

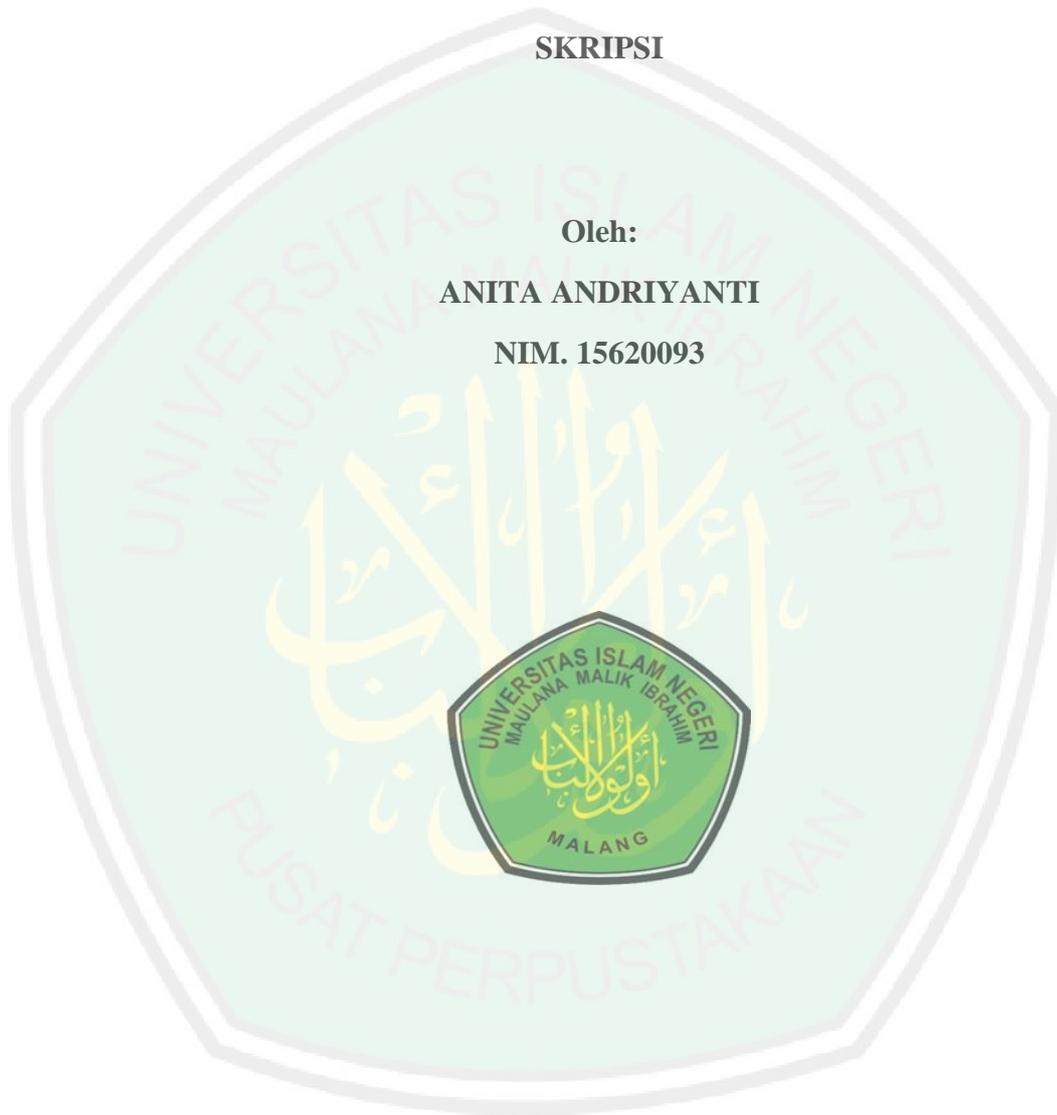
**ISOLASI DAN UJI BIOSORPSI TEMBAGA (Cu) OLEH FUNGI
ENDOFIT DAUN JATI (*Tectona grandis*) DI PERTAMBANGAN MINYAK
WONOCOLO, BOJONEGORO, JAWA TIMUR**

SKRIPSI

Oleh:

ANITA ANDRIYANTI

NIM. 15620093



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2019

**ISOLASI DAN UJI BIOSORPSI TEMBAGA (Cu) OLEH FUNGI
ENDOFIT DAUN JATI (*Tectona grandis*) DI PERTAMBANGAN MINYAK
WONOCOLO, 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:

ANITA ANDRIYANTI

NIM. 15620093

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2019

**ISOLASI DAN UJI BIOSORPSI TEMBAGA (Cu) OLEH FUNGI ENDOFIT
DAUN JATI (*Tectona grandis*) DI PERTAMBANGAN MINYAK
WONOCOLO, BOJONEGORO, JAWA TIMUR**

SKRIPSI

Oleh:

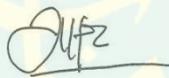
ANITA ANDRIYANTI

NIM. 15620093

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji

Tanggal: 20 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



Romadi, M.Si., D.Sc

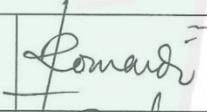
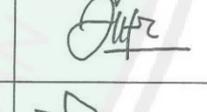
NIP.19810201 200901 1 019

**ISOLASI DAN UJI BIOSORPSI TEMBAGA (Cu) OLEH FUNGI ENDOFIT
DAUN JATI (*Tectona grandis*) DI PERTAMBANGAN MINYAK
WONOCOLO, 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: 4 Desember 2019

Penguji Utama	Romaidi, M.Si., D.Sc NIP. 19810201 200901 1 019	
Ketua Penguji	Bayu Agung Prahardika, M.Si NIP. 19900807 201903 1 011	
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 KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Anita Andriyanti

NIM : 15620093

Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi /Biologi

Judul Penelitian :Isolasi dan Uji Biosorpsi Tembaga (Cu) oleh Fungi Endofit Daun Jati (*Tectona grandis*) di Pertambangan Minyak Wonocolo, 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, 4 Desember 2019

Yang Membuat Pernyataan



Anita Andriyanti

NIM. 15620093

MOTTO

“Life is like riding a bicycle. To keep your balance, you must keep moving.”

(Albert Einstein)

*“Kau tak akan pernah mampu menyebrangi lautan
sampai kau berani berpisah dengan daratan.”*

(Christopher Colombus)

*“Bermimpilah seakan kau akan hidup selamanya.
Hiduplah seakan kau akan mati hari ini.”*

(James Dean)

*“Tugas kita bukanlan untuk berhasil, tugas kita adalah untuk mencoba,
karena di dalam mencoba itulah kita menemukan dan
membangun kesempatan untuk berhasil.”*

(Mario Teguh)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Segala puji syukur kehadiran Allah SWT sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini. Karya ini dipersembahkan kepada orang-orang yang telah berjasa dan meluangkan waktunya untuk membantu dalam menyelesaikan skripsi ini sehingga penulis dapat memperoleh gelar sarjana.

Ayah dan Ibu (Bapak Mochamad Maksum dan Ibu Sujiwati), penulis ucapkan terima kasih atas segala bentuk pengorbanan, doa, dan dukungan baik secara moral maupun material sehingga penulis mampu menyelesaikan pendidikan ini dengan baik. Kedua kakak penulis (Tatik Ratnaningsih dan Nanang Arif Hidayat), penulis ucapkan terima kasih atas segala bentuk doa dan dukungan sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini dan mendapat gelar sarjana.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan taufik serta hidayah-Nya sehingga penulisan skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Shalawat serta salam senantiasa penulis sanjungkan kepada Nabi Muhammad SAW yang merupakan suri tauladan bagi kita semua. Skripsi yang berjudul “*Isolasi dan Uji Biosorpsi Tembaga (Cu) oleh Fungi Endofit Daun Jati (Tectona grandis) di Pertambangan Minyak Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur*” disusun dalam rangka memenuhi persyaratan dalam memperoleh gelar Sarjana Sains.

Penulis menyadari bahwa berkat bantuan dari berbagai pihak, laporan skripsi ini dapat terselesaikan. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul 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, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si dan Dr. H. Ahmad Barizi, M.A. selaku dosen pembimbing skripsi yang memberikan bimbingan selama penyusunan laporan.
5. Seluruh dosen, staf, dan laboran Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
6. Kedua orang tua Bapak Mochamad Maksam dan Ibu Sujiwati yang menjadi motivasi utama dan paling banyak mendukung secara moral dan material.
7. Ahmad Zainuri yang telah meluangkan waktu dan tenaga untuk membantu dan menemani dalam menyelesaikan skripsi ini.
8. Teman-teman kos Al-Hayah (Atik, Ina, Devi, dan Nina), Mikrobiologi Squad, dan Sahabat Biologi angkatan 2015 yang telah membantu skripsi ini.
9. Teman-teman kos Al-Hayah, Mikrobiologi Squad, dan Sahabat Biologi angkatan 2015 yang telah membantu dalam kelancaran skripsi ini.

10. Berbagai pihak yang telah membantu dalam memberikan saran dan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan laporan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun, untuk kesempurnaan laporan di masa yang akan datang. Semoga laporan ini dapat menambah khasanah pengetahuan bagi para pembaca dalam pengembangan ilmu Biologi.

Malang, 7 November 2019



Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT.....	xvi
البحث ملخص	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Hipotesis Penelitian	7
1.5 Manfaat Penelitian	7
1.6 Batasan Masalah	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Konservasi Lingkungan dalam Perspektif Islam	9
2.1.1 Konservasi Lingkungan	9
2.1.2 Kaidah Pelestarian Lingkungan	10
2.2 Deskripsi Jati (<i>Tectona grandis</i>)	11
2.2.1 Klasifikasi Jati	12
2.2.2 Daun Jati	12
2.2.3 Jati sebagai Tumbuhan Hiperakumulator.....	13

2.3 Deskripsi Tembaga	16
2.3.1 Dampak Tembaga	17
2.3.2 Pencemaran Tembaga dalam Lingkungan.....	20
2.4 Pertambangan Minyak Desa Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur ..	21
2.5 Biosorpsi.....	24
2.5.1 Mekanisme Biosorpsi Logam Berat oleh Fungi Endofit	25
2.5.2 Mekanisme Biosorpsi Tembaga oleh Fungi Endofit	26
2.5.3 Faktor-Faktor yang Memengaruhi Biosorpsi	28
2.6 Fungi Endofit	30
2.6.1 Karakteristik Fungi Endofit	30
2.6.2 Toleransi Fungi Endofit terhadap Logam Berat.....	32
2.7 Pengujian Kadar Cu Menggunakan Diethyldithiocarbamate dan Ammonium Hydroxide	33
2.8 Spektrofotometer Uv-Vis	36
BAB III METODE PENELITIAN	39
3.1 Rancangan Penelitian.....	39
3.2 Waktu dan Tempat	39
3.3 Alat dan Bahan.....	39
3.3.1 Alat.....	39
3.3.2 Bahan	40
3.4 Prosedur Penelitian	40
3.4.1 Persiapan	40
3.4.1.1 Pembuatan Media PDA.....	40
3.4.1.2 Pembuatan media PDB	40
3.4.2 Pengambilan Sampel.....	41
3.4.3 Sterilisasi Alat dan Bahan	42
3.4.4 <i>Screening</i> Fungi Endofit	42
3.4.5 Identifikasi Mikroskopik Isolat Terpilih.....	44
3.4.6 Uji Biosorpsi Tembaga (Cu) pada Isolat Terpilih.....	45
3.4.6.1 Kurva Pertumbuhan Fungi	45
3.4.6.2 Kurva Kalibrasi Cu.....	45

3.4.6.3 Uji Biosorpsi Cu	46
3.5 Analisis Data	47
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	48
4.1 Kemampuan Toleransi Fungi Endofit Daun <i>Tectona grandis</i> terhadap Cu	48
4.2 Identifikasi Fungi Endofit secara Makroskopik dan Mikroskopik ..	51
4.3 Uji Kemampuan Biosorpsi Isolat Terpilih terhadap Cu	53
4.3.1 Kurva Pertumbuhan Fungi	53
4.3.2 Uji Biosorpsi Isolat Terpilih	55
BAB V PENUTUP.....	59
5.1 Kesimpulan.....	59
5.2 Saran	59
DAFTAR PUSTAKA.....	61
LAMPIRAN.....	68

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Daun <i>Tectona grandis</i>	13
Gambar 2.2. Lapisan dinding sel fungi	27
Gambar 2.3. Reaksi tembaga (II) dengan diethyldithiocarbamate	34
Gambar 2.4. Diagram skematis spektrofotometer UV-Vis	37
Gambar 3.1. Lokasi pengambilan sampel	41
Gambar 4.1. Isolat fungi pada PDA dengan konsentrasi Cu sebesar 200 mg/L	50
Gambar 4.2. Struktur makroskopik isolat terpilih	51
Gambar 4.3. Struktur mikroskopik isolat terpilih	52
Gambar 4.4. Kurva pertumbuhan fungi	54
Gambar 4.5. Kemampuan biosorpsi isolat terpilih	56
Gambar 4.6. Berat kering isolat terpilih setelah uji biosorpsi	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Pembuatan larutan stok $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	68
Lampiran 2. Pembuatan larutan uji toleransi	69
Lampiran 3. Pembuatan larutan Cu untuk kurva kalibrasi	71
Lampiran 4. Rumus perhitungan indeks toleransi isolat terpilih	73
Lampiran 5. Data berat fungi selama 14 hari	74
Lampiran 6. Standar deviasi data hasil kurva pertumbuhan fungi	75
Lampiran 7. Nilai absorbansi kurva standar Cu dan sampel	76
Lampiran 8. Analisis data menggunakan SPSS	79
Lampiran 9. Standar deviasi kemampuan biosorpsi isolat terpilih	82
Lampiran 10. Berat kering fungi setelah biosorpsi	83
Lampiran 11. Standar deviasi berat kering fungi setelah biosorpsi	84
Lampiran 12. Dokumentasi penelitian	85

Isolasi dan Uji Biosorpsi Tembaga (Cu) oleh Fungi Endofit Daun Jati (*Tectona grandis*) di Pertambangan Minyak Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur

Andriyanti, A., Ulfah Utami, Ahmad Barizi

ABSTRAK

Perkembangan industri meningkatkan pencemaran yang diakibatkan oleh eksplorasi sumber daya alam secara berlebihan. Pertambangan minyak menyebabkan pencemaran logam berat, salah satunya di Desa Wonocolo, Kecamatan Kedewan, Kabupaten Bojonegoro, Jawa Timur. Kandungan tembaga (Cu) dalam tanah di lokasi pertambangan minyak tersebut sebesar 36,51-51,9 mg/kg. Menurut Peraturan Pemerintah Republik Indonesia No. 82 Tahun 2001, nilai maksimal tembaga dalam tanah sebesar 0,02 mg/L. *Tectona grandis* merupakan salah satu tumbuhan hiperakumulator Cu yang dapat membentuk asosiasi dengan fungi endofit. Penelitian ini bertujuan untuk menguji biosorpsi tembaga oleh fungi endofit terpilih dari daun *Tectona grandis* pada pertambangan minyak Desa Wonocolo, Kecamatan Kedewan, Kabupaten Bojonegoro, Jawa Timur. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang bersifat deskriptif kualitatif dan kuantitatif. Sampel daun diambil dari tiga lokasi yang berbeda dengan tiga kali ulangan pada setiap lokasi, kemudian dilakukan isolasi fungi endofit, uji toleransi, dan uji biosorpsi terhadap Cu. Parameter yang diamati berupa kemampuan toleransi dan biosorpsi serta identifikasi secara makroskopis dan mikroskopis. Uji kemampuan toleransi menggunakan $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dengan variasi konsentrasi sebesar 25, 50, 75, 100, dan 200 mg/L, sedangkan uji biosorpsi dengan variasi konsentrasi sebesar 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L. Analisis kandungan Cu dilakukan dengan Spektrofotometer Uv-Vis. Analisis data hasil uji kemampuan biosorpsi Cu menggunakan *One Way Anova* dengan selang kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Hasil isolasi didapatkan 1 isolat fungi endofit yang toleran terhadap konsentrasi Cu 200 mg/L yang memiliki indeks toleransi sebesar 0,5625 dan termasuk dalam genus *Aspergillus*. Kemampuan biosorpsi isolat tersebut pada konsentrasi Cu 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L secara berturut-turut sebesar 99.95%, 99.36%, 99.11%, 98.52%, dan 97.29%.

