (2015). Pertambangan Minyak Tradisional di Desa Wonocolo, Kecamatan Kedewan, Kab. Bojonegoro. *Avatara*. 3(1).
- Nazareth, S., & Marbaniang, T. (2008). Effect of heavy metals on cultural and morphological growth characteristics of halotolerant *Penicillium* morphotypes. *Journal of basic microbiology*, 48(5), 363-369.
- Novita, Sihalo, Mangara, Iyabu dan Hendri. (2015). "Analisis Kadar Logam Pb dan Cu pada Saluran Pembuangan Limbah Laboratorium Kimia Universitas Negeri Gorontalo Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometer Serapan Atom". *Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Matematika dan Ipa*. 8.(2).
- Nugroho, A. (2006). *Bioremediasi Hidrokarbon Minyak Bumi*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Nyongesa, B. W., Okoth, S., & Ayugi, V. (2015). Identification key for *Aspergillus* species isolated from maize and soil of Nandi County, Kenya. *Advances in Microbiology*, 5(04), 205.
- Oscik, J. (1982). *Adsorption*. John Willey & Sons, Inc. New York.
- Palar, H. (1994). *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta: PT. Rineka Cipta,

- Peng, Q., Liu, Y., Zeng, G., Xu, W., Yang, C., & Zhang, J. (2010). Biosorption of copper (II) by immobilizing *Saccharomyces cerevisiae* on the surface of chitosan-coated magnetic nanoparticles from aqueous solution. *Journal of Hazardous materials*, 177(1-3), 676-682.
- Pratiwi Inna Frenina. (2019). Isolasi dan Uji Biosorpsi Tembaga (Cu) oleh Fungi Endofit Akar Gletang (*Tridax procumbens*) dari Tanah Tercemar Pertambangan Minyak Tradisional, Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur. (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang).
- Pratiwi, N.A., & Sunarto, S. (2018). Perbandingan Validasi Metode Analisis Ion Tembaga (II) tanpa Pengompleks dan Dengan Pengompleks Na-Dietilditiokarbamat Secara Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Kimia Dasar*. Vol.7(3), 96-104
- Price M. S., Classen J J., Payne G A. (2001). *Aspergillus niger* Absorb Copper and Zink from Swine wastewater. *Bioresource Technology*. Vol.77.
- Radji, M. 2005. Peranan Bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2(3).
- Rao, K. R., Rashmi, K., Latha, J., & Mohan, P. M. (2005). Bioremediation of toxic metal ions using biomass of *Aspergillus fumigatus* from Fermentative Waste. *Indian Journal of Biotechnology*. 4 139-143.
- Ratnawati, E., Ermawati, R., & Naimah, S. (2010). Teknologi Biosorpsi oleh Mikroorganisme, Solusi Alternatif untuk Mengurangi Pencemaran Logam Berat. *Jurnal Kimia dan Kemasan*, 32(1), 34-40.
- Rijal, M. (2017). Isolasi Kapang Pendegradasi Hidrocarbon Dari Limbah Minyak Bumi PT. Ollopo Bula. *Techno: Jurnal Penelitian*, 6(01), 1-10.
- Rodriguez, R. J., White Jr, J. F., Arnold, A. E., & Redman, A. R. A. (2009). Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New phytologist*, 182(2), 314-330.
- Saefudin, T.P., dan Kusnadi. (2000). *Pengaruh pH dan Waktu Kontak Terhadap Biosorpsi Logam Zn Oleh Biomassa Aspergillus niger Van Tinenghem Pada Larutan Limbah Pertambangan Nikel*. Bandung: Universitas Pendidikan Indonesia.
- Samson, 2004 dalam Hafsari, A. R., & Asterina, I. . (2013). Isolasi Kapang Endofit dari Tanaman Obat Surian (*Toona sinensis*). *Edisi Agustus*. (7)2.
- Say, R., Denizli, A., & Arica, M. Y. (2001). Biosorption of cadmium (II), lead (II) and copper (II) with the filamentous fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Bioresource Technology*, 76(1), 67-70.
- Schlegel Hans G,. (1994). *Mikrobiologi Umum*. Edisi keenam. Yogyakarta : Gajah Mada University Press.