Kata Kunci: *biosorpsi, fungi endofit, Tectona grandis, tembaga*

Isolation and Copper Biosorption Test of by *Tectona grandis* Leaves Endophytic Fungi in the Oil Mining, Wonocolo, Bojonegoro, East Java

Andriyanti, A., Ulfah Utami, Ahmad Barizi

ABSTRACT

Industrial development increases pollution caused by exploration of natural resources excessively. Oil mining has caused heavy metal pollution, one of which is in Wonocolo Village, Kedewan District, Bojonegoro Regency, East Java. The copper content in the soil at the oil mining is 36.51-51.9 mg/kg. According to Republic of Indonesian Government Regulation No. 82 of 2001, the maximum value of copper in the soil is 0,02 mg/L. *Tectona grandis* is one of the copper hyperaccumulator plants that can form associations with endophytic fungi. This study aims to test the biosorption of copper by selected endophytic fungi from *Tectona grandis* leaves in the oil mining of Wonocolo Village, Kedewan District, Bojonegoro Regency, East Java. This research is an experimental research using descriptive qualitative and quantitative. Leaf samples were taken from three different locations with three replications at each location, then isolation of endophytic fungi, tolerance tests, and biosorption tests o copper. The parameters observed were tolerance and biosorption ability as well as macroscopic and microscopic identification. Tolerance ability test use $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ with concentration 25, 50, 75, 100, and 200 mg/L and biosorption tests with concentration 20, 40, 60, 80, and 100 mg/L. Analysis of copper content was performed with a Uv-Vis Spectrophotometer. Data analysis of copper biosorption test results using One Way Anova with a confidence interval of 95% ($\alpha = 0.05$). Isolation results obtained 1 endophytic fungi isolate which is tolerant to the concentration of copper 200 mg/L which has a tolerance index of 0.5625 and belongs to the genus *Aspergillus*. The biosorption ability of these isolate at concentrations of copper 20, 40, 60, 80, and 100 mg/L were 99.95%, 99.36%, 99.11%, 98.52%, and 97.29% respectively.

Keywords: biosorption, endophytic fungi, Tectona grandis, copper

العزلة واختبار امتصاص الحيوي للنحاس بالفطريات الداخلية لاوراق الساج (*Tectona grandis*) في تعدين النفط وونوجولو بوجونينغورو جاوة الشرقية

أندريانتي أنيتا ، أولفة أوتامي ، أحمد باريزي

ملخص البحث

يزيد تطوير الصناعية التلوث الذي ينتج الاستكشاف الموارد الطبيعية مفرطة. تسبب تعدين النفط التلوث المعادن الثقيلة، واحدة منها هي في قرية وونوجولو بوجونينغورو جاوة الشرقية. محتوى النحاس (Cu) في التربة في موقع تعدين النفط هو 51.9-36.51 ملغم/كغم. وفقا للائحة الحكومة لجمهورية اندونيسيا رقم 82 لعام 2001، أقصى القيمة النحاس في التربة هو 0.02 ملغم/كغم. الاوراق الساج (*Tectona grandis*) هي واحدة من نباتات فرط التراكم في النحاس التي تمكن أن تشكل روابط مع الفطريات الداخلية. يهدف هذا البحث لان يحدد واختبار امتصاص الحيوي للنحاس بالفطريات الداخلية لاوراق الساج (*Tectona grandis*) في تعدين النفط وونوجولو كاداوين بوجونينغورو جاوة الشرقية. هذا البحث بحث تجريبي نوعي وكمي وصفي. أخذت العينات من ثلاثة أوراق من مواقع مختلفة بثلاثة مكررات في كل موقع، قد قام عزل الفطريات الداخلية، واختبارات التحمل، واختبارات الامتصاص الحيوي على النحاس. والمعلومات اللوحظ القدرة التسامح على امتصاص الحيوي وكذلك تحديدها مجهرية. استخدم اختبار التحمل $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ مع اختلافات تركيز 25 و 50 و 75 و 100 و 200 ملغم/لتر واختبارات امتصاص الحيوي مع اختلافات تركيز 20 و 40 و 60 و 80 و 100 ملغم/لتر. قد قام تحليل لمحتوى النحاس باستخدام مطياف الأشعة فوق البنفسجية المرئية. تحليل بيانات نتائج اختبار امتصاص الحيوي Cu هو باستخدام *One Way Anova* مع فاصل ثقة 95% ($\alpha=0,05$). حصلت نتائج العزلة واحدة من الفطريات الداخلية التي تحمل لتركيز النحاس بمقدار 200 ملغم/لتر الذي يحتوي على مؤشر تسامح بقدر 0.5625 ينتمي إلى جنس اسفرغيلوس. قدرة الامتصاص الحيوي لهذه العزلات في تركيزات النحاس يعنى 20 و 40 و 60 و 80 و 100 ملغم/لتر على التوالي 99.95% و 99.36% و 99.11% و 98.52% و 97.29%

الكلمات الرئيسية: امتصاص الحيوي ، الفطريات الداخلية ، *Tectona grandis* ، النحاس

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia termasuk negara yang mempunyai sumber daya alam melimpah, meliputi sumber daya alam dapat diperbaharui dan sumber daya alam yang tidak dapat diperbaharui. Sumber daya alam tersebut dimanfaatkan oleh manusia untuk mengembangkan berbagai industri. Perkembangan industri selain memberikan dampak positif, juga memiliki dampak negatif, diantaranya yaitu pencemaran. Pencemaran disebabkan karena adanya limbah yang mencemari lingkungan sebagai akibat dari adanya kegiatan industri (Ihsan *et al.*, 2015).

Pencemaran lingkungan menjadi salah satu permasalahan yang cukup besar di beberapa negara, salah satunya Indonesia. Penurunan kualitas lingkungan ditandai dengan adanya cemaran logam berat. Kontaminasi logam berat menyebabkan pengendapan logam berat dalam tanah. Tembaga (Cu) merupakan salah satu golongan logam berat yang terkandung dalam limbah industri dan menjadi pencemar lingkungan, salah satunya berasal dari pertambangan minyak yang berada di Desa Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur (Parmar and Lokendra, 2013).

Kontaminasi logam berat yang mencemari tanah di wilayah pertambangan minyak di Desa Wonocolo merupakan salah satu kerusakan yang diakibatkan oleh adanya aktivitas manusia berupa pengeboran minyak secara berlebihan. Tumpahan minyak mentah dari kegiatan eksploitasi seperti pengeboran, transportasi, dan pemurnian menyebabkan pencemaran tanah. Hal ini telah

dijelaskan oleh Allah SWT dalam Al-Qur'an surah Ar-Rum ayat 41 sebagai berikut:

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

Artinya: “Telah nampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebahagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar)”

Arti kata **الْفُسَادُ** dalam ayat tersebut yaitu kerusakan. Menurut *Tafsir Jalalain* (2010), kerusakan tersebut disebabkan karena berhentinya hujan dan menipisnya tumbuhan-tumbuhan yang berada di darat, sedangkan kerusakan di laut yaitu banyak sungai menjadi kering. Perbuatan tangan manusia menyebabkan kerusakan yang berada di darat dan di laut, yaitu berupa perbuatan-perbuatan maksiat. Salah satu kerusakan yang disebabkan oleh manusia yaitu melakukan perusakan terhadap lingkungan dan mengeksploitasi alam secara berlebihan.

Sayyid Quthb (2004) dalam *Tafsir Fi Zhilalil-Qur'an* menjelaskan bahwa kerusakan yang dijelaskan pada ayat tersebut tidak terjadi tanpa sebab dan secara tiba-tiba, namun kerusakan tersebut terjadi dengan ketentuan Allah SWT. Kerusakan yang berada di darat dan di laut berkaitan dengan kerusakan hati dan akidah manusia. Keterkaitan kondisi kehidupan dengan perbuatan manusia akan menyebabkan kerusakan di bumi. Sebagian akibat dari kerusakan bumi yang disebabkan oleh perbuatan manusia akan dirasakan oleh manusia itu sendiri.

Tembaga adalah salah satu logam esensial dalam tubuh manusia. Tembaga diperlukan dalam jumlah yang sangat sedikit (per hari sebesar 0,05 mg/kg berat badan) dan umumnya terdapat dalam tubuh dengan konsentrasi sangat kecil (Palar, 2004). Konsentrasi tembaga yang melebihi kebutuhan di dalam tubuh

dapat menyebabkan gangguan kesehatan. Tembaga adalah faktor pemicu tumor yang memiliki efek karsinogenik (Aishwarya *et al.*, 2014). Konsentrasi tembaga yang tinggi dapat menyebabkan gangguan lambung dan usus, kerusakan hati dan ginjal, anemia, dan kanker paru-paru (King *et al.*, 2006). Selain itu, konsentrasi Cu yang terlalu tinggi dalam tanah akan menyebabkan dampak negatif bagi tumbuhan yang tidak toleran terhadap logam berat, yaitu keterlambatan pertumbuhan, klorosis daun, mengganggu jalur metabolisme, dan kerusakan makromolekul (Aishwarya *et al.*, 2014).

Nilai maksimum tembaga dalam lingkungan menurut Peraturan Pemerintah Republik Indonesia No. 82 Tahun 2001 sebesar 0,02 mg/L. Berdasarkan uji pendahuluan yang dilakukan oleh Pratiwi (2019), kandungan tembaga dalam tanah di lokasi pertambangan minyak Desa Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur sebesar 36,51-51,9 mg/kg. Hal ini menunjukkan bahwa tanah di wilayah tersebut mengandung Cu melebihi batas maksimal berdasarkan toksisitasnya terhadap lingkungan.

Penanganan lingkungan yang tercemar bisa dilakukan melalui beberapa metode, diantaranya yaitu metode fisik, kimia, dan biologis. Metode fisik membutuhkan tenaga manusia dalam jumlah yang relatif banyak untuk memindahkan bahan tercemar dari lingkungan karena dilakukan secara manual. Sedangkan, metode kimia menggunakan bahan-bahan kimia untuk proses degradasi polutan yang sering kali lebih beracun dibandingkan polutan itu sendiri, sehingga membahayakan organisme yang hidup di lingkungan tersebut. Metode yang paling efektif untuk menangani lingkungan yang tercemar yaitu metode

biologis dengan cara bioremediasi. Metode ini memanfaatkan agen biologi untuk menangani lingkungan tercemar (Hozumi *et al.*, 2000).

Tumbuhan yang mampu tumbuh di area pertambangan minyak di Desa Wonocolo salah satunya yaitu jati (*Tectona grandis*). Menurut Patel *et al.* (2015), *Tectona grandis* memiliki potensi sebagai agen bioremediasi yang mampu mendegradasi logam berat berupa As, Fe, Cr, Mn, Cu, Zn, Cd, Pb, dan Hg. *Tectona grandis* (khususnya pada bagian daun) merupakan tumbuhan hiperakumulator Cu dan Zn. Nilai rata-rata penyerapan Cu dan Zn pada daun *Tectona grandis* sebesar 98 mg/kg dan 79 mg/kg.

Penelitian yang dilakukan oleh Kumar *et al.* (2006) mengenai biosorpsi Cu menggunakan *Tectona grandis* dengan variasi konsentrasi Cu sebesar 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L, menunjukkan bahwa persentase adsorpsi Cu pada konsentrasi 20 mg/L sebesar 87% dan terus mengalami penurunan dengan meningkatnya konsentrasi logam (pada konsentrasi 100 mg/L sebesar 48%) pada pH 5. King *et al.* (2006) melakukan penelitian mengenai biosorpsi Cu menggunakan *Tectona grandis* dengan variasi konsentrasi Cu sebesar 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L, yang menunjukkan bahwa persentase adsorpsi Cu pada konsentrasi 20 mg/L sebesar 71% dan terus mengalami penurunan dengan meningkatnya konsentrasi logam (pada konsentrasi 100 mg/L sebesar 43%).

Uji toleransi pada penelitian ini menggunakan *Copper(II) Chloride Dihydrate* ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) pada variasi konsentrasi 25, 50, 75, 100, dan 200 mg/L. Fungi yang mampu hidup pada konsentrasi Cu tertinggi (indeks toleransi rendah) dilakukan uji biosorpsi pada variasi konsentrasi Cu sebesar 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L.

Sel-sel biomassa dapat menyerap logam berat pada konsentrasi tinggi meskipun toleransi terhadap logam selama pertumbuhan cukup rendah (Siddiquee *et al.*, 2013).

Tumbuhan dapat membentuk asosiasi dengan fungi endofit. Biomassa fungi efisien untuk menghilangkan logam beracun pada lingkungan tercemar melalui biosorpsi. Biosorpsi merupakan salah satu teknologi untuk menghilangkan logam berat dari suatu lingkungan tercemar menggunakan bahan biologis. Mekanisme biosorpsi melalui pengikatan ion logam dengan komponen penyusun dinding sel mikroorganisme, kapsul, atau polimer ekstraseluler yang disintesis dan diekresikan oleh suatu mikroorganisme (Gavrilescu, 2004).

Bioremediasi yang menggunakan fungi untuk mendegradasi polutan pada lingkungan yang tercemar disebut sebagai mikoremediasi. Mikoremediasi bisa dilakukan melalui beberapa teknik, meliputi biosorpsi, bioakumulasi, bioreduksi, biopresipitasi, dan *biobleaching*. Teknik pada mikoremediasi yang paling banyak digunakan yaitu biosorpsi (Ahmad, 2018). Fungi menguntungkan sebagai biomassa karena memiliki persentase pengikatan logam yang sangat baik melalui dinding sel (Archana dan Jaitly, 2015). Fungi adalah biomassa biosorpsi serbaguna karena dapat tumbuh di bawah kondisi ekstrim dari pH, suhu, ketersediaan nutrisi, dan konsentrasi logam yang tinggi (Iskandar *et al.*, 2011).

Lingkungan tercemar perlu dilakukan penanganan yang efektif melalui bioremediasi. Upaya bioremediasi dilakukan untuk mengembalikan kelestarian ekosistem dalam suatu lingkungan. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi fungi endofit terpilih yang diisolasi dari daun

jati (*Tectona grandis*) sebagai agen bioremediasi terhadap Cu pada pertambangan minyak yang berada di Desa Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Bagaimana kemampuan toleransi fungi endofit daun jati (*Tectona grandis*) terhadap konsentrasi tembaga (Cu) tertinggi yang diisolasi dari pertambangan minyak Desa Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur?
2. Apa jenis fungi endofit daun jati (*Tectona grandis*) yang memiliki toleransi pada konsentrasi tembaga (Cu) tertinggi?
3. Bagaimana kemampuan biosorpsi tembaga (Cu) oleh fungi endofit daun jati (*Tectona grandis*) terpilih dari pertambangan minyak Desa Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui kemampuan toleransi fungi endofit daun jati (*Tectona grandis*) terhadap konsentrasi tembaga (Cu) tertinggi yang diisolasi dari pertambangan minyak Desa Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur.
2. Untuk mengetahui jenis fungi endofit dari daun jati (*Tectona grandis*) yang memiliki toleransi pada konsentrasi tembaga (Cu) tertinggi.
3. Untuk mengetahui kemampuan biosorpsi tembaga (Cu) oleh fungi endofit daun jati (*Tectona grandis*) terpilih dari pertambangan minyak Desa Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur.

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Fungi endofit daun jati (*Tectona grandis*) memiliki kemampuan toleransi terhadap konsentrasi tembaga (Cu) tertinggi yang bervariasi dari pertambangan minyak Desa Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur.
2. Fungi endofit daun jati (*Tectona grandis*) terpilih memiliki kemampuan biosorpsi tembaga (Cu) yang bervariasi dari pertambangan minyak Desa Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Memberikan informasi mengenai kemampuan toleransi fungi endofit daun jati (*Tectona grandis*) terhadap konsentrasi tembaga (Cu) tertinggi yang diisolasi dari pertambangan minyak Desa Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur.
2. Memberikan informasi mengenai kemampuan biosorpsi tembaga (Cu) oleh fungi endofit daun jati (*Tectona grandis*) terpilih dari pertambangan minyak Desa Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur.
3. Memberikan informasi mengenai solusi alternatif untuk penanganan lingkungan yang tercemar tembaga (Cu) secara ramah lingkungan menggunakan fungi endofit daun jati (*Tectona grandis*) dari pertambangan minyak Desa Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Tanah dan sampel tumbuhan diambil dari 3 lokasi yang berbeda, yaitu sumur pengeboran, pengolahan minyak, dan penyimpanan minyak di area pertambangan minyak Desa Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur.
2. Fungi endofit diisolasi dari daun jati (*Tectona grandis*) bagian costa (ibu tulang daun) dengan diameter batang sekitar 25 cm (berusia ≥ 10 tahun) sebanyak 3 ulangan pada masing-masing lokasi pengambilan sampel.
3. Uji toleransi isolat fungi endofit dari daun jati (*Tectona grandis*) dengan pemberian variasi konsentrasi Cu sebesar 25, 50, 75, 100, dan 200 mg/L.
4. Parameter yang diamati yaitu indeks toleransi dan penurunan tembaga (Cu).
5. Isolat yang mampu tumbuh pada konsentrasi tembaga (Cu) tertinggi dilakukan uji biosorpsi pada konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L.
6. Uji biosorpsi dilakukan dengan pengukuran kadar tembaga (Cu) menggunakan *Spectrophotometer Uv-vis* pada panjang gelombang sebesar 447 nm.
7. Identifikasi isolat fungi terpilih dengan pengamatan makroskopik dan mikroskopik.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Konservasi Lingkungan dalam Perspektif Islam

2.1.1 Konservasi Lingkungan

Kata “bumi” (*‘ardh*) dalam Al-Qur’an disebut sebanyak 485 kali dengan arti dan konteks yang beragam. Bumi, manusia, dan makhluk ciptaan lainnya di alam semesta merupakan suatu ekosistem yang kesinambungannya sangat dipengaruhi oleh moralitas manusia yang berperan sebagai *khalifah* di bumi (Abdullah, 2010). Sebagaimana firman Allah SWT dalam Q.S. Al-A’raf ayat 56 sebagai berikut:

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 rahmat Allah amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik.”

Berdasarkan *Tafsir Ibnu Katsier* (1988), Allah SWT telah melarang segala perbuatan yang dapat menyebabkan kerusakan di bumi dan segala sesuatu yang membahayakan kelestariannya sesudah diperbaiki. Apabila segala sesuatu sudah berjalan sesuai dengan kelestariannya kemudian terjadi perusakan padanya, hal tersebut akan membahayakan semua makhluk ciptaan-Nya. Allah SWT memerintahkan kepada manusia untuk menyembah-Nya dan berdoa kepada-Nya serta berendah diri dan memohon belas kasihan-Nya, yaitu dengan perasaan takut terhadap siksaan dan penuh harap terhadap pahala yang berlimpah di sisi-Nya. Sesungguhnya Allah SWT memberikan rahmat kepada orang-orang yang

melakukan sebuah kebaikan, yaitu mereka yang menjalankan perintah-perintah-Nya dan menjauhi larangan-larangan-Nya.

Konservasi adalah amanah bagi semua makhluk hidup untuk memelihara kehidupan dengan segala sesuatu yang berada di dalamnya. Konservasi lingkungan dilakukan melalui perlindungan, pelestarian, pemulihan, pemanfaatan secara lestari, dan peningkatan mutu lingkungan. Hal tersebut pada dasarnya bertujuan untuk menjamin kemaslahatan manusia beserta makhluk hidup lainnya secara berkesinambungan. Konservasi lingkungan berbasis Syari'ah merupakan konsep Islam yang mampu menyumbangkan konsep-konsep utama tentang konservasi lingkungan secara strategis (Abdullah, 2010).

Tauhid di dalam agama Islam merupakan penopang dari tindakan manusia. Tauhid mendasari segala pandangan tentang kebaikan, keteraturan, keterbukaan, dan kepasrahan (dalam arti mematuhi sunnatullah). Konsep tauhid yang pada awalnya mengesakan Allah, dalam perkembangannya berkaitan dengan konsep-konsep sosial, budaya, dan lingkungan hidup. Tauhid sebagai sebuah konsep inti dalam Islam memandang alam semesta berasal dari Allah, kembali kepada-Nya, dan berpusat di sekitar-Nya (Abdullah, 2010).

2.1.2 Kaidah Pelestarian Lingkungan

Hamparan tanah yang berada di bumi merupakan sebuah penopang dari kehidupan seluruh makhluk hidup. Bumi adalah satu-satunya planet di tata surya yang digunakan sebagai tempat kehidupan makhluk hidup dengan seluruh sifat penunjangnya. Allah SWT memberi petunjuk kepada manusia agar menjadi khalifah di bumi dalam memanfaatkan dan mengelolanya dengan penuh tanggung

jawab. Islam telah memberikan sejumlah aturan untuk melindungi dan melestarikan lingkungan dari kerusakan (Abdullah, 2010).

Proteksi terhadap tanah dilakukan melalui pemanfaatan lahan kosong atau lahan mati yang di dalam fikih disebut sebagai *ihya' al-mawat*. Pemanfaatan lahan kosong merupakan upaya pemanfaatan tanah dari ketidakterawatan dan ketidakbergunaan tanah. Arti memanfaatkan bukan dalam arti menguasai, tetapi memakmurkan (*i'mar*), bukan pula dalam arti eksploitasi, tetapi tanggung jawab. Selain itu, *ihya' al-mawat* dilakukan dengan mempertimbangkan kemaslahatan yang lebih luas, misalnya memberikan nilai tambah bagi kesejahteraan manusia melalui kegiatan pertanian, peternakan, dan produktivitas lain yang tidak bersifat monopoli. *Ihya' al-mawat* juga menghindari hal-hal yang merusak lingkungan seperti mencemari air, tanah, dan mempersulit akses manusia pada pemanfaatannya (Abdullah, 2010).

2.2 Deskripsi Jati (*Tectona grandis*)

Jati (*Tectona grandis*) adalah tumbuhan yang termasuk dalam famili Verbenaceae. Istilah 'tectona' berasal dari bahasa Portugis yaitu *teca*, yang merupakan turunan dari bahasa Yunani 'tekton' yang artinya tukang kayu. Sedangkan, kata 'grandis' berasal dari bahasa Latin yang artinya besar. Jati termasuk tumbuhan penghasil kayu yang bernilai ekonomis tinggi di dunia (Palanisamy *et al.*, 2009). Jati tersebar secara alami mulai dari India, Kamboja, Laos, Myanmar, Thailand, dan Indonesia. Penyebaran kayu jati di beberapa daerah di Indonesia, yaitu pulau Jawa, Sulawesi Tenggara, Sulawesi Selatan, Maluku, Sumbawa, dan Lampung (Mansur, 2015).

2.2.1 Klasifikasi Jati

Klasifikasi *Tectona grandis* menurut Steenis (2006) sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Verbenales

Famili : Verbenaceae

Genus : *Tectona*

Spesies : *Tectona grandis*

2.2.2 Daun Jati

Jati adalah pohon yang memiliki tinggi sekitar 30-45 meter dan diameter batang mencapai 220 cm (Mansur, 2015). Daun jati berseling dan bentuknya seperti jantung membulat dengan ujung yang meruncing, yang panjangnya sekitar 20-50 cm dan lebarnya sekitar 15-40 cm. Petiola (daun muda) berwarna hijau kecoklatan dan daun tua memiliki warna hijau tua keabu-abuan. Permukaan daunnya memiliki modifikasi jaringan epidermis berupa trikoma (Sumarna, 2011).

Permukaan atas daun jati berwarna hijau dan bertekstur kasar, sedangkan permukaan bawah berwarna hijau kekuning-kuningan dan terdapat bulu halus. Kelenjar merah berada diantara bulu di permukaan daun. Kelenjar tersebut akan menghasilkan warna merah apabila diremas (Sumarna, 2011). Daun jati umumnya besar dengan tangkai daun yang pendek. Daun pada pohon muda berukuran besar, yaitu mencapai 60-70 cm × 80-100 cm, sedangkan pada pohon tua berukuran 15 × 20 cm (Kosasih, 2013).



Gambar 2.1 Daun *Tectona grandis* (Sumarna, 2011)

Pertumbuhan daun jati berkaitan dengan kondisi musim. Daun jati akan gugur pada musim kemarau dan bersemi kembali pada awal musim hujan (Mansur, 2015). Jati termasuk tumbuhan yang menggugurkan daunnya (*deciduous*) ketika musim kemarau, yaitu antara bulan November hingga Januari. Daun jati setelah gugur akan bersemi kembali pada bulan Januari atau Maret (Sumarna, 2011).

2.2.3 Jati sebagai Tumbuhan Hiperakumulator

Tumbuhan hiperakumulator adalah tumbuhan yang memiliki toleransi terhadap logam berat dengan sangat baik. Tumbuhan hiperakumulator dapat mengakumulasi logam berat dengan konsentrasi 100 hingga 1000 kali lebih tinggi daripada yang ditemukan pada spesies non-hiperakumulator, tanpa mengalami efek toksik (Muszynska dan Ewa, 2015). Kemampuan penyerapan logam yang dilakukan oleh tumbuhan hiperakumulator tergantung dari jenis logam. Tumbuhan hiperakumulator mengakumulasi logam > 10 mg/g atau 1% dari total

berat kering tajuk (Mn dan Zn), > 1 mg/g atau 0,1% (As, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Sb, Se, dan Ti), dan > 0,1 mg/g atau 0,01% (Cd) (Rascio dan Flavia, 2011).

Tectona grandis digunakan sebagai tumbuhan yang dapat menyerap logam berat dari lingkungan yang tercemar. Berdasarkan kegunaan tersebut, jati termasuk salah satu tumbuhan yang bermanfaat bagi manusia. Hal tersebut menunjukkan tanda-tanda adanya kekuasaan Allah SWT, sebagaimana firman Allah SWT dalam Q.S. As-Syu'araa ayat 7-8 sebagai berikut:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ (٧) إِنَّ فِي ذَلِكَ لَعَايَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ (٨)

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah dan kebanyakan mereka tidak beriman”

Arti *زَوْجٍ كَرِيمٍ* pada ayat tersebut yaitu tumbuh-tumbuhan yang baik. Menurut Sayyid Quthb (2004) dalam *Tafsir Fi Zhilalil-Qur'an*, kata *كَرِيمٍ* juga bisa diartikan mulia, tumbuhan yang mulia tersebut beserta segala kehidupan yang berada di dalamnya bersumber dari Allah Yang Maha Mulia. Allah SWT memberikan petunjuk kepada manusia untuk menerima dan memanfaatkan ciptaan Allah dengan cara memperhatikan, memuliakan, dan memperhitungkan, bukan melalaikan, menghina, dan meremehkannya. Segala ciptaan Allah SWT merupakan bukti kekuasaan-Nya, namun kebanyakan dari manusia tidak beriman kepada bukti kekuasaan Allah SWT, salah satunya yaitu tidak mempelajari segala manfaat dari ciptann-Nya.

Beberapa tumbuhan hiperakumulator melepaskan proton atau eksudat akar spesifik seperti asam organik (asam mugenat atau aveat) dan fitosiderofor yang mengasamkan rizosfer, yang berfungsi untuk meningkatkan mobilisasi logam dari tanah. Logam yang berada di tanah akan bersentuhan dan menembus ke dalam akar, terutama melalui jaringan pengangkut yang terletak di membran plasma yang terlibat dalam penyerapan unsur makro dan mikro pada tanah. Tumbuhan hiperakumulator mentranslokasi logam berat dengan cepat dan efisien dari akar ke organ tumbuhan lain melalui xilem. Sedangkan, tumbuhan non-hiperakumulator mempertahankan sebagian besar logam berat yang diambil dari tanah dalam sel akar (Muszynska dan Ewa, 2015).

Tumbuhan hiperakumulator memiliki ciri-ciri sebagai berikut (Rascio dan Flavia, 2011):

1. Tahan terhadap logam berat dalam konsentrasi tinggi pada jaringan akar dan tajuknya.
2. Tingkat penyerapan logam dari tanah sangat tinggi.
3. Memiliki kemampuan translokasi dan akumulasi logam berat melalui akar ke tajuk dengan laju yang tinggi.

Jati adalah salah satu tumbuhan yang bisa digunakan sebagai adsorben dalam mekanisme biosorpsi. Dinding sel daun jati sebagian besar terdiri dari selulosa, hemiselulosa, lignin, tannin, dan protein struktural. Jati dapat mengakumulasi sejumlah besar tembaga (Cu) dari lingkungan yang tercemar dan merupakan adsorben yang cocok untuk aplikasi pemulihan logam. Setiap

adsorben memiliki kemampuan yang berbeda dalam mengakumulasi logam (King *et al.*, 2006).

Ajmal *et al.* (2011) melalui penelitiannya membuktikan bahwa jati memiliki potensi sebagai biosorben dalam mekanisme biosorpsi. Daun jati (*Tectona grandis*) merupakan bahan yang dapat digunakan sebagai adsorben untuk menghilangkan beberapa logam dari lingkungan tercemar yang mengandung limbah industri. Pada penelitian tersebut, mekanisme biosorpsi dipengaruhi oleh efek waktu kontak, pH, konsentrasi, suhu, dan dosis adsorben. Urutan persentase adsorpsi logam yang berbeda oleh daun jati pada pH 6 yaitu adsorpsi Zn (96,0 %) > Cd (93,0 %) > Ni (87,6 %) > Cr (44 %).

2.3 Deskripsi Tembaga

Tembaga memiliki nama kimia 'cupprum' dan dilambangkan dengan Cu. Unsur logam ini berbentuk kristal dan berwarna kemerahan. Tembaga dalam tabel periodic unsur kimia termasuk dalam golongan IB periode 4 dengan nomor atom 29 dan mempunyai massa atom sebesar 63,546. Tembaga memiliki titik lebur pada suhu 1983,4°C dan titik didih pada suhu 2567°C. Tembaga tidak larut dalam asam klorida dan asam sulfat encer (Palar, 2004).