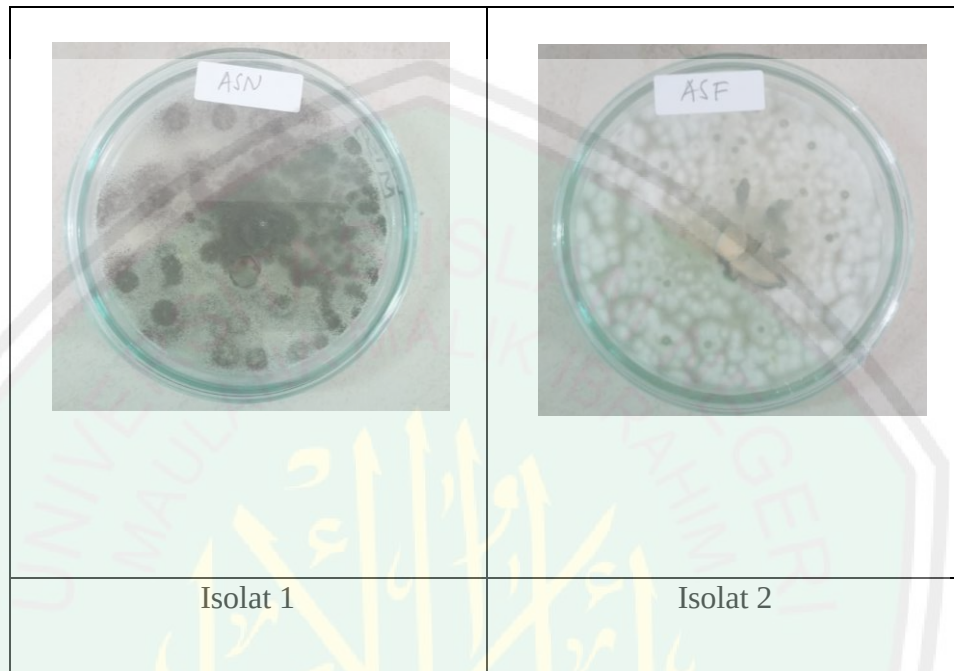
- Sembiring, Z., & Buhani, S. (2009). Isoterm Adsorpsi Ion Pb (II), Cu (II) dan Cd (II) Pada Biomassa *Nannochloropsis* sp yang Dienkapsulasi Akuagel Silika. *Indonesian Journal of Chemistry*, 9.
- Sirotiak, M., BARTOŠOVÁ, A., & Blinova, L. (2014). UV-Vis Spectrophotometric Determinations of Selected Elements in Modelled Aqueous Solutions. *Journal of Environmental Protection*. Vol.2(3).
- Shakya, M., Sharma, P., Meryem, S. S., Mahmood, Q., & Kumar, A. (2015). Heavy metal removal from industrial wastewater using fungi: uptake mechanism and biochemical aspects. *Journal of Environmental Engineering*, 142(9), C6015001.
- Shihab, M. Quraish. (2002). *Yafsir Al-Misbah: Pesan dan Kesorasian Al-Quran Volume 7*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sigler, L., & Carmichael, J. W. (1983). Redisposition of some fungi referred to *Odium microsporum* and a review of *Arthrographis*. *Mycotaxon*.
- Sinly, E. P., & Johan, A. P. (2007). . Bioremoval, Metode Alternatif untuk Menanggulangi Pencemaran Logam Berat.. *Artikel, Universitas Lampung*.
- Solyak, Soylak, M., Tuzen, M., Mendil, D., & Turkecul, I. (2006). Biosorption of heavy metals on *Aspergillus fumigatus* immobilized Diaion HP-2MG resin for their atomic absorption spectrophotometric determinations. *Talanta*, 70(5), 1129-1135.
- Srikandi. (1992). *Mikrobiologi Pangan*. Jakarata: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Strobel, Gary A. dan Bryn Daisy. (2003). Endophytes as Sources of Bioactive Product. *Microbiol. Infect.* 5.
- Sudarmaji, J. Mukono, dan Corie I.P. (2006). *Toksikologi logam berat B3 dan dampaknya terhadap kesehatan*. FKM. Universitas Airlangga
- Sukma, T.A. (2010). Hidrolisis Pati dari Tepung Jalar Ungu (*Ipomea batatas* Var.Ayamurasaki) Menggunakan Ekstrak Kasar Amilase dari *Aspergillus niger* sebagai Bahan Baku Pembuatan Wine. 67(4).
- Summerbell, R. C., Rosenthal, S. A., & Kane, J. (1988). Rapid method for differentiation of *Trichopyton rubrum*, *Trichopyton mentagrophytes*, and related dermatophyte species. *Journal of clinical microbiology*, 26(11), 2279-2282.
- Tu, C., Liu, Y., Wei, J., Li, L., Scheckel, K. G., & Luo, Y. (2018). Characterization and mechanism of copper biosorption by a highly copper-resistant fungal strain isolated from copper-polluted acidic orchard soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(25), 24965-24974.
- Tunggal, Hadi Setia. (2012). *Himpunan Peraturan Minyak Dan Gas Bumi*. Jakarta: Havarindo.

- Underwood, A. L., & Day, R. A. (2002). Analisis Kimia Kuantitatif. Jakarta: Erlangga.
- Venkateswerlu, G., Yoder M.J. DAN Stotzky, G. (1986). Morphological, Ultrastructure, and Chemical Changes Induced in *Cunninghamella blakesleena* by Copper and Cobalt. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* Vol.31.
- Vogel. (1985). *Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan SemiMikro*. Jakarta: PT Kalman Media Pustaka.
- Waluyo, L., (2007). *Mikrobiologi Umum*. Malang: UMM Press.
- Weyen dalam Aly, A. H., Debbab, A., & Proksch, P. (2011). Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90(6), 1829-1845
- Yalçın, E., Çavuşoğlu, K., & Kınalıoğlu, K. (2010). Biosorption of Cu²⁺ and Zn²⁺ by raw and autoclaved *Rocella phycopsis*. *Journal of Environmental Sciences*, 22(3), 367-373.
- Li, H. Y., Li, D. W., He, C. M., Zhou, Z. P., Mei, T., & Xu, H. M. (2012). Diversity and heavy metal tolerance of endophytic fungi from six dominant plant species in a Pb–Zn mine wasteland in China. *Fungal Ecology*, 5(3), 309-315.
- Yin Yurong, Yongyou Hu dan fen Xiong. (2011). Sorption of Cu and Cd by extraceluller polymeric substance (EPS) from *Aspergillus fumigattus*. *International Journal Biodeterioration and Biodegradation*. 66. 1012-1018.
- Zafar, S., Aqil, F., & Ahmad, I. (2007). Metal tolerance and biosorption potential of filamentous fungi isolated from metal contaminated agricultural soil. *Bioresource technology*, 98(13), 2557-2561.
- Zulfikar, E. (2018). Wawasan Al-quran tentang Ekologi (Kajian Tematik Ayat-ayat Konservasi Lingkungan). *QOF*, 2(2), 113-132.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Peremajaan 2 Isolat

1. Peremajaan



a. Setelah masa inkubasi 7 hari di media PDA



b. Pengaturan peralatan pada biosafety cabinet LAF

Lampiran 2. Persiapan Sediaan Larutan $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

1. Pembuatan Larutan Stok $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1000 ppm

- a. Mencari konsentrasi ppm dari logam berat $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

$$\begin{aligned}\text{MrCuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} &= 1 \times \text{ArCu} + 2 \times \text{ArCl} + 2(2 \times \text{ArH} + \text{ArO}) \\ &= 63,55 + 2 \times 35,45 + 2 \times (2 \times 1,008 + 1,16) \\ &= 63,55 + 70,9 + 36,032 \\ &= 170,482 \text{ sma}\end{aligned}$$

- b. Membuat larutan stok 1000 ppm

$$\begin{aligned}1000 \text{ ppm} &= 1000 \text{ mg/l} \times \frac{1 \text{ gram}}{1000 \text{ mg}} \times \frac{\Sigma \text{ total mol logam}}{\Sigma \text{ berat mol Cu}} \\ &= 1000 \times 0,001 \times \frac{170,482}{63,55} \\ &= 2,6826 \text{ g/l}\end{aligned}$$

Jadi untuk membuat larutan stok 1000 ppm adalah menimbang kristal $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sebesar 2,6826 gram, dan larutkan dalam 1000 ml akuades dan homogenkan.

2. Pembuatan Larutan Standar Kurva Kalibrasi Cu

Rumus yang digunakan untuk mendapatkan konsentrasi Cu yang bermacam-macam, dihitung dengan cara sebagai berikut :

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

Keterangan :

V1 : Volume awal

V2 : Volume akhir

M1 : Massa awal

M2 : Massa akhir

a. Membuat konsentrasi 2,5 ppm dalam 5 ml dari stok

$$\begin{aligned}V_1 \quad M_1 &= V_2 \quad M_2 \\V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} &= 5 \text{ ml} \cdot 2,5 \text{ ppm} \\V_1 &= 0,0125 \text{ ml}\end{aligned}$$

Jadi untuk membuat konsentrasi Cu 2,5 ppm dalam 5 ml adalah, mengambil 0,0125 ml Cu dari larutan stok dan 4,9875 ml aquades.

b. Membuat konsentrasi 5 ppm dalam 5 ml dari stok

$$\begin{aligned}V_1 \quad M_1 &= V_2 \quad M_2 \\V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} &= 5 \text{ ml} \cdot 5 \text{ ppm} \\V_1 &= 0,025 \text{ ml}\end{aligned}$$

Jadi untuk membuat konsentrasi Cu 5 ppm dalam 5 ml adalah, mengambil 0,025 ml Cu dari larutan stok dan 4,975 ml aquades

c. Membuat konsentrasi 10 ppm dalam 5 ml dari stok

$$\begin{aligned}V_1 \quad M_1 &= V_2 \quad M_2 \\V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} &= 5 \text{ ml} \cdot 10 \text{ ppm} \\V_1 &= 0,05 \text{ ml}\end{aligned}$$

Jadi untuk membuat konsentrasi Cu 10 ppm dalam 5 ml adalah, mengambil 0,05 ml Cu dari larutan stok dan 4,95 ml aquades

d. Membuat konsentrasi 20 ppm dalam 5 ml dari stok

$$\begin{aligned}V_1 \quad M_1 &= V_2 \quad M_2 \\V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} &= 5 \text{ ml} \cdot 20 \text{ ppm} \\V_1 &= 0,1 \text{ ml}\end{aligned}$$

Jadi untuk membuat konsentrasi Cu 5 ppm dalam 5 ml adalah, mengambil 0,1 ml Cu dari larutan stok dan 4,9 ml aquades

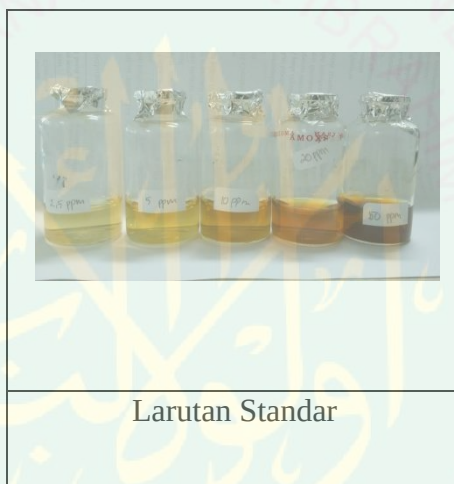
e. Membuat konsentrasi 50 ppm dalam 5 ml dari stok

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \cdot 50 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,25 \text{ ml}$$

Jadi untuk membuat konsentrasi Cu 5 ppm dalam 5 ml adalah, mengambil 0,25 ml Cu dari larutan stok dan 4,75 ml aquades.