Senyawa-senyawa yang dibentuk oleh Cu secara kimia mempunyai bilangan valensi +1 dan +2. Berdasarkan bilangan valensi yang dibawanya, logam Cu dinamakan cuppro untuk valensi +1 dan cuppri untuk valensi +2. Kedua jenis ion Cu tersebut dapat membentuk kompleks ion yang sangat stabil, misalnya $\text{Cu}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_2$. Unsur tembaga di alam dapat ditemukan dalam bentuk logam bebas, tetapi lebih banyak ditemukan dalam bentuk persenyawaan seperti CuO ,

$\text{Cu}(\text{OH})_2$, CuCO_3 , dan $\text{Cu}(\text{CN})_2$ atau sebagai senyawa padat dalam bentuk mineral (Palar, 2004).

Senyawa tembaga terdiri dari dua jenis, yaitu tembaga(I) (Cu^+) dan tembaga(II) (Cu^{2+}). Senyawa-senyawa Cu^+ diturunkan dari senyawa tembaga(I) oksida (Cu_2O) yang berwarna merah. Senyawa ini mudah mengalami oksidasi menjadi senyawa Cu^{2+} dan dapat diturunkan dari tembaga(II) oksida (CuO) yang berwarna hitam. Garam Cu^+ tidak memiliki warna dan mayoritas tidak larut dalam air, sedangkan garam Cu^{2+} umumnya berwarna biru dalam bentuk hidrat, padat, dan larutan air. Garam-garam Cu^{2+} anhidrat berwarna putih atau sedikit kuning (Vogel, 1990).

Tembaga merupakan salah satu ion logam transisi deret pertama pada tabel periodik unsur. Konfigurasi elektron Cu^+ yaitu $[\text{Ar}] 3d^{10} 4s^1$, sedangkan konfigurasi elektron Cu^{2+} yaitu $[\text{Ar}] 3d^9 4s^0$. Cu^{2+} memiliki stabilitas kompleks yang paling tinggi dibandingkan dengan logam transisi deret pertama lain. Selain itu, tembaga(II) paling stabil dibandingkan dengan bilangan oksidasi tembaga lain. Senyawa tembaga(I) cukup mudah teroksidasi menjadi tembaga(II) (Lee, 2004).

2.3.1 Dampak Tembaga

Tembaga adalah salah satu kontaminan lingkungan paling luas, yang dapat menjadi racun bagi organisme hidup. Toksisitasnya dapat menyebabkan kerusakan DNA, gangguan pencernaan lambung, kerusakan ginjal, dan anemia. Logam ini juga telah dikaitkan dengan perubahan neurodegeneratif, seperti pada penyakit Alzheimer. Sedangkan, konsentrasi tembaga yang melebihi 20 mg/L

beracun bagi tanaman (Ghaed *et al.*, 2013). Tembaga pada konsentrasi yang tinggi dalam tubuh tumbuhan menjadi sangat beracun karena menyebabkan gejala seperti klorosis, nekrosis, kerdil, perubahan warna daun, dan penghambatan pertumbuhan akar (Yruela, 2005).

Bentuk-bentuk keracunan Cu terdiri dari dua macam, yaitu keracunan akut dan keracunan kronis. Gejala-gejala keracunan akut yaitu adanya rasa logam pada pernafasan penderita dan rasa terbakar pada epigastrium dan muntah yang terjadi secara berulang-ulang. Sedangkan, keracunan kronis dapat dilihat dengan timbulnya penyakit Wilson dan Kinsky. Gejala dari penyakit Wilson yaitu terjadi hepatic cirrhosis, kerusakan pada otak dan demyelinasi, serta terjadinya penurunan kerja ginjal, dan pengendapan Cu dalam kornean mata. Penyakit Kinsky dapat diketahui dengan terbentuknya rambut yang kaku dan berwarna kemerahan pada penderita (Palar, 2004).

Tembaga merupakan mineral esensial mikro bagi tumbuhan, namun dibutuhkan dalam jumlah sedikit. Tembaga sebagai logam transisi, aktif dalam kegiatan redoks pada berbagai proses fisiologi tumbuhan karena dibutuhkan untuk sistem enzim oksidatif. Tembaga berperan sebagai elemen penting dalam proses pengaturan protein, berpartisipasi dalam transportasi elektron pada proses fotosintesis, membantu proses respirasi pada mitokondria, merespon stress oksidatif, membantu proses metabolisme dinding sel dan kerja hormon. Ion Cu berperan sebagai kofaktor dalam banyak enzim, meliputi Cu/Zn superoksida dismutase (SOD), sitokrom c oksidase, amino oksidase, laccase, plastocianin, dan polifenol oksidase (Yruela, 2005).

Peran tembaga yaitu mencegah anemia dengan cara membantu absorbs besi, merangsang sintesis hemoglobin, dan melepas simpanan besi di dalam hati. Selain itu, tembaga berperan dalam perubahan asam amino tirosin menjadi melanin, yaitu pigmen rambut dan kulit (Almatsier, 2004). Keberadaan tembaga di dalam tubuh manusia maupun tumbuhan berperan dalam proses fisiologis jika kadar tembaga sesuai dengan kebutuhan di dalam tubuh. Allah SWT telah menciptakan segala sesuatu yang berada di bumi dengan tujuan tertentu, sebagaimana firman Allah SWT dalam Q.S. As-Shaad ayat 27 sebagai berikut:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَاطِلًا ۚ ذَلِكَ ظَنَّ الَّذِينَ كَفَرُوا ۖ فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ كَفَرُوا مِنَ النَّارِ

Artinya: “Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada antara keduanya tanpa hikmah. Yang demikian itu adalah anggapan orang-orang kafir, maka celakalah orang-orang kafir itu karena mereka akan masuk neraka.”

Arti kata *بَاطِلًا* pada ayat tersebut yaitu dengan sia-sia. Menurut *Tafsir Al-Maraghi* (1987), Allah SWT tidak menciptakan langit beserta bumi dengan segala isinya secara main-main dan sia-sia. Allah SWT menciptakan segala sesuatu yang ada diantara keduanya, baik yang diketahui maupun yang tidak diketahui oleh manusia sesuai dengan manfaatnya. Semua ciptaan Allah SWT dimaksudkan agar manusia taat kepada-Nya, karena semua ciptaan Allah bermanfaat bagi kehidupan manusia.

Menurut *Tafsir Jalalain* (2010), Allah SWT tidak menciptakan langit beserta bumi dengan segala sesuatu diantara keduanya dengan main-main. Penciptaan yang tanpa tujuan merupakan anggapan dari orang-orang kafir.

Golongan-golongan tersebut akan masuk neraka karena menganggap segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah SWT dilakukan dengan sia-sia.

2.3.2 Pencemaran Tembaga dalam Lingkungan

Tembaga masuk ke dalam lingkungan perairan melalui jalur alamiah dan non alamiah. Pada jalur alamiah, tembaga mengalami siklus perputaran yang stabil, melalui pengikisan batuan, erosi, maupun berasal dari atmosfer yang dibawa oleh air hujan. Namun kandungan alamiah logam akan berubah-ubah akibat jalur non alamiah yang berkaitan dengan kegiatan manusia, seperti kegiatan industri pertambangan. Kegiatan tersebut akan meningkatkan kelarutan Cu dalam perairan (Palar, 2004).

Kegiatan pertambangan banyak menghasilkan limbah dan dibuang di dataran atau badan air. Limbah tersebar di sekitar wilayah tersebut dan dapat menyebabkan pencemaran lingkungan. Bahaya pencemaran lingkungan oleh tembaga (Cu) dapat terjadi jika limbah yang mengandung unsur logam berbahaya tidak ditangani secara tepat. Pencemaran logam berat terutama di wilayah tropis akan menunjang percepatan mobilisasi unsur-unsur yang berpotensi bersifat toksik karena tingginya tingkat pelapukan kimiawi dan aktivitas biokimia (Nuriadi *et al.*, 2013).

Logam berat termasuk tembaga (Cu) dilepaskan ke lingkungan sebagai akibat dari kegiatan industri dan pengembangan teknologi. Limbah industri yang dihasilkan oleh penambangan dan pemrosesan logam umumnya berkontribusi dalam menghasilkan polusi logam berat (Iskandar *et al.*, 2011). Cemar akan terus bertambah dengan meningkatnya usaha eksploitasi berbagai sumber daya

alam yang mengandung logam berat. Proses industri dan urbanisasi berperan penting terhadap peningkatan kontaminasi tersebut (Ahmad, 2018).

Pencemaran tanah yang diakibatkan oleh aktivitas industri sebagian besar terkontaminasi oleh logam berat, salah satunya yaitu Cu. Berdasarkan kandungan dalam tanah yang terkontaminasi, logam berat merupakan polutan utama pada lingkungan. Hal ini dikarenakan logam berat memiliki sifat toksik, mutagenik, dan karsinogenik (Damodaran *et al.*, 2013). Dampak negatif yang diakibatkan oleh akumulasi logam berat pada tanah yaitu menurunkan kualitas dan produktivitas tanah. Hal tersebut dikarenakan mikroorganisme yang ada di dalam tanah mengalami penurunan aktivitas dalam menjaga kesuburan tanah sehingga akan menurunkan kualitas tanah (Ahmad, 2018).

2.4 Pertambangan Minyak Desa Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur

Desa Wonocolo berlokasi di Kecamatan Kadewan Kabupaten Bojonegoro merupakan salah satu lokasi penambangan minyak yang menggunakan sumur tua dan dikelola oleh masyarakat secara tradisional. Sebagian besar wilayah Desa Wonocolo merupakan hutan jati yang di dalamnya terdapat banyak sumur minyak yang merupakan peninggalan Belanda. Penambangan sumur tua di Desa Wonocolo pertama kali dilakukan pada tahun 1894 oleh perusahaan konsesi minyak Hindia Belanda. Kemudian, pengelolaan tambang pada tahun 1945 diambil alih oleh Pemerintah Indonesia dan sebagian lagi dikelola oleh masyarakat secara tradisional (Suprapti, 2011).

Pertambangan minyak secara tradisional yang berlokasi di Desa Wonocolo sudah ada sejak zaman Belanda. Sumur-sumur di pertambangan minyak tersebut

lebih dangkal karena merupakan area pengeboran pertama yang dilakukan oleh Belanda, dengan kedalaman sumur galian mencapai 200-400 meter. Pemerintahan Kolonial Belanda memulai penambangan minyak secara tradisional di Wonocolo dengan memanfaatkan warga sekitar untuk menjadi buruh pada proyek penambangan minyak tersebut (Naumi, 2015).

Luas wilayah Wonocolo yaitu 11,37 km² yang berbatasan dengan Desa Banyu Urip di bagian timur, Desa Kadewan di bagian barat, Desa Ngantru di bagian selatan, dan Desa Kali Gede di bagian utara. Masyarakat sekitar wilayah tersebut yang mengoperasikan kegiatan pertambangan minyak mentah, seperti pengeboran, pengilangan, dan transportasi. Penambangan minyak di Wonocolo sudah dilakukan sejak masa kolonial Belanda pada tahun 1942. Pada saat itu, kegiatan penambangan minyak dilakukan menggunakan peralatan yang sederhana, sehingga resiko tumpahan minyak lebih besar dan dapat menyebabkan kontaminasi di tanah (Sari *et al.*, 2018).

Desa Wonocolo merupakan daerah yang berpotensi untuk dijadikan lokasi penambangan minyak karena memiliki sumber daya alam melimpah berupa minyak. Proses penambangan minyak di Wonocolo dilakukan dengan cara tradisional, yaitu memanfaatkan sumur tua yang sudah ada sejak zaman penjajahan Belanda. Pertambangan minyak tersebut dilakukan dengan memanfaatkan alat-alat sederhana yang dioperasikan oleh para pekerja. Sumur tersebut masih bisa digunakan sampai sekarang oleh masyarakat sekitar untuk melakukan penambangan minyak (Hartati dan Marita, 2017).

Tanah yang berada di wilayah pertambangan minyak Wonocolo berbeda dengan tanah di luar wilayah pertambangan minyak, yang dilihat berdasarkan kandungan tanah. Perbedaan tersebut dikarenakan adanya aktivitas pertambangan yang menyebabkan tanah di wilayah tersebut tercemar logam berat yang berdampak negatif bagi lingkungan dan kesehatan manusia. Sesuatu yang berdampak tersebut telah dijelaskan oleh Allah SWT, sebagaimana firman Allah SWT dalam Q.S. Ar-Ra'd ayat 4 sebagai berikut,

وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُتَجَوِّرَةٌ وَجَنَّتْ مِّنْ أَعْنَابٍ وَزَرْعٌ وَنَخِيلٌ صِنَوَانٌ وَعَيْرٌ صِنَوَانٌ يُسْقَىٰ
بِمَاءٍ وَحِدٍ وَنُفْضَلٌ بَعْضُهَا عَلَىٰ بَعْضٍ فِي الْأَكْلِ ۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ

Artinya: “Dan di bumi ini terdapat bagian-bagian yang berdampingan, dan kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman dan pohon korma yang bercabang dan yang tidak bercabang, disirami dengan air yang sama. Kami melebihkan sebahagian tanam-tanaman itu atas sebahagian yang lain tentang rasanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berfikir.”

Arti kata مُتَجَوِّرَةٌ pada ayat tersebut yaitu berdampingan. Menurut *Tafsir Jalalain* (2010), terdapat berbagai macam daerah yang saling berdekatan di bumi, diantaranya ada yang subur dan ada yang tandus, dan diantaranya lagi ada yang kekurangan air dan kelebihan air. Hal ini menunjukkan adanya bukti-bukti kekuasaan Allah SWT. Sesungguhnya terdapat tanda-tanda bagi kaum yang berpikir yaitu bagi orang-orang yang mempunyai keinginan untuk merenungkan dan memikirkannya.

Berdasarkan *Tafsir Ibnu Katsier* (1988) mengenai ayat tersebut yaitu Allah SWT menciptakan petak-petak bumi yang berdampingan. Salah satu petak dengan kondisi subur dan baik menghasilkan sesuatu yang bermanfaat bagi kehidupan

manusia. Selain itu, terdapat petak lain yang kering dan gersang sehingga tidak menghasilkan sesuatu. Allah SWT telah menciptakan kebun-kebun kurma, anggur, dan lain-lain di atas petak-petak tersebut yang memiliki macam-macam bentuk dan rasa. Allah melebihkan rasa dan kelezatannya di atas sebagian yang lain. Segala ciptaan Allah baik di langit maupun di bumi menunjukkan adanya tanda-tanda kekuasaan-Nya bagi orang-orang yang berakal.

2.5 Biosorpsi

Biosorpsi merupakan teknologi alternatif dalam pengolahan limbah yang mengandung polutan dengan memanfaatkan kemampuan mikroorganisme sebagai penyerap polutan tersebut, melalui mekanisme pengikatan ion logam dengan penyusun dinding sel mikroorganisme. Permukaan sel mikroorganisme bermuatan negatif karena adanya berbagai struktur anionik, seperti glukon dan kitin. Hal ini yang menyebabkan mikroorganisme memiliki kemampuan untuk mengikat kation logam (Anahid *et al.*, 2011). Mikroorganisme yang berperan sebagai biosorben meliputi fungi, bakteri, yeast, algae, dan biopolimer seperti alginat dan kitosan. Logam berat dengan afinitas yang tinggi dalam suatu limbah akan lebih mudah terikat dengan biosorben. Ion pada logam berat akan berikatan pada dinding sel mikroorganisme (Ratnawati *et al.*, 2010).

Interaksi ionik antara kation logam dengan gugus fungsi makromolekul terjadi di permukaan dinding sel. Kekuatan interaksi tergantung pada jari-jari ion, muatan ion logam, derajat ionisasi anion, pH, dan persaingan dari muatan positif tertentu dengan polimer. Interaksi ini terjadi pada gugus fungsi yang bermuatan parsial negatif seperti gugus karboksil. Interaksi polar terjadi apabila polisakarida

penyusun dinding sel biomassa seperti kitin dan kitosan dapat membentuk kompleks dengan ion logam transisi melalui interaksi dipol-dipol antara kation dengan gugus polar seperti -OH, -NH₂, dan C=O (Zimmermann dan Wolf, 2002).