3. Pembuatan Larutan Perlakuan Uji Biosorpsi

a. Konsentrasi 200 ppm dalam 10 ml

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \cdot 200 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 2 \text{ ml}$$

b. Konsentrasi 300 ppm dalam 10 ml

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \cdot 300 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 3 \text{ ml}$$

c. Konsentrasi 400 ppm dalam 10 ml

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \cdot 400 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 4 \text{ ml}$$

Perlakuan	Volume Larutan Stok	Volume media PDB
200 ppm	2 ml	8 ml
300 ppm	3 ml	7ml
400 ppm	4 ml	6 ml

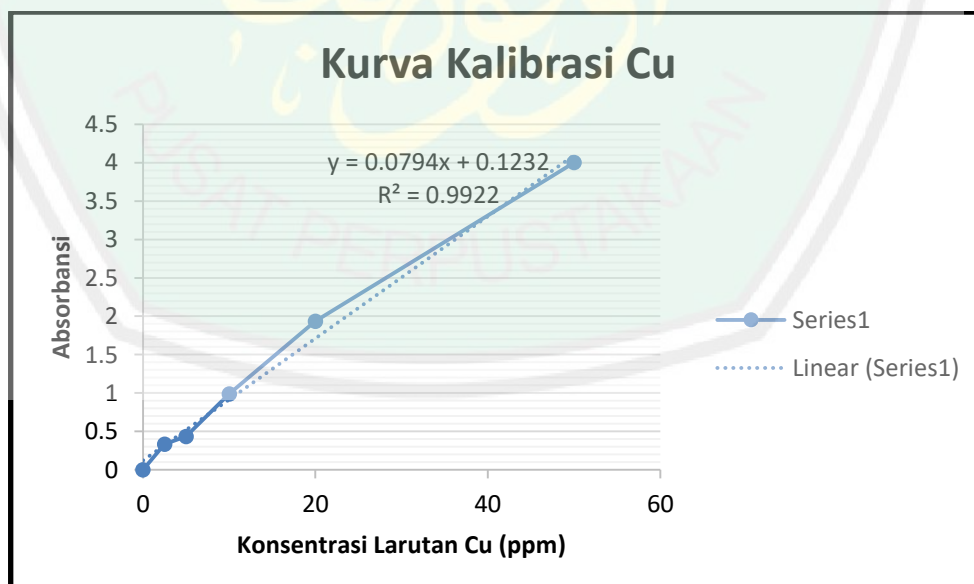
Lampiran 3. Persiapan Pembuatan Kurva Kalibrasi Cu

1. Kurva Kalibrasi Cu

- a. Nilai absorbansi Cu pada Spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 447 nm

Konsentrasi Cu	Nilai absorbansi
2,5 ppm	0,334
5 ppm	0,433
10 ppm	1,002
20 ppm	1,935
50 ppm	4,000

- b. Kurva Kalibrasi Cu



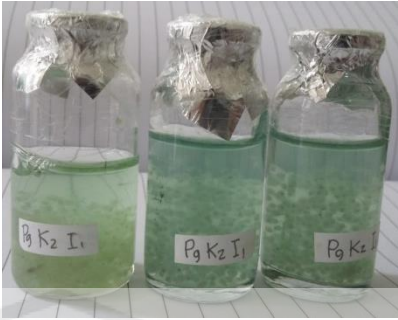
Lampiran 4. Uji Biosorpsi pada logam Cu (200,300,400 ppm)

1. Konsentrasi 300 ppm

KODE	TAMPAK DEPAN
P3K2I1	
P3K2I2	
P7K2I1	
P7K2I2	

--	--

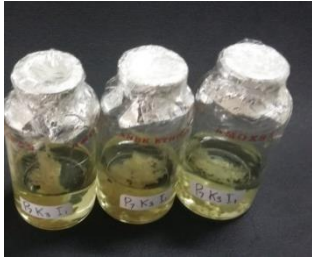


P9K2I1	
P9K2I2	
KONTROL	

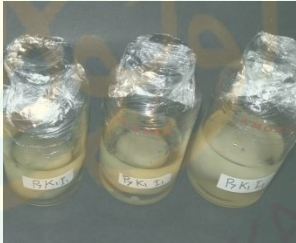
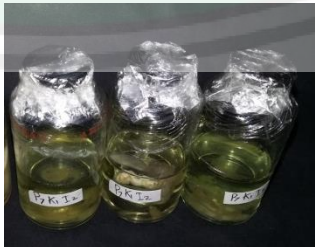
2. Konsentrasi 400 ppm

KODE	TAMPAK ATAS
P3K3I1	



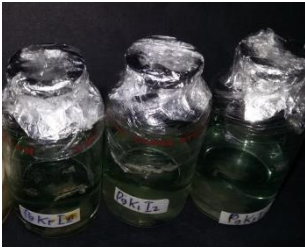
P7K3I1	
P7K3I2	
P9K3I1	
P9K3I2	

3. Konsentrasi 200 ppm

KODE	TAMPAK ATAS
P3K1I1	
P3K1I2	
P7K1I1	
P7K1I2	
P9K1I1	

--	--



P9K1I2	
--------	--



Lampiran 5. Konsentrasi Akhir Cu

a. Konsentrasi 200 ppm

Kode Isolat	Kode	ULG 1 (ppm)	ULG 2 (ppm)	ULG 3 (ppm)	Mean (ppm)	Std
ISOLAT 1	P3K1I1	7.07	7.28	7.78	7.38	0.370
	P7K1I1	8.70	8.74	8.22	8.56	0.290
	P9K1I1	14.60	13.27	13.61	13.83	0.690
ISOLAT 2	P3K1I2	6.56	6.65	6.41	6.54	0.121
	P7K1I2	7.28	8.19	7.88	7.78	0.466
	P9K1I2	7.67	7.69	8.10	7.82	0.243