2.5.1 Mekanisme Biosorpsi Logam Berat oleh Fungi Endofit

Logam dan senyawanya dapat berinteraksi dengan fungi melalui beberapa mekanisme, tergantung pada jenis logam, organisme, dan lingkungan. Mekanisme toleransi fungi terhadap logam berat secara umum dibagi menjadi dua, yaitu mekanisme secara intraseluler dan ekstraseluler. Mekanisme ekstraseluler melalui khelasi dan pengikatan dinding sel. Mekanisme ekstraseluler bertujuan untuk menghindari masuknya logam ke dalam sel. Molekul organik yang tidak termasuk dalam matriks dinding sel diekskresikan oleh sel fungi untuk mengikat ion logam. Sedangkan, mekanisme intraseluler melibatkan protein pengangkut logam melalui penyerapan logam ke kompartemen vakuola (Anahid *et al.*, 2011).

Akumulasi ekstraseluler yaitu penyerapan logam melalui interaksi fisika-kimia antara logam dan gugus fungsi pada permukaan sel mikroba. Mekanisme ini didasarkan pada adsorpsi fisik, pertukaran ion, dan penyerapan kimia, yang tidak tergantung pada metabolisme sel. Akumulasi intraseluler yaitu penyerapan logam melalui membran sel, yang bergantung pada metabolisme sel. Mekanisme ini berkaitan dengan sistem pertahanan aktif dari mikroorganisme yang bereaksi dengan logam beracun (Archana dan Jaitly, 2015).

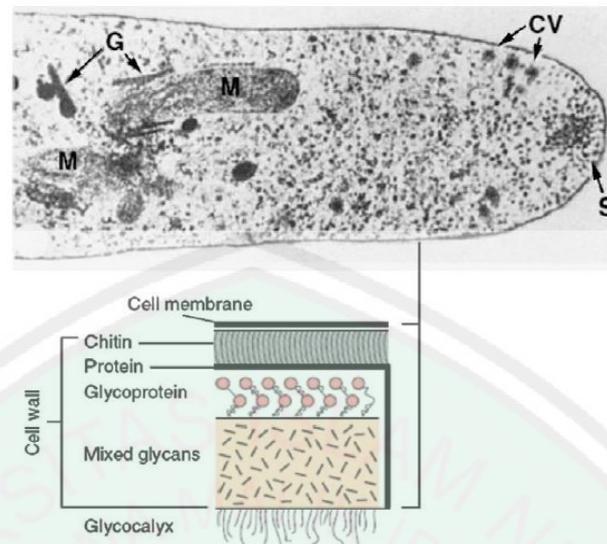
Proses bioremediasi logam berat yang dilakukan oleh mikroorganisme melalui dua tahap, meliputi proses penyerapan pasif (akumulasi ekstraseluler) dan penyerapan aktif (akumulasi intraseluler). Biosorpsi pasif termasuk metabolisme

independen dan berlangsung dengan cepat. Mekanisme pada biosorpsi pasif yaitu pengikatan ion logam ke permukaan sel melalui interaksi antara ion logam dan gugus fungsional pada permukaan sel. Interaksi tersebut bisa melalui salah satu atau kombinasi mekanisme pengikatan logam seperti kompleksasi, koordinasi, adsorpsi fisik, pertukaran ion, atau mikropresipitasi anorganik. Dinding sel mikroorganisme tersusun atas polisakarida dan protein sehingga mampu mengikat ion logam (Das *et al.*, 2008).

Biosorpsi aktif dilakukan dengan cara penembusan ion logam melalui membran sel dan masuk ke dalam sel. Biosorpsi aktif berlangsung lambat dibandingkan biosorpsi pasif. Mekanisme pada biosorpsi aktif yaitu adsorpsi fisik atau pertukaran ion pada permukaan sel, yang mencapai kesetimbangan adsorpsi dalam 30-40 menit. Biosorpsi pasif tidak tergantung pada metabolisme, sedangkan biosorpsi aktif bergantung pada metabolisme yang terkait dengan transportasi dan deposisi logam (Das *et al.*, 2008).

2.5.2 Mekanisme Biosorpsi Tembaga oleh Fungi Endofit

Jenis mekanisme biosorpsi tembaga yang dilakukan oleh fungi termasuk mekanisme secara ekstraseluler. Ion Cu akan berinteraksi dengan gugus fungsi pada dinding sel fungi seperti karboksil dan amina. Interaksi antara ion Cu dengan gugus fungsi tersebut terjadi lebih kuat dibandingkan dengan ion logam lainnya. Hal ini karena ion Cu memiliki afinitas yang tinggi terhadap situs aktif biosorben. Biomassa fungi yang hidup menyerap tembaga lima kali lebih banyak (82% dari total ion Cu) daripada biomassa yang tidak aktif secara metabolik (7%) (Ghaed *et al.*, 2013).



Gambar 2.2 Lapisan dinding sel fungi (S: daerah pertumbuhan, CV: vesikula, G: aparatus golgi, M: mitokondria) (Talaro, 2002)

Fungi memiliki dinding sel yang mengandung 80-90% polisakarida, protein, lipid, polifosfat, dan ion anorganik, yang membentuk matriks pada dinding sel. Kitin adalah unsur utama dari dinding sel fungi dan merupakan polisakarida yang terdiri dari residu N-asetilglukosamin. Lapisan dinding sel terdiri dari lapisan luar yang tipis dan lapisan dalam (lapisan mikrofibrilar) yang tebal (Gambar 2.2). Lapisan luar terdiri dari glikan campuran (glukan, mannan atau galaktan) dan lapisan dalam merupakan serat polisakarida yang terdiri dari kitin atau selulosa dengan rantai kitin yang paralel (Talaro, 2002).

Interaksi matriks dengan ion Cu(II) ditentukan oleh tingkat protonasi gugus fungsional pada dinding sel fungi, yang dipengaruhi oleh pH larutan. Peningkatan pH menyebabkan gugus fungsional mengalami deprotonasi dan membentuk situs bermuatan negatif. Pada nilai pH lebih tinggi dari 6, ion Cu(II) diendapkan karena konsentrasi ion OH⁻ yang tinggi dalam media biosorpsi. Penyerapan ion logam

tergantung pada pH larutan, yang mempengaruhi pengikatan ion ke gugus fungsi yang sesuai. Dinding sel *Aspergillus niger* mengandung unit kitin-kitosan, protein, dan asam amino seperti histidin, yang merupakan matriks -COOH dan -NH₂, yang bertanggung jawab terhadap pengikatan ion Cu (Mukhopadhyay *et al.*, 2007).

Fungi yang berfilamen misalnya *Aspergillus niger* menghasilkan asam fosfatase yang berperan dalam mekanisme resistensi logam berat. Penyerapan ion tembaga oleh miselia memiliki kapasitas tertinggi ketika tingkat aktivitas asam fosfatase maksimal. Tingkat aktivitas asam fosfatase tergantung pada konsentrasi ion tembaga dalam media. Peningkatan konsentrasi ion tembaga akan meningkatkan produksi asam fosfatase yang berperan dalam penyerapan ion tembaga (Tsekova *et al.*, 2002).

2.5.3 Faktor-Faktor yang Memengaruhi Biosorpsi

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi biosorpsi sebagai berikut (Ratnawati *et al.*, 2010):

1. Faktor Fenotip

Faktor fenotip meliputi struktur dan komponen dinding sel. Dinding sel merupakan struktur pertama yang berinteraksi dengan ion logam. Pengikatan ion logam terjadi karena adanya gugus-gugus fungsional bermuatan, sebagai reseptor logam melalui ikatan ionik dan ikatan kovalen.

2. Faktor Biomassa

Biomassa mengandung beberapa macam gugus fungsi yang berinteraksi dengan logam melalui interaksi ionik, interaksi polar, dan gabungan keduanya.

Biomassa yang berbeda memberikan afinitas yang bervariasi dalam menyerap logam. Beberapa biomassa menunjukkan serapan logam berat yang cukup besar, sementara biomassa yang lain tidak dapat menunjukkan ikatan yang spesifik dengan logam.

3. Faktor Media

Faktor lingkungan yang sangat berpengaruh pada kemampuan biosorpsi adalah pH dari media karena sangat mempengaruhi kereaktifan gugus fungsional yang berperan dalam pengikatan ion logam. Sedangkan, media yang mengandung lebih dari satu jenis logam akan mempengaruhi biosorpsi karena sifat fisika-kimia suatu logam akan mempengaruhi ketersediaan logam lain yang terlarut di dalam media.

Beberapa faktor yang perlu diperhatikan dalam aplikasi biosorpsi sebagai berikut (Ratnawati *et al.*, 2010):

1. Seleksi dan pemilihan biomassa yang sesuai, meliputi pemilihan strain, metode penanganan mikroorganisme, dan kondisi fisik biomassa. Faktor yang paling penting dalam pemilihan biomassa ini yaitu toleransi mikroorganisme terhadap ion logam yang bersangkutan.
2. Waktu tinggal dan waktu kontak proses, meliputi immobilisasi sel, pH, dan konsentrasi biomassa. Penggunaan sel hidup mempunyai sejumlah kelebihan, sementara itu biomassa lebih praktis dikemas dalam bentuk bubuk (*powder*).
3. Proses pemisahan dan *recovery* biomassa, yaitu proses pemisahan biomassa setelah proses biosorpsi.

4. Pembuangan biomassa yang telah digunakan, yaitu biomassa yang berikatan dengan logam berat dapat direduksi menggunakan sistem pengeringan.

2.6 Fungi Endofit

2.6.1 Karakteristik Fungi Endofit

Mikroorganisme endofit adalah mikroorganisme yang menghabiskan sebagian siklus hidupnya untuk mengkolonisasi dan hidup di dalam jaringan tanaman. Mikroorganisme endofit meliputi bakteri (termasuk actinomycetes) maupun fungi. Endofit ini biasanya tidak menyebabkan gejala penyakit pada tanaman inangnya. Endofit dapat diisolasi dari jaringan tanaman yang sebelumnya telah dilakukan sterilisasi permukaan kemudian ditumbuhkan pada agar nutrisi (Tan dan Zou, 2001).

Fungi endofit merupakan fungi yang hidup di dalam jaringan tumbuhan sebagai inangnya selama sebagian atau seluruh siklus hidupnya tanpa merugikan inangnya. Tumbuhan akan menyediakan nutrisi bagi fungi endofit, sedangkan fungi endofit akan menyediakan lingkungan efektif yang menunjang pertumbuhan dan perkembangan inangnya. Namun, fungi endofit bisa bertindak sebagai parasit bagi inangnya ketika nutrisi yang diperoleh dari inangnya tidak tersedia. Suatu jenis tumbuhan bisa menjadi inang untuk lebih dari satu mikroorganisme endofit dan satu jenis mikroorganisme endofit dapat berasosiasi dengan lebih dari satu tumbuhan sebagai inang (Selim *et al.*, 2012).

Hubungan antara mikroba endofit dan tanaman inangnya yaitu simbiosis mutualistik dan *latent phytopathogenesis*. Hubungan simbiosis mutualisme tersebut berkaitan dengan mikroba endofit yang mendapatkan nutrisi dari tanaman

inangnya untuk melengkapi siklus hidupnya, sebaliknya tanaman inang mendapatkan perlindungan terhadap patogen dari senyawa yang dihasilkan oleh mikroba endofit. Sedangkan, endofit yang bersifat *latent phytopathogenesis* dapat menjadi berbahaya karena menyebabkan gejala infeksi ketika tanaman inangnya telah tua atau dalam kondisi stres (Tan dan Zou, 2001).

Segala sesuatu yang berada di bumi diciptakan bukan tanpa tujuan melainkan diciptakan dengan tujuan tertentu. Namun, tidak semua tujuan tersebut diketahui oleh manusia sehingga harus dipelajari terlebih dahulu. Sebagaimana firman Allah SWT dalam Q.S. Al-Baqarah ayat 29 sebagai berikut:

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

Artinya: “Dialah Allah, yang menjadikan segala yang ada di bumi untuk kamu dan Dia berkehendak (menciptakan) langit, lalu dijadikan-Nya tujuh langit. Dan Dia Maha Mengetahui segala sesuatu”

Menurut *Tafsir Jalalain* (2010), Allah SWT telah menciptakan bumi dan langit beserta isinya agar manusia mendapatkan manfaat dan mengambil pembelajaran darinya. Hanya Allah SWT yang mampu menciptakan segala sesuatu dari mulai pertama. Sedangkan menurut *Tafsir Ibnu Katsier* (1988), segala sesuatu di bumi dapat dimanfaatkan melalui dua cara, yaitu memanfaatkannya dalam kehidupan jasadi untuk memberikan potensi pada tubuh dan memperhatikan segala sesuatu yang tidak dapat diraih secara langsung untuk digunakan sebagai bukti adanya kekuasaan Allah SWT.

2.6.2 Toleransi Fungi Endofit terhadap Logam Berat

Endofit berperan penting dalam komunitas ekologi, yaitu untuk mengurangi tingkat degradasi pada lingkungan dan pembusukan tanah yang disebabkan oleh insektisida yang beracun, limbah industri, dan gas beracun. Kontrol biologis menggunakan endofit sebagai metode efisien banyak digunakan dalam perbaikan lingkungan dan membunuh serangga atau patogen. Keberhasilan bioremediasi tergantung pada mikroba endofit dan kemampuan tanaman untuk mentoleransi dan mengakumulasi polutan dengan konsentrasi tinggi. Mikroba endofit memiliki potensi untuk mengakumulasi logam berat dan polutan lainnya melalui penyerapan polutan dari tanah oleh tanaman (Selim *et al.*, 2012).

Fungi endofit dapat berperan secara langsung dan tidak langsung dalam bioremediasi dan degradasi racun pada lingkungan tercemar. Peran fungi endofit secara tidak langsung melalui peningkatan pertumbuhan tanaman inangnya yang memiliki kemampuan fitoremediasi sehingga mempercepat proses fitoremediasi. Sedangkan, peran fungi endofit secara langsung melalui degradasi atau mengakumulasi polutan secara langsung oleh fungi endofit itu sendiri. Fungi endofit memiliki kemampuan yang tinggi untuk menghasilkan berbagai enzim yang dapat digunakan dalam berbagai aplikasi bioteknologi seperti aplikasi terhadap lingkungan (Selim *et al.*, 2012).

Fungi dapat membentuk asosiasi dengan tumbuhan sebagai agen bioremediasi secara alami untuk mendegradasi logam berat yang mengontaminasi tanah pada lingkungan yang tercemar. Mikroorganisme yang berperan sebagai agen bioremediasi melalui mekanisme enzimatik dalam mendegradasi polutan dan

merubahnya menjadi bentuk yang tidak berbahaya. Efektivitas bioremediasi tergantung dari kondisi lingkungan tertentu yang mendukung pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme (Archana dan Jaitly, 2015).

Struktur fungi mendukung fungsinya sebagai agen bioremediasi. Dinding sel berperan penting dalam degradasi polutan pada lingkungan tercemar karena mampu mengikat ion logam. Dinding sel fungi banyak mengandung polisakarida dan glikoprotein meliputi glukosa, kitin, mannan, dan fosfomannan. Polimer-polimer tersebut akan mengikat ligan pada logam berat. Interaksi antara logam berat dan fungi melalui beberapa jalur tergantung dari faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal terdiri dari jenis logam berat dan organisme, sedangkan faktor eksternal yaitu faktor lingkungan (Archana dan Jaitly, 2015).