b. Konsentrasi 300 ppm

Kode Isolat	Kode	ULG 1 (ppm)	ULG 2 (ppm)	ULG 3 (ppm)	Mean (ppm)	Std
ISOLAT 1	P3K1I1	12.40	12.24	11.08	11.91	0.723
	P7K1I1	11.79	12.00	11.31	11.70	0.354
	P9K1I1	13.38	12.00	11.84	12.41	0.851
ISOLAT 2	P3K1I2	11.00	9.56	10.42	10.33	0.724
	P7K1I2	12.01	11.27	11.73	11.67	0.372
	P9K1I2	13.67	13.66	12.77	13.37	0.518

c. Konsentrasi 400 ppm

Kode Isolat	Kode	ULG 1 (ppm)	ULG 2 (ppm)	ULG 3 (ppm)	Mean (ppm)	Std
ISOLAT 1	P3K1I1	12.43	12.55	13.00	12.66	0.305
	P7K1I1	11.99	12.98	12.46	12.48	0.497
	P9K1I1	19.55	19.42	18.03	19.00	0.844
ISOLAT 2	P3K1I2	11.49	10.44	11.13	11.02	0.533
	P7K1I2	12.91	11.78	13.10	12.60	0.711
	P9K1I2	17.96	17.11	17.45	17.51	0.429

Lampiran 6. Prosentase Efesiensi Penghilangan Cu (Q%)

a. Konsentrasi 200 ppm

Kode Isolat	Kode	ULG 1 (%)	ULG 2 (%)	ULG 3 (%)	Mean (Q%)	Std
ISOLAT 1	P3K1I1	96.47	96.36	96.11	96.31	0.185
	P7K1I1	95.65	95.63	95.89	95.72	0.145
	P9K1I1	92.70	93.36	93.20	93.09	0.345
ISOLAT 2	P3K1I2	96.72	96.68	96.80	96.73	0.061
	P7K1I2	93.36	95.90	96.06	96.11	0.233
	P9K1I2	96.16	96.15	95.95	96.09	0.121

b. Konsentrasi 300 ppm

Kode Isolat	Kode	ULG 1 (%)	ULG 2 (%)	ULG 3 (%)	Mean (Q%)	Std
ISOLAT 1	P3K1I1	95.87	95.92	96.31	96.03	0.241
	P7K1I1	96.07	96.00	96.23	96.10	0.118
	P9K1I1	95.54	96.00	96.05	95.86	0.284
ISOLAT 2	P3K1I2	96.33	96.81	96.53	96.56	0.241
	P7K1I2	96.00	96.24	96.09	96.11	0.124
	P9K1I2	95.44	95.45	95.74	95.54	0.173

c. Konsentrasi 400 ppm

Kode Isolat	Kode	ULG 1 (%)	ULG 2 (%)	ULG 3 (%)	Mean (Q%)	Std
ISOLAT 1	P3K1I1	96.89	96.86	96.75	96.84	0.076
	P7K1I1	97.00	96.75	96.88	96.88	0.124
	P9K1I1	95.11	95.15	95.49	95.25	0.211
ISOLAT 2	P3K1I2	97.13	97.39	97.22	97.24	0.133
	P7K1I2	96.77	97.05	96.73	96.85	0.178
	P9K1I2	95.51	95.72	95.64	95.62	0.107

$$Q(\%) = \frac{Co - Ce}{Co} \times 100 \quad Q(\%) = \frac{200 - 7.07}{200} \times 100 = 96.47 \%$$

Lampiran 7. Tabel data Indeks Toleransi Isolat Fungi Endofit

Konsentrasi	Kode	Perlakuan	Kertas Kosong (g)			Kertas Perlakuan (g)			Berat Kering (g)			TI (%)			MEAN
			ULG 1	ULG 2	ULG 3	ULG 1	ULG 2	ULG 3	ULG 1	ULG 2	ULG 3	ULG 1	ULG 2	ULG 3	
200 PPM	I 1	P3K1I1	0.2357	0.251	0.2407	0.301	0.3167	0.3075	0.0653	0.0657	0.0668	67.74	68.15	69.29	68.40
		P7 K1 I1	0.2445	0.243	0.2517	0.3137	0.3107	0.3192	0.0692	0.0677	0.0675	54.23	53.06	52.90	53.40
		P9 K1 I1	0.2595	0.2608	0.2555	0.3097	0.3093	0.3048	0.0502	0.0485	0.0493	52.07	50.31	51.14	51.18
	I 2	P3 K1 I2	0.2597	0.2439	0.2483	0.2944	0.2798	0.2837	0.0347	0.0359	0.0354	27.19	28.13	27.74	27.69
		P7 K1 I2	0.2351	0.2393	0.2434	0.2636	0.2659	0.2703	0.0285	0.0266	0.0269	22.34	20.85	21.08	21.42
		P9 K1 I2	0.2314	0.2317	0.2324	0.2584	0.2602	0.2598	0.027	0.0285	0.0274	21.16	22.34	21.47	21.66
	KONTROL	I1	0.2467			0.3431			0.0964						
		I2	0.2387			0.3663			0.1276						
300 PPM	I 1	P3K2I1	0.2737	0.2771	0.2759	0.3126	0.3155	0.3134	0.0389	0.0384	0.0375	45.98	45.39	44.33	45.23
		P7 K2 I1	0.2851	0.2716	0.2757	0.306	0.2924	0.2965	0.0209	0.0208	0.0208	23.12	23.01	23.01	23.05
		P9 K2 I1	0.2781	0.2795	0.2883	0.302	0.3025	0.3082	0.0239	0.023	0.0199	28.25	27.19	23.52	26.32
	I 2	P3 K2 I2	0.2824	0.2786	0.2812	0.2985	0.2963	0.2976	0.0161	0.0177	0.0164	17.81	19.58	18.14	18.51
		P7 K2 I2	0.2713	0.2766	0.2772	0.289	0.2946	0.2941	0.0177	0.018	0.0169	19.58	19.91	18.69	19.40
		P9 K2 I2	0.2729	0.2801	0.2806	0.2898	0.2986	0.2979	0.0169	0.0185	0.0173	18.69	20.46	19.14	19.43
	KONTROL	I1	0.2883			0.3729			0.0846						
		I2	0.2825			0.3729			0.0904						
400 PPM	I 1	P3K3I1	0.2423	0.2469	0.2451	0.2883	0.2935	0.2923	0.046	0.0466	0.0472	36.36	36.84	37.31	36.84
		P7 K3 I1	0.2493	0.2476	0.2459	0.2779	0.2785	0.2754	0.0286	0.0309	0.0295	20.38	22.02	21.03	21.15
		P9 K3 I1	0.2407	0.2379	0.2402	0.2733	0.2706	0.271	0.0326	0.0327	0.0308	25.77	25.85	24.35	25.32
	I 2	P3 K3 I2	0.2342	0.2384	0.2356	0.2519	0.2579	0.2529	0.0177	0.0195	0.0173	12.62	13.90	12.33	12.95
		P7 K3 I2	0.2393	0.2356	0.2398	0.2693	0.2591	0.2631	0.03	0.0235	0.0233	21.38	16.75	16.61	18.25
		P9 K3 I2	0.2494	0.2457	0.2473	0.2635	0.2617	0.2613	0.0141	0.016	0.014	10.05	11.40	9.98	10.48

	KONTROL	I1	0.2464	0.3729	0.1265			
		I2	0.2326	0.3729	0.1403			

$$Ti = \frac{DWt}{DWc} \times 100\% \quad Ti = \frac{0.0653}{0.0964} \times 100 = 67.74 \%$$

Lampiran 8. Kapasitas Biosorpsi Cu (Qe)

a. Konsentrasi 200 ppm

Kode Isolat	Kode	ULG 1 (mg/g)	ULG 2 (mg/g)	ULG 3 (mg/g)	Mean (Qe)	Std
ISOLAT 1	P3K1I1	29.55	29.33	28.77	29.22	0.398
	P7K1I1	27.64	28.25	28.41	28.10	0.405
	P9K1I1	36.93	38.50	37.81	37.75	0.786
ISOLAT 2	P3K1I2	55.75	53.86	54.69	54.76	0.947
	P7K1I2	67.62	72.11	71.42	70.38	2.416
	P9K1I2	71.23	67.48	70.04	69.58	1.919

b. Konsentrasi 300 ppm

Kode Isolat	Kode	ULG 1 (mg/g)	ULG 2 (mg/g)	ULG 3 (mg/g)	Mean (Qe)	Std
ISOLAT 1	P3K1I1	73.93	74.94	77.05	75.30	1.589
	P7K1I1	137.90	138.46	138.79	138.38	0.452
	P9K1I1	119.92	125.22	144.81	129.98	13.108
ISOLAT 2	P3K1I2	179.50	164.09	176.58	173.39	8.186
	P7K1I2	162.71	160.40	170.58	164.56	5.334
	P9K1I2	169.42	154.78	166.03	163.41	7.666

c. Konsentrasi 400 ppm

Kode Isolat	Kode	ULG 1 (mg/g)	ULG 2 (mg/g)	ULG 3 (mg/g)	Mean (Qe)	Std
ISOLAT 1	P3K1I1	84.26	83.14	81.99	83.13	1.132
	P7K1I1	135.67	135.67	97.47	119.46	19.745
	P9K1I1	116.70	116.70	91.55	108.21	14.432
ISOLAT 2	P3K1I2	219.49	219.49	166.39	195.41	26.528
	P7K1I2	129.03	129.03	123.13	139.12	22.776
	P9K1I2	270.95	239.31	201.82	237.36	34.606

$$q_e = \frac{(C_o - C_e) \times V}{m} \quad q_e = \frac{(200 - 7.07) \times 0.01}{0.0653} = 29.55 \text{ mg/g}$$

Lampiran 9. Analisis Data dengan SPSS

1. Uji Normalitas Anova Two Way

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Predicted Value
N		54
Normal Parameters ^a	Mean	2.0000000
	Std. Deviation	.38274157
Most Extreme Differences	Absolute	.132
	Positive	.132
	Negative	-.096
Kolmogorov-Smirnov Z		.970
Asymp. Sig. (2-tailed)		.303

a. Test distribution is Normal.

Berdasarkan tabel output diatas, diketahui bahwa nilai signifikansi Asymp.Sig (2-tailed) sebesar 0,303 > 0,05. Maka sesuai dengan dasar pengambilan keputusan uji normalitas kolmoorov-smirnov diatas, dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi normal. Oleh karena itu, asumsi normalitas dalam model regresi sudah terpenuhi.