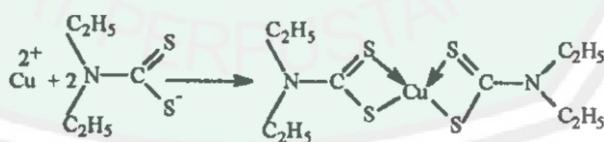
Spesies fungi tertentu memiliki kemampuan untuk berkembang di bawah kondisi pH yang ekstrem, suhu dan keragaman nutrisi, serta toleransi terhadap konsentrasi logam yang tinggi. Hal tersebut mempengaruhi kemampuan fungi dalam melakukan remediasi pada lingkungan yang tercemar. Toleransi/resistensi logam merupakan kemampuan organisme untuk bertahan dari toksisitas logam melalui suatu mekanisme sebagai respon langsung terhadap logam yang terkait. Lingkungan tercemar merupakan sumber utama fungi yang memiliki toleransi terhadap suatu logam (Oladipo *et al.*, 2018).

2.7 Pengujian Kadar Cu Menggunakan Diethyldithiocarbamate dan Ammonium Hydroxide

Sodium diethyldithiocarbamate dapat digunakan untuk mengikat polutan meliputi tembaga, seng, kromium, dan sianida dari air limbah. Reagen tersebut

terdiri dari gugus hidrofobik dan ionik. Gugus hidrofobik diadsorpsi ke permukaan karbon aktif sementara gugus ionik tetap berada di dalam larutan dan bertindak sebagai penukar kationik. Interaksi yang terjadi antara sodium diethyldithiocarbamate dan ion logam yaitu pertukaran antara ion logam dan kelompok fungsi asam (fenolik, karboksilat, laktonik, hidoksil, dan karbonil). Sodium diethyldithiocarbamate meningkatkan jumlah situs aktif dalam pengikatan ion logam (Monser dan Nafaa, 2002).

Diethyldithiocarbamate memiliki kemampuan mengikat dan membentuk kompleks dengan sebagian besar logam transisi, terutama tembaga (Cu). Diethyldithiocarbamate dapat meningkatkan kemampuan adsorpsi logam dengan pembentukan ligan logam. Molekul dithiocarbamate sangat menyerap logam berat ke permukaan dan dapat memodifikasi karakteristik logam untuk kondisi adsorpsi yang lebih menguntungkan (Kim *et al.*, 2018). Sodium diethyldithiocarbamate yang bereaksi dengan larutan Cu^{2+} membentuk kompleks tembaga (II) diethyldithiocarbamate seperti ditunjukkan pada Gambar 2.3 sebagai berikut (El-Saharty *et al.*, 2015):



Gambar 2.3 Reaksi tembaga (II) dengan diethyldithiocarbamate membentuk tembaga (II) diethyldithiocarbamate

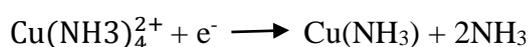
Kapasitas penghapusan ion logam (Cu, Zn, dan Cr) yang menggunakan sodium diethyldithiocarbamate menunjukkan bahwa peran reagen tersebut tertinggi pada pengikatan ion Cu daripada ion-ion logam yang lain. Pada

penelitian yang dilakukan oleh Monser dan Nafaa (2002), kapasitas penghapusan ion Cu sebesar 49,3 mg/g lebih tinggi dibandingkan Zn (9,9 mg/g) dan Cr (6,84 mg/g). Kapasitas penghapusan ion Cu empat kali lebih tinggi daripada Cr dan hampir enam kali lebih tinggi daripada Cr. Hal ini dikarenakan gugus fungsi sodium diethyldithiocarbamate memiliki afinitas yang relati lebih kuat terhadap ion Cu daripada ion Zn dan Cr.

Amonium hidroksida digunakan sebagai pereaksi basa yang mampu membentuk senyawa kompleks dengan banyak ion logam, salah satunya yaitu $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$. Pada keadaan ini, amonia berfungsi sebagai zat untuk membentuk kompleks ion $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$ yang stabil dan larut dalam larutan (Peng *et al.*, 2016). Amonia dapat membentuk kompleks dengan ion Cu yang larut dalam air pada kondisi pH basa. Pembentukan kompleks logam-amonia sebagai berikut (Wang *et al.*, 2006):



$\text{M}(\text{NH}_3)_m^{2+}$ adalah kompleks logam-amonia, sedangkan m adalah jumlah molekul amonia yang terkait dengan masing-masing ion logam (Wang *et al.*, 2006). Kompleks Cu^{2+} dengan NH_3 adalah kompleks ionik yang stabil dalam larutan netral dan basa. Potensi oksidasi-reduksi $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$ lebih positif daripada $\text{Cu}(\text{NH}_3)_2^{2+}$ sehingga $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$ dapat mengoksidasi tembaga dalam larutan alkali amoniak (Radmehr *et al.*, 2014). Reaksi oksidasi-reduksi dari Cu^{2+} dengan NH_3 sebagai berikut (Radmehr *et al.*, 2014):



2.8 Spektrofotometer Uv-Vis

Spektrofotometer sinar tampak (UV-Vis) adalah pengukuran energi cahaya oleh suatu sistem kimia pada panjang gelombang tertentu. Panjang gelombang sinar ultraviolet (UV) sekitar 200-400 nm, sedangkan panjang gelombang sinar tampak (visible) sekitar 400-750 nm. Sinar radiasi monokromatik akan menembus suatu larutan yang mengandung zat yang dapat menyerap sinar tersebut. Senyawa kromofor (mempunyai ikatan rangkap berkonjugasi dienon (C=C-C=O), diena (C=C-C=C), benzene, dan lain-lain) yang terkandung dalam suatu senyawa merupakan gugus fungsional yang mengabsorpsi radiasi ultraviolet dan tampak jika diikat oleh gugus ausokrom (gugus fungsional yang mempunyai elektron bebas seperti N, -OH, dan -X) (Harmita, 2006).

Menurut Khopkar (2003), instrumen spektrofotometer Uv-Vis sebagai berikut:

a. Sumber cahaya

Sumber cahaya yang terdapat pada spektrofotometer Uv-Vis yaitu lampu deuterium dan lampu halogen.

b. Monokromator

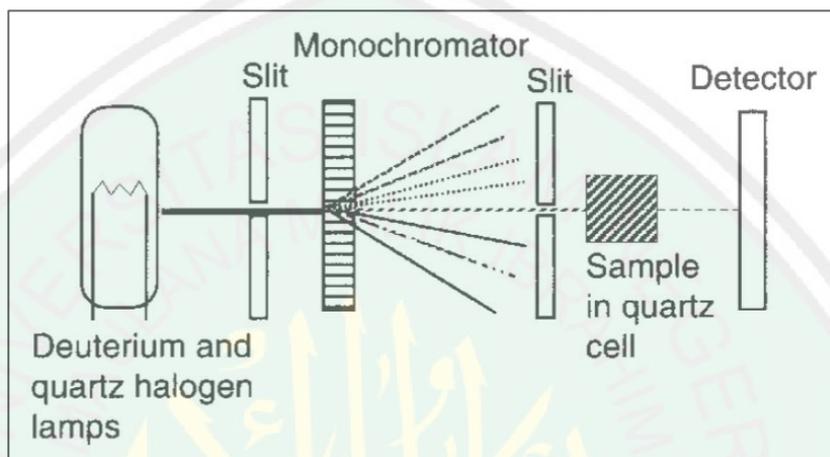
Monokromator berfungsi untuk memecah cahaya polikromatis menjadi cahaya monokromatis pada panjang gelombang tertentu, yang selanjutnya akan dipilih oleh celah/*slit*.

c. Kuvet

Kuvet sebagai wadah sampel yang akan dianalisis. Kuvet pada umumnya terbuat dari kaca (*posable*) maupun plastik (*disposable*).

d. Detektor

Detektor digunakan untuk menangkap sinar yang diteruskan oleh larutan, kemudian diubah menjadi sinyal listrik oleh *amplifier* dan ditampilkan pada *recorder/display* dalam bentuk angka.



Gambar 2.4 Diagram skematis spektrofotometer UV-Vis (Watson, 1999)

Dasar pengukuran spektrofotometer menggunakan Hukum Lambert dan Hukum Beer. Menurut Hukum Lambert, serapan berbanding lurus dengan ketebalan larutan/media pada kuvet, sedangkan Hukum Beer menyatakan bahwa serapan berbanding lurus dengan konsentrasi. Kedua pernyataan tersebut dapat digabung dalam Hukum Lambert-Beer, sehingga diperoleh bahwa serapan berbanding lurus dengan ketebalan larutan/media dan konsentrasi, yang dapat ditulis dalam persamaan sebagai berikut (Gandjar dan Rohman, 2007):

$$A = a \times b \times C$$

Keterangan:

A = Serapan (nilai absorbansi)

C = Konsentrasi zat penyerap

a = Koefisiensi serapan spesifik

b = Tebal larutan/media dalam kuvet

Prinsip kerja spektrofotometer yaitu seberkas sinar dilewatkan dalam suatu larutan pada panjang gelombang tertentu, sehingga sinar tersebut sebagian ada yang diteruskan dan sebagian lainnya diserap oleh larutan. Cahaya yang berasal dari lampu halogen maupun deuterium (cahaya polikromatis) diteruskan menuju monokromator menjadi cahaya monokromatis. Berkas-berkas cahaya dilewatkan melalui sampel yang mengandung suatu zat dalam konsentrasi tertentu, sehingga terdapat cahaya yang diserap (diabsorpsi) dan cahaya yang dilewatkan (diterima oleh detektor). Detektor akan menghitung cahaya yang diterima dan mengetahui cahaya yang diserap oleh sampel. Cahaya yang diserap sebanding dengan konsentrasi zat yang terkandung dalam sampel sehingga akan diketahui konsentrasi zat dalam sampel (Khopkar, 2003).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang bersifat deskriptif kualitatif dan kuantitatif. Penelitian bersifat deskriptif kualitatif karena data hasil isolasi fungi endofit disajikan dalam bentuk deskriptif, yang mampu tumbuh pada konsentrasi tembaga (Cu) paling tinggi, yang meliputi karakteristik makroskopik dan mikroskopik. Sedangkan, penelitian bersifat kuantitatif dilakukan dengan pengujian biosorpsi Cu oleh isolat fungi endofit terpilih yang diperoleh dari daun jati (*Tectona grandis*).

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari sampai Oktober 2019, yang bertempat di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu *ice box*, *Laminar Air Flow* (LAF), Spektrofotometer *Uv-vis*, autoklaf, neraca analitik, *hotplate*, spatula, *rotatory shaker*, oven, lemari pendingin, erlenmeyer, cawan petri, corong segitiga, kertas saring, beaker glass, gelas ukur, jarum ose, pembakar spiritus, bunsen, stirrer, botol flakon, pinset, mikropipet, tip, *cutter*, mikroskop, obyek glass, deck

glass, korek api, plastik, alumunium foil, plastik wrap, tisu, kapas, karet, dan kertas label.

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun jati (*Tectona grandis*), aquades, media PDA, media PDB, kloramfenikol, alkohol 70%, NaOCl, dan *Copper(II) Chloride Dihydrate* ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), diethyldithiocarbamate, dan ammonium hydroxide.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan

3.4.1.1 Pembuatan Media PDA

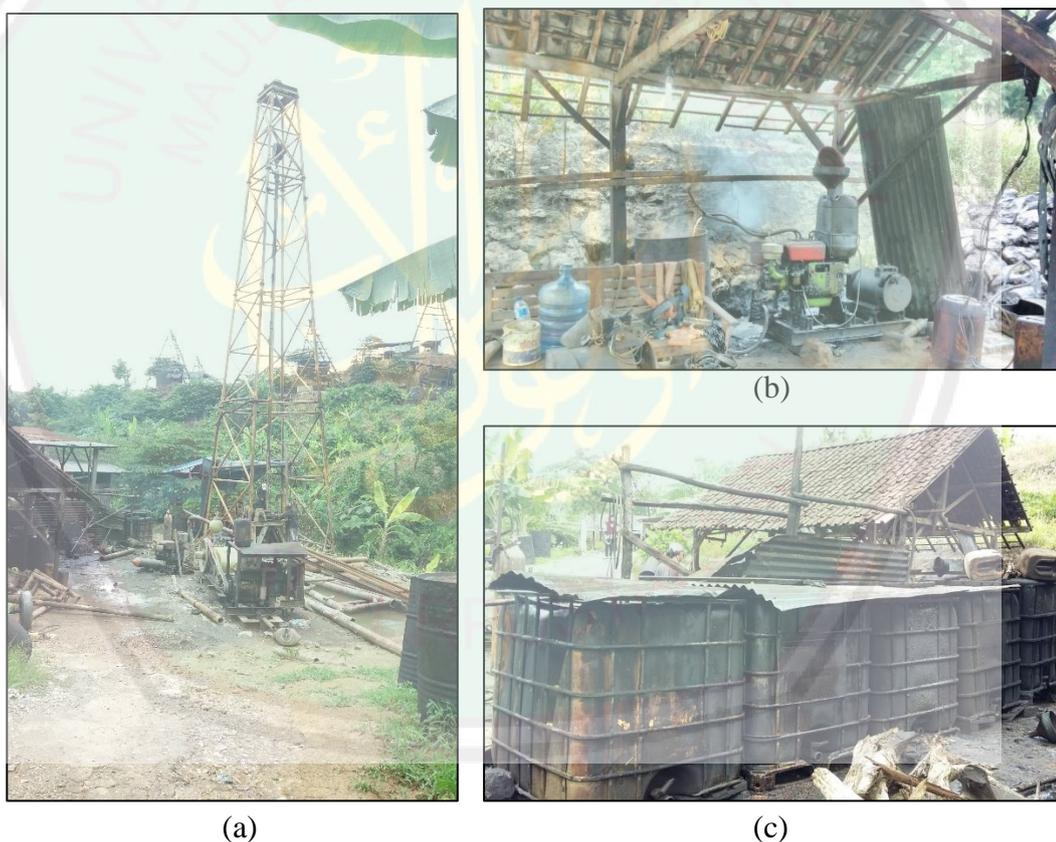
Pembuatan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dilakukan dengan cara dimasukkan 39 gram PDA dan 0,2 gram kloramfenikol ke dalam erlenmeyer. Aquades sebanyak satu liter ditambahkan ke dalam erlenmeyer dan dipanaskan di atas hotplate dengan pengadukan menggunakan *stirrer* hingga homogen dan mendidih. Kloramfenikol berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Ahmad *et al.*, 2006).

3.4.1.2 Pembuatan Media PDB

Pembuatan media *Potato Dextrose Broth* (PDB) dilakukan dengan cara dimasukkan 24 gram PDB dan 0,2 gram kloramfenikol ke dalam erlenmeyer. Aquades sebanyak satu liter ditambahkan ke dalam erlenmeyer dan dipanaskan di atas hotplate dengan pengadukan menggunakan *stirrer* hingga homogen dan mendidih.

3.4.2 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di lokasi pertambangan minyak Desa Wonocolo, Kecamatan Kedewan, Kabupaten Bojonegoro, Jawa Timur. Sampel daun jati (*Tectona grandis*) diambil dari tiga lokasi yang berbeda. Lokasi pengambilan sampel terletak di dekat sumur pengeboran minyak, pengolahan minyak, dan penyimpanan minyak. Sampel tersebut dimasukkan ke dalam plastik, diberi label, dan disimpan di *ice box*, kemudian sampel dibawa ke laboratorium untuk dilakukan analisis lebih lanjut (Tiwari, 2015).