2. Uji Two Way Anova

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Isolat	1	isolat 1	27
	2	isolat 2	27
ph	1	ph 3	18
	2	ph 7	18
	3	ph 9	18
konsentrasi	1	200 ppm	18
	2	300 ppm	18
	3	400 ppm	18

Berdasarkan tabel output diatas, mengenai seubjek-subjek yang diteliti dan yang dimasukkan kedalam analisis data.

Descriptive Statistics

Dependent Variable:hasil

Isolat	ph	konsentra si	Mean	Std. Deviation	N
isolat 1	ph 3	200 ppm	7.3767	.36474	3
		300 ppm	11.9067	.72037	3
		400 ppm	12.6600	.30050	3
		Total	10.6478	2.51213	9
	ph 7	200 ppm	6.5400	.12124	3
		300 ppm	11.7000	.35369	3
		400 ppm	12.4767	.49521	3
		Total	10.2389	2.81165	9
	ph 9	200 ppm	13.8267	.69097	3
		300 ppm	12.4067	.84672	3
		400 ppm	19.0000	.84256	3
		Total	15.0778	3.08343	9
	Total	200 ppm	9.2478	3.47578	9
		300 ppm	12.0044	.66276	9
		400 ppm	14.7122	3.25718	9
		Total	11.9881	3.50500	27
isolat 2	ph 3	200 ppm	8.5533	.28937	3
		300 ppm	10.3267	.72452	3
		400 ppm	11.0200	.53357	3
		Total	9.9667	1.19878	9
	ph 7	200 ppm	7.7833	.46264	3
		300 ppm	11.6700	.37363	3
		400 ppm	12.5967	.71361	3
		Total	10.6833	2.25994	9
	ph 9	200 ppm	7.8200	.24269	3
		300 ppm	13.3667	.51675	3

		400 ppm	17.5067	.42782	3
		Total	12.8978	4.22425	9
	Total	200 ppm	8.0522	.48028	9
		300 ppm	11.7878	1.40481	9
		400 ppm	13.7078	2.97121	9
		Total	11.1826	3.02004	27
Total	ph 3	200 ppm	7.9650	.70857	6
		300 ppm	11.1167	1.08003	6
		400 ppm	11.8400	.97820	6
		Total	10.3072	1.94136	18
	ph 7	200 ppm	7.1617	.74516	6
		300 ppm	11.6850	.32581	6
		400 ppm	12.5367	.55327	6
		Total	10.4611	2.48514	18
	ph 9	200 ppm	10.8233	3.32243	6
		300 ppm	12.8867	.81858	6
		400 ppm	18.2533	1.01301	6
		Total	13.9878	3.75892	18
	Total	200 ppm	8.6500	2.48437	18
		300 ppm	11.8961	1.07137	18
		400 ppm	14.2100	3.06823	18
		Total	11.5854	3.26591	54

Data output diatas mencakup nilai mean, standar deviasi dan N masing-masing data.

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable:hasil

F	df1	df2	Sig.
1.646	17	36	.103

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable:hasil

F	df1	df2	Sig.
1.646	17	36	.103

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Isolat + ph + konsentrasi + Isolat * ph + Isolat * konsentrasi + ph * konsentrasi + Isolat * ph * konsentrasi

Output Levene's ini digunakan untuk mengetahui variable pada data tersebut sama atau homogen. Berdasarkan data diatas nilai Signifikansi (Sig.) $0.103 > 0.05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa varian variabel tersebut bersifat homogen. Oleh karena itu persyaratan dalam uji two way anova sudah terpenuhi

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:hasil

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	554.714 ^a	17	32.630	110.887	.000
Intercept	7247.924	1	7247.924	2.463E4	.000
Isolat	8.760	1	8.760	29.771	.000
ph	156.045	2	78.023	265.144	.000
konsentrasi	280.830	2	140.415	477.171	.000
Isolat * ph	15.602	2	7.801	26.510	.000
Isolat * konsentrasi	2.423	2	1.212	4.117	.025
ph * konsentrasi	46.794	4	11.698	39.755	.000
Isolat * ph * konsentrasi	44.260	4	11.065	37.602	.000
Error	10.594	36	.294		
Total	7813.231	54			
Corrected Total	565.307	53			

a. R Squared = .981 (Adjusted R Squared = .972)

Output Test of Between-Subject Effect adalah output yang menyajikan kolom pertama berupa faktor0faktor yang ada pada penelitian, kolom kedua (JK), kolom ketiga derajat kebebasan (df), kolom empat (KT), kolom kelima F hitung, dan kolom terakhir Signifikansi. Jadi berdasarkan data diatas nilai Signifikansi (Sig.) sebesar $0.000 < 0.05$ maka dapat artikan bahwa terdapat perbedaan dan terdapat interaksi antara Isolat, pH, dan konsentrasi terhadap hasil adsorbansi Cu. Sedangkan nilai R Squared pada semua variabel menunjukan 0.981 dimana angka tersebut mendekati 1, berarti terjadi korelasi yang kuat.

3. Uji Lanjut Tukey Post Hoc

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

hasil
Tukey HSD

(I) ph	(J) ph	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ph 3	ph 7	-.1539	.18082	.674	-.5959	.2881
	ph 9	-3.6806*	.18082	.000	-4.1225	-3.2386
ph 7	ph 3	.1539	.18082	.674	-.2881	.5959
	ph 9	-3.5267*	.18082	.000	-3.9686	-3.0847
ph 9	ph 3	3.6806*	.18082	.000	3.2386	4.1225
	ph 7	3.5267*	.18082	.000	3.0847	3.9686

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .294.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Berdasarkan uji lanjut, data diatas menunjukkan data variabel pH pada analisis data menunjukkan adanya perbedaan nyata pada kolom yang diberi tanda (*). Sedangkan antara pH 3 dan ph 7 menunjukan tidak adanya perbedaan yang nyata.

Homogeneous Subsets

hasil				
		N	Subset	
			1	2
Tukey HSD ^a	ph 3	18	10.3072	
	ph 7	18	10.4611	
	ph 9	18		13.9878
	Sig.		.674	1.000
Duncan ^a	ph 3	18	10.3072	
	ph 7	18	10.4611	
	ph 9	18		13.9878
	Sig.		.400	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .294.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 18.000.

Multiple Comparisons

hasil

Tukey HSD

(I)	(J)	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
konsentra si	300 ppm	-3.2461*	.18082	.000	-3.6881	-2.8041
	400 ppm	-5.5600*	.18082	.000	-6.0020	-5.1180
300 ppm	200 ppm	3.2461*	.18082	.000	2.8041	3.6881
	400 ppm	-2.3139*	.18082	.000	-2.7559	-1.8719
400 ppm	200 ppm	5.5600*	.18082	.000	5.1180	6.0020

300 ppm	2.3139*	.18082	.000	1.8719	2.7559
---------	---------	--------	------	--------	--------

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .294.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Berdasarkan uji lanjut, data diatas menunjukkan data variabel pH pada analisis data menunjukkan adanya perbedaan nyata pada kolom yang diberi tanda (*). Artinya pada variabel antar konsentrasi 200,300, dan 400 terdapat perbedaan yang nyata terhadap penghilangan Cu.

Homogeneous Subsets

Hasil

	konsentra si	N	Subset		
			1	2	3
Tukey HSD ^a	200 ppm	18	8.6500		
	300 ppm	18		11.8961	
	400 ppm	18			14.2100
	Sig.		1.000	1.000	1.000
Duncan ^a	200 ppm	18	8.6500		
	300 ppm	18		11.8961	
	400 ppm	18			14.2100
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .294.

1. Uji Normalitas Data Indeks Toleransi

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		54
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	10.61308000
Most Extreme Differences	Absolute	.104
	Positive	.062
	Negative	-.104
Kolmogorov-Smirnov Z		.763
Asymp. Sig. (2-tailed)		.605

a. Test distribution is Normal.

2. Uji Anova

ANOVA

hasil					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12614.127	17	742.007	593.364	.000
Within Groups	45.018	36	1.251		
Total	12659.145	53			

3. Uji Lanjut Tukey (Notasi) Indeks Toleransi

Hasil														
perlakuan		N	Subset for alpha = 0.05											
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Tukey HSD ^a	P9K3I2	3	10.4767											
	P3K3I2	3	12.9500											
	P7K3I2	3		18.2467										
	P3K2I2	3		18.5100										
	P7K2I2	3		19.3933										
	P9K2I2	3		19.4300										
	P7K3I1	3		21.1433	21.1433									
	P7K1I2	3		21.4233	21.4233									
	P9K1I2	3		21.6567	21.6567									
	P7K2I1	3			23.0467	23.0467								
	P9K3I1	3				25.3233	25.3233							
	P9K2I1	3				26.3200	26.3200							
	P3K1I2	3					27.6867							
	P3K3I1	3						36.8367						
	P3K2I1	3							45.2333					

P9K1I1	3								51.1733			
P7K1I1	3								53.3967			
P3K1I1	3									68.3933		
Sig.		.410	.052	.808	.074	.486	1.000	1.000	.588	1.000		

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

1. Uji Normalitas Efisiensi Biosorpsi (Q%)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		perlakuan	hasil
N		54	54
Normal Parameters ^a	Mean	9.5000	96.0520
	Std. Deviation	5.23684	.90874
Most Extreme Differences	Absolute	.083	.158
	Positive	.083	.086
	Negative	-.083	-.158
Kolmogorov-Smirnov Z		.608	1.159
Asymp. Sig. (2-tailed)		.854	.136

a. Test distribution is Normal.

2. Uji Homogenitas Efisiensi Biosorpsi (Q%)

Test of Homogeneity of Variances

hasil

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.685	17	36	.093

3. Uji Anova

ANOVA

hasil					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	42.524	17	2.501	72.345	.000
Within Groups	1.245	36	.035		
Total	43.768	53			

4. Uji lanjut Tukey (Notasi) Efisiensi Biosorpsi (Q%)

perlakuan	N	hasil								
		Subset for alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Tukey HSD ^a P9K1I1	3	93.0867								
P9K3I1	3		95.2500							
P9K2I2	3		95.5433	95.5433						
P9K3I2	3			95.6233						
P7K1I1	3			95.7233	95.7233					
P9K2I1	3			95.8633	95.8633	95.8633				
P3K2I1	3				96.0333	96.0333	96.0333			
P9K1I2	3					96.0867	96.0867			
P7K2I1	3					96.1000	96.1000			
P7K1I2	3					96.1067	96.1067			
P7K2I2	3					96.1100	96.1100			
P3K1I1	3						96.3133	96.3133		
P3K2I2	3							96.5567	96.5567	
P3K1I2	3								96.7333	
P3K3I1	3								96.8333	

P7K3I2	3								96.8500	
P7K3I1	3								96.8767	
P3K3I2	3									97.2467
Sig.		1.000	.061	.060	.060	.163	.113	.118	.066	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