Gambar 3.1 Lokasi pengambilan sampel (a) sumur pengeboran minyak, (b) tempat pengolahan minyak, dan (c) tempat penyimpanan minyak di pertambangan minyak Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur (dokumentasi pribadi)

3.4.3 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini harus dilakukan sterilisasi terlebih dahulu. Alat-alat yang berasal dari kaca dibungkus dengan plastik dan diikat rapat menggunakan karet, kecuali cawan petri. Perlakuan untuk cawan petri yaitu dibungkus dengan kertas dan dimasukkan ke dalam plastik. *Cutter* dan tisu dibungkus dengan aluminium foil dan dimasukkan ke dalam plastik. Sedangkan, media (PDA dan PDB) dalam erlenmeyer ditutup dengan sumbat kapas kemudian dibungkus dengan plastik dan diikat rapat menggunakan karet. Semua alat dan bahan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.4.4 Screening Fungi Endofit

Daun jati (*Tectona grandis*) dari masing-masing lokasi pengambilan sampel dibersihkan menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran. Tulang daun dipotong sebesar 1 cm menggunakan *cutter* steril. Sterilisasi permukaan sampel dilakukan dengan merendam sampel di wadah yang berisi alkohol 70% selama satu menit, dipindahkan dengan pinset steril ke wadah yang berisi natrium hipoklorida (NaOCl) selama 30 detik hingga satu menit, dibilas sebanyak tiga kali menggunakan aquades steril selama 30 detik, kemudian sampel dikeringkan dengan tisu steril. Sterilisasi permukaan dilakukan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan (Sandhu *et al.*, 2014). Sampel diinokulasikan ke dalam cawan petri berisi campuran antara PDA dan larutan Cu sebesar 25, 50, 75, 100, 200 mg/L, kemudian sampel diinkubasi pada suhu ruang selama tujuh hari (Akhtar *et al.*, 2013).

Pembuatan larutan stok $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1000 mg/L (Lampiran 1) dilakukan dengan menghitung massa molekul relatif (Mr) terlebih dahulu, kemudian dihitung menggunakan rumus berikut:

$$1000 \text{ mg/l} = 1000 \text{ mg/L} \times \frac{1 \text{ gram}}{1000 \text{ mg}} \times \frac{\text{Mr CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}}{\text{Ar Cu}}$$

Pembuatan larutan uji toleransi Cu dengan variasi konsentrasi sebesar 25, 50, 75, 100, 200 mg/L (Lampiran 2) diambil dari larutan stok $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1000 mg/L dengan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan:

V_1 = volume larutan stok yang diambil

V_2 = volume larutan total

M_1 = konsentrasi larutan stok

M_2 = konsentrasi yang diinginkan

Masing-masing cawan petri berisi tiga potong sampel daun (tiga ulangan) yang disesuaikan dengan lokasi pengambilan sampel. Setelah inkubasi selama tujuh hari, diamati morfologi isolat secara makroskopik berdasarkan karakteristik morfologi, meliputi warna, bentuk permukaan, tekstur, dan tepi koloni (Tiwari, 2015). Isolat yang memiliki karakteristik yang berbeda secara makroskopik dipindahkan ke media PDA yang baru (Li *et al.*, 2016).

Pengaruh dari masing-masing konsentrasi logam terhadap pertumbuhan isolat dihitung dengan mengukur diameter pertumbuhan fungi dan dibandingkan dengan kontrol (tanpa logam). Indeks toleransi logam berat dihitung dengan rumus sebagai berikut (Akhtar *et al.*, 2013):

$$T_i = \frac{D_t}{D_u}$$

Keterangan:

T_i = indeks toleransi logam berat

D_t = diameter koloni (cm) yang telah diberi perlakuan logam berat

D_u = diameter koloni (cm) yang tidak diberi perlakuan logam berat (kontrol)

3.4.5 Identifikasi Mikroskopik Isolat Terpilih

Pengamatan secara mikroskopik dilakukan melalui metode *slide culture* dengan cara pembuatan preparat terlebih dahulu. Objek glass, deck glass, tisu, dan kertas yang dilipat berbentuk segitiga sebagai penyangga preparat dimasukkan ke dalam cawan petri kemudian dibungkus dengan kertas dan dimasukkan ke dalam plastik sebelum disterilisasi menggunakan autoklaf. Pembuatan preparat dilakukan dengan cara dipotong media (PDA) berbentuk persegi dengan ukuran 1 x 1 cm menggunakan jarum ose lurus. Potongan media diletakkan di atas objek glass dalam cawan petri steril. Biakan fungi dari isolat terpilih diinokulasikan di atas potongan media dan ditutup dengan deck glass. Preparat diletakkan di atas lipatan kertas penyangga dalam cawan petri yang sebelumnya telah diberi alas tisu yang dibasahi dengan aquades steril. Biakan tersebut diinkubasi pada suhu 25°C selama 2-3 hari. Pengamatan preparat menggunakan mikroskop dengan perbesaran yang sesuai. Pengamatan dilakukan pada isolat fungi meliputi deskripsi ciri-ciri mikroskopik yaitu hifa, konidia, dan konidiofor. Hasil pengamatan dikomparasikan dengan buku identifikasi fungi oleh Barnett dan

Barry (1972) yang berjudul *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* (Sundari, 2012).

3.4.6 Uji Biosorpsi Tembaga (Cu) pada Isolat Terpilih

3.4.6.1 Kurva Pertumbuhan Fungi

Kurva pertumbuhan dibuat pada isolat terpilih yang mampu tumbuh pada konsentrasi Cu tertinggi untuk mengetahui fase pertumbuhannya. Isolat berukuran 1 cm x 1 cm diambil dan ditumbuhkan pada media PDB. Isolat diinkubasi selama kurang lebih 14 hari pada suhu ruang menggunakan *rotatory shaker* dengan kecepatan 150 rpm (Dwivedi *et al.*, 2012). Pengukuran biomassa dilakukan setiap hari. Miselia fungi yang tumbuh pada media PDB disaring menggunakan kertas saring dan dioven pada suhu 80°C selama 24 jam. Pembuatan kurva pertumbuhan berdasarkan perbandingan antara waktu dan berat kering fungi. Berat kering fungi dihitung berdasarkan rumus berikut (Subowo, 2010):

$$mf = mkf - mk$$

Keterangan:

mf = berat kering fungi (gram)

mkf = berat kertas saring berisi fungi (gram)

mk = bertas kertas saring kosong (gram)

3.4.6.2 Kurva Kalibrasi Cu

Pembuatan kurva kalibrasi Cu dilakukan menggunakan 2 macam reagen, yaitu diethyldithiocarbamate dan ammonium hydroxide. Larutan diethyl-dithiocarbamate dibuat dengan melarutkan 1 gram sodium diethyldithiocarbamate

ke dalam 100 ml aquades steril. 1 ml ammonium hydroxide dimasukkan ke dalam sampel masing-masing pada konsentrasi Cu yang berbeda yaitu 0; 1; 2,5; 5; 10; 20; dan 50 mg/L (Lampiran 3) kemudian ditambahkan 1 ml diethyl-dithiocarbamate. Reaksi larutan tersebut ditunggu sampai 15 menit dan absorbansi diukur pada panjang gelombang 447 nm menggunakan spektrofotometer. Kemudian dibuat kurva kalibrasi dan dicari nilai R untuk perhitungan rumus konsentrasi Cu akhir (mg/L) (Sirotiak *et al.*, 2014).

3.4.6.3 Uji Biosorpsi Cu

Uji kemampuan biosorpsi dilakukan pada isolat terpilih yang mampu tumbuh pada konsentrasi Cu tertinggi (200 mg/L). Isolat berukuran 1 cm x 1 cm diambil dan ditumbuhkan pada media PDB dengan variasi konsentrasi Cu sebesar 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L. Isolat diinkubasi sesuai dengan hasil dari kurva pertumbuhan fungi saat akhir fase logaritmik pada suhu ruang menggunakan *rotatory shaker* dengan kecepatan 150 rpm (Pratiwi, 2019). Media disaring menggunakan kertas saring dan diambil sebesar 100 µL kemudian dimasukkan ke dalam botol flakon pada masing-masing konsentrasi. 900 µL aquades steril dimasukkan ke dalam botol flakon yang berisi 100 µL sampel. 1 ml ammonium hydroxide dimasukkan ke dalam sampel kemudian ditambahkan 1 ml diethyl-dithiocarbamate. Reaksi larutan tersebut ditunggu sampai 15 menit dan absorbansi diukur pada panjang gelombang 447 nm menggunakan spektrofotometer *uv-vis*. Kemudian, konsentrasi Cu akhir (mg/L) ditentukan berdasarkan nilai R pada kurva kalibrasi standar (Sirotiak *et al.*, 2014) dengan perhitungan sebagai berikut:

$$y = ax + b$$

$$C_e = x \left\{ \frac{V}{V_t} \times V_o \right\}$$

Keterangan:

y = ax + b (nilai R pada kurva kalibrasi standar)

C_e = konsentrasi logam akhir (mg/L)

V = volume sampel yang diambil (mL)

V_o = volume awal (mL)

V_t = volume total (mL)

Kemampuan biosorpsi fungi terhadap logam berat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Jimoh *et al.*, 2018):

$$Q (\%) = \frac{C_o - C_e}{C_o} \times 100 \%$$

Keterangan:

Q = efisiensi biosorpsi (%)

C_o = konsentrasi logam awal (mg/L)

C_e = konsentrasi logam akhir (mg/L)

3.5 Analisis Data

Data karakteristik makroskopik dan mikroskopik isolat fungi endofit yang mampu tumbuh pada konsentrasi Cu tertinggi disajikan secara deskriptif. Analisis data hasil uji kemampuan biosorpsi Cu menggunakan uji *One Way Anova* (ANOVA). Apabila hasil menunjukkan perlakuan berbeda nyata maka dilakukan uji lanjut berupa uji perbandingan berganda Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*). Analisis dilakukan pada selang kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) menggunakan program SPSS.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kemampuan Toleransi Fungi Endofit Daun *Tectona grandis* terhadap Cu

Hasil isolasi (*screening*) fungi endofit daun *Tectona grandis* pada PDA dengan variasi konsentrasi Cu sebesar 25, 50, 75, 100, dan 200 mg/L dengan 3 kali ulangan didapatkan 11 isolat dari ketiga lokasi pengambilan sampel (Tabel 4.1). Jumlah isolat fungi yang diambil di dekat sumur pengeboran minyak sebanyak 3 isolat, di dekat pengolahan minyak sebanyak 4 isolat, dan di dekat penyimpanan minyak sebanyak 4 isolat. Kemampuan toleransi fungi terhadap logam berat dipengaruhi oleh jenis fungi dan situs isolasi (lokasi pengambilan fungi). Pengaruh situs isolasi dengan kemampuan toleransi fungi berkaitan dengan heterogenitas polutan di tempat asal isolat tersebut diambil (Ezzouhri *et al.*, 2009).

Tabel 4.1 Jumlah isolat fungi yang tumbuh pada variasi konsentrasi Cu

Konsentrasi Cu (mg/L)	Jumlah Isolat
25	1 isolat
50	3 isolat
75	4 isolat
100	2 isolat
200	1 isolat
Jumlah	11 isolat

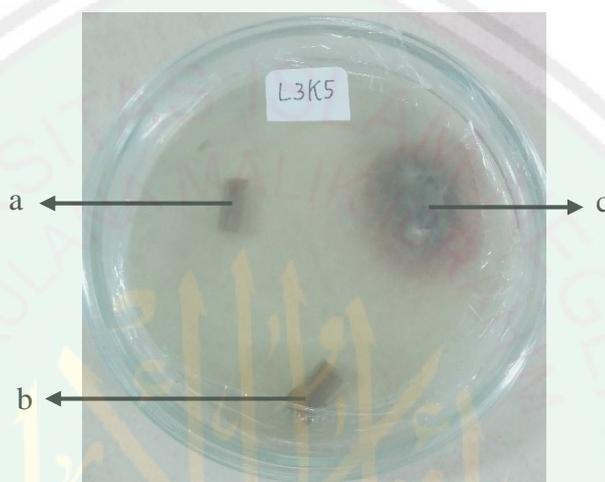
Isolat fungi yang mampu tumbuh pada konsentrasi Cu tertinggi (200 mg/L) diisolasi di dekat pengeboran minyak (Gambar 4.1). Penambangan minyak di Wonocolo dilakukan secara tradisional dengan memanfaatkan alat-alat sederhana,

sehingga banyak tumpahan minyak saat berlangsungnya proses pengeboran. Hal ini dapat mencemari tanah dan air permukaan di area pertambangan. Peralatan utama yang digunakan yaitu pipa baja dengan katup di ujungnya. Katup akan terbuka ketika pipa diangkat ke permukaan dan minyak mentah akan menyembur. Minyak mentah tersebut akan dialirkan menuju kolam dan dipisahkan dengan air menggunakan wadah kecil secara manual. Pemanfaatan peralatan sederhana dengan prosedur yang tidak mencukupi selama kegiatan eksploitasi minyak mentah meningkatkan potensi tumpahan (Sari *et al.*, 2018).

Jumlah isolat fungi yang mampu tumbuh pada konsentrasi Cu sebesar 25 mg/L sebanyak 1 isolat, pada 50 mg/L sebanyak 3 isolat, pada 75 mg/L sebanyak 4 isolat, pada 100 mg/L sebanyak 2 isolat, dan pada 200 mg/L sebanyak 1 isolat (Tabel 4.1). Isolat fungi yang memiliki karakteristik makroskopik yang berbeda berjumlah 7 isolat. Isolat terpilih merupakan isolat fungi yang mampu tumbuh pada konsentrasi tertinggi (200 mg/L) (Gambar 4.1), yang akan dilakukan uji lanjut (uji biosorpsi) karena isolat tersebut mampu tumbuh pada konsentrasi logam (Cu) tertinggi.

Pengaruh pertumbuhan fungi terhadap logam berat dilihat berdasarkan diameter miselia yang ditumbuhkan di PDA. Isolat terpilih memiliki indeks toleransi sebesar 0,5625 (Lampiran 4), yang termasuk dalam kategori toleransi rendah, karena ditumbuhkan pada media yang mengandung Cu tinggi sehingga pertumbuhannya rendah. Hal ini berdasarkan Oladipo *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa indeks toleransi (Ti) menunjukkan kemampuan toleransi fungi terhadap logam berat dalam media uji yang dihitung berdasarkan pertumbuhan

koloni fungi tersebut. Nilai toleransi fungi terhadap logam berat dibedakan menjadi beberapa kategori, yaitu toleransi sangat rendah (0,00-0,39), toleransi rendah (0,40-0,59), toleransi sedang (0,60-0,79), toleransi tinggi (0,80-0,99), dan toleransi sangat tinggi (1,00->1,00).



Gambar 4.1 Isolat fungi yang tumbuh pada PDA dengan konsentrasi Cu sebesar 200 mg/L ([a, b: potongan daun jati yang tidak ditumbuhi fungi dan c: potongan daun jati yang ditumbuhi fungi) (dokumentasi pribadi)

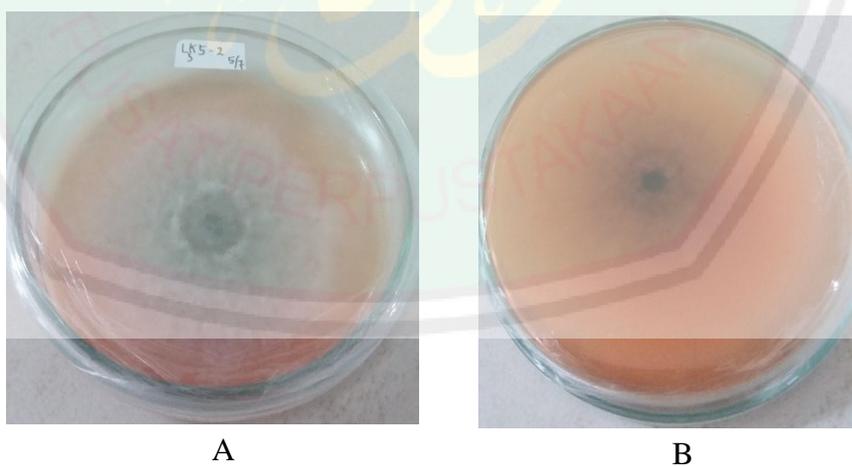
Penurunan indeks toleransi dengan peningkatan konsentrasi logam berat disebabkan oleh sifat adaptasi fungi yang berkurang, tetapi hal itu bukan berarti bahwa fungi tersebut tidak dapat mentolerir konsentrasi logam berat yang tinggi. Pola pertumbuhan ini menunjukkan bahwa fungi tidak dapat mengembangkan toleransinya dengan peningkatan konsentrasi logam. Hal tersebut merupakan respon fungi terhadap adanya racun atau zat toksik (Anahid *et al.*, 2011).

Pola pertumbuhan fungi menunjukkan tingkat toleransi atau adaptasi fungi dengan adanya logam berat. Semakin tinggi konsentrasi logam berat maka semakin rendah pertumbuhan isolat fungi, karena tingkat toleransi atau adaptasi

fungi menurun. Pada konsentrasi logam yang lebih rendah, isolat fungi sangat tahan dan menunjukkan pertumbuhan yang kuat. Konsentrasi ion logam yang lebih tinggi menyebabkan pengurangan pertumbuhan (Ezzouhri *et al.*, 2009).

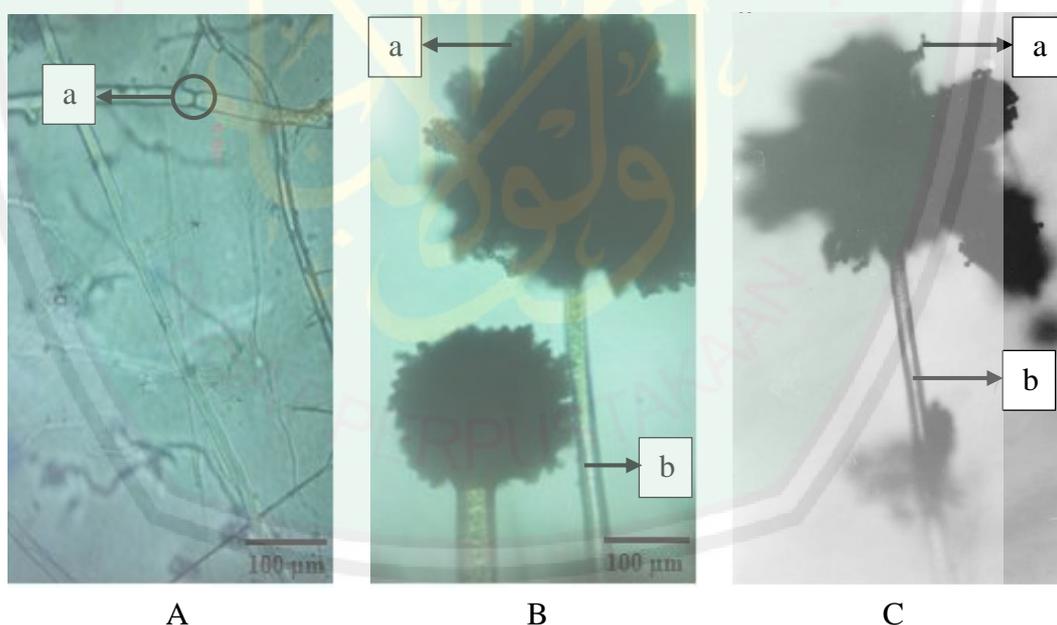
4.2 Identifikasi Fungi Endofit secara Makroskopik dan Mikroskopik

Identifikasi isolat terpilih dilakukan dengan melakukan pengamatan makroskopik dan mikroskopik kemudian dibandingkan dengan literatur. Identifikasi tersebut dilakukan pada isolat fungi yang tumbuh pada konsentrasi Cu tertinggi pada saat uji toleransi (200 mg/L), yang berjumlah 1 isolat (Gambar 4.2). Koloni isolat tersebut secara makroskopik berwarna putih kemerahan jika dilihat dari permukaan atas dan berwarna jingga kemerahan jika dilihat dari permukaan bawah. Fungi tersebut mempunyai hifa aerial. Bentuk koloninya *circular* (bulat), tepi koloninya yaitu *undulate* (bergelombang), tekstur permukaannya seperti kapas, dan pola pertumbuhannya menyebar dengan elevasi *raised* (datar).



Gambar 4.2 Hasil pengamatan struktur makroskopik isolat terpilih yang ditumbuhkan di PDA tanpa tambahan Cu (A: tampak atas, B: tampak bawah) (dokumentasi pribadi)

Identifikasi secara mikroskopik menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40x menunjukkan bahwa fungi tersebut mempunyai sekat pada hifanya (koenositik) (Gambar 4.3(A)). Diameter hifa sebesar 31,14 μm dan diameter konidiofor sebesar 3,88 μm . Konidiofor berwarna hijau, tidak bercabang, dan dindingnya halus. Pada ujung konidiofor terdapat konidia yang berwarna hitam kehijauan, berbentuk bulat membentuk untaian seperti rantai, dan dindingnya halus (Gambar 4.3(B)). Karakteristik tersebut menunjukkan bahwa fungi tersebut termasuk dalam genus *Aspergillus*. Menurut Barnett dan Barry (1972), genus *Aspergillus* memiliki konidiofor hialin, ujungnya membesar, dan terdapat konidia yang membentuk untaian seperti rantai (berbentuk bulat).



Gambar 4.3 Struktur mikroskopik isolat terpilih, A: hasil pengamatan hifa fungi (a: hifa *septate*) (dokumentasi pribadi) pada perbesaran 40x, B: hasil pengamatan struktur mikroskopik isolat terpilih (a: konidia dan b: konidiofor) (dokumentasi pribadi) pada perbesaran 40x, C: literatur struktur mikroskopik *Aspergillus niger* (Watanabe, 2002) (a: konidia dan b: konidiofor)

Menurut Dismukes *et al.* (2003), *Aspergillus niger* memiliki hifa yang bersifat hialin dan *septate* (bersekat). Konidia *biseriate*, diameter sebesar 4-5 μm , dan berwarna coklat hingga hitam menutupi seluruh vesikel. Menurut Watanabe (2002), *Aspergillus niger* memiliki konidiofor hialin, memiliki dinding yang tebal dan halus, membengkak di bagian apeks membentuk vesikel yang bulat, bantalan konidia terbagi menjadi lebih dari empat fragmen konidia yang terdiri dari konidia *catenulate* (lebih dari 15 konidia yang membentuk untaian seperti rantai) berasal dari *phialides uniseriate* atau *biseriate*. Konidia berwarna coklat hingga hitam dan berbentuk bulat (Gambar 4.3(C)).

4.3 Uji Kemampuan Biosorpsi Isolat Terpilih terhadap Cu

4.3.1 Kurva Pertumbuhan Fungi

Kurva pertumbuhan fungi endofit dari daun *Tectona grandis* yang berkaitan dengan biosorpsi Cu digunakan untuk mengetahui fase pertumbuhan fungi endofit tersebut yang berperan sebagai hiperakumulator terhadap Cu. Pertumbuhan fungi endofit daun jati (*Tectona grandis*) ditandai dengan terbentuknya koloni fungi yang dapat diukur berdasarkan berat kering (Gambar 4.4). Semakin lama waktu inkubasi maka semakin tinggi berat kering fungi, kemudian menurun setelah melewati fase logaritmik (Lampiran 5) (Hasanah, 2018).

Fase lag merupakan fase pertumbuhan mikroba untuk beradaptasi dengan kondisi lingkungannya. Pertumbuhan fungi tidak terlihat adanya fase lag karena inokulum yang digunakan sudah berumur 7 hari yang sebelumnya dibiakkan di media padat (PDA). Fase lag fungi tersebut ketika ditumbuhkan pada PDA,

sehingga pada saat berumur 7 hari sebelum ditumbuhkan di PDB telah memasuki fase logaritmik (Rendowaty *et al.*, 2017). Fase lag/fase adaptasi tidak diperlukan oleh suatu mikroba ketika nutrisi/media dan lingkungan pertumbuhannya sama seperti yang sebelumnya. Jika nutrisi dan lingkungan pertumbuhannya berbeda dengan sebelumnya maka dibutuhkan waktu adaptasi untuk mensintesis enzim (Suprihatin, 2010).



Gambar 4.4 Kurva pertumbuhan fungi (isolat terpilih) selama 14 hari yang ditumbuhkan di PDB. Error bars menunjukkan ulangan sebanyak 3 kali (Lampiran 6)

Berdasarkan grafik (Gambar 4.4) menunjukkan bahwa kurva pertumbuhan isolat fungi endofit daun jati (*Tectona grandis*) terdiri dari fase logaritmik/eksponensial dan fase kematian. Fase logaritmik/eksponensial mulai hari ke satu sampai hari ke enam yang ditandai dengan meningkatnya berat kering fungi, yang merupakan fase peningkatan aktivitas sel. Pada fase logaritmik, pembelahan mikroba berlangsung cepat yang ditandai dengan peningkatan jumlah

biomassa (Suprihatin, 2010). Pada fase ini, aktivitas sel meningkat sehingga produksi enzim juga meningkat. Aktivitas produksi enzim fungi akan berpengaruh terhadap serapan total Cu oleh fungi tersebut. Serapan total Cu oleh fungi tertinggi ketika tingkat aktivitas enzim maksimal (Ghaed *et al.*, 2013).

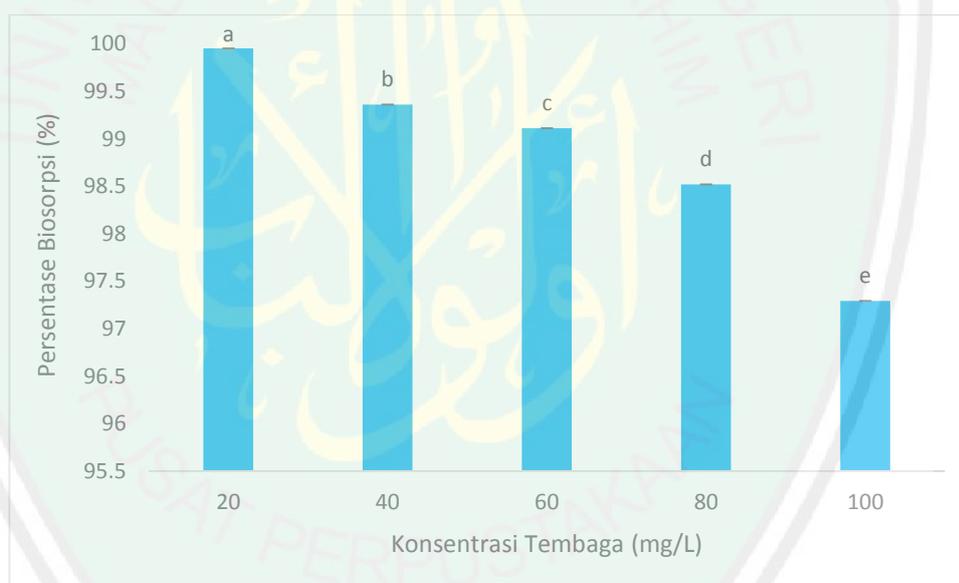
Fase kematian terjadi pada hari ke tujuh sampai hari ke empat belas yang ditandai dengan menurunnya berat kering fungi. Pada fase kematian, aktivitas sel mulai menurun sampai mengalami kematian disebabkan oleh penurunan nutrisi pada media sehingga cadangan energi di dalam sel habis. Kecepatan fase kematian tergantung dari jenis mikroba, media, dan kondisi lingkungan. Pertumbuhan mikroba sangat dipengaruhi oleh media (kandungan nutrisi dan pH) dan kondisi lingkungan (suhu dan kelembaban). Pertumbuhan mikroba yang tinggi menyebabkan mikroba membutuhkan energi lebih banyak daripada fase lainnya (Suprihatin, 2010).

4.3.2 Uji Biosorpsi Isolat Terpilih

Tembaga dapat berikatan dengan diethyldithiocarbamate karena tembaga adalah salah satu elemen yang membentuk kompleks dengan sodium diethyldithiocarbamate. Ikatan antara tembaga dengan diethyldithiocarbamate dan ammonium hydroxide membentuk warna kuning kecokelatan. Semakin tinggi konsentrasi Cu maka semakin pekat warna yang dihasilkan oleh reaksi antara tembaga dengan reagen tersebut (Sirotiak *et al.*, 2014).

Fungi yang ditumbuhkan pada PDB dengan variasi konsentrasi Cu sebesar 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L memiliki persentase biosorpsi secara berturut-turut sebesar 99.95%, 99.36%, 99.11%, 98.52%, dan 97.29% (Lampiran 7) yang

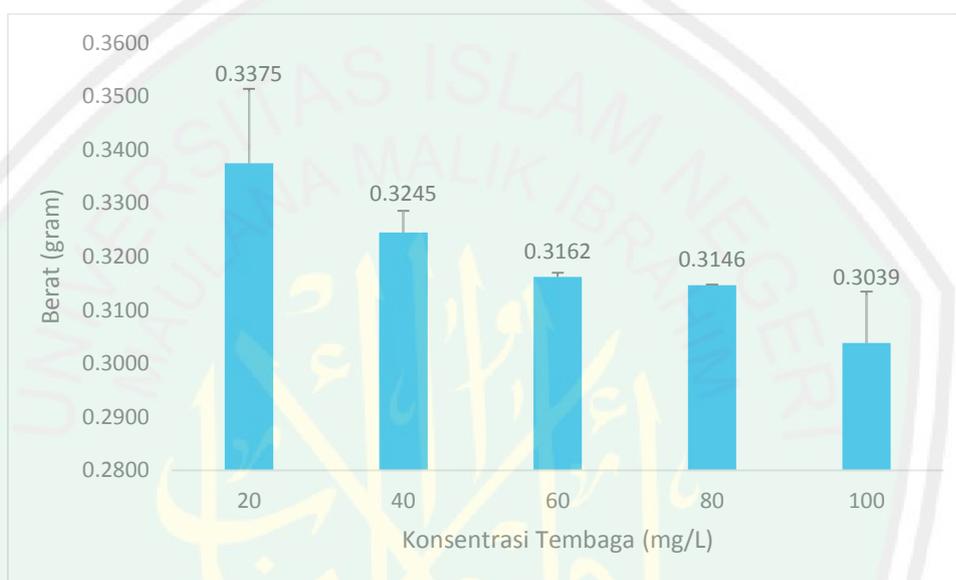
berbeda nyata dengan sig. < 0.05 dan $\alpha=95\%$ (Lampiran 8). Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi Cu maka semakin rendah persentase biosorpsi yang dilakukan oleh fungi (Gambar 4.5). Persentase biosorpsi yang dilakukan oleh fungi berkaitan dengan luas permukaan dinding sel fungi. Mekanisme serapan fungi terhadap logam berat melalui pengikatan ion logam pada permukaan dinding sel fungi. Jika biomassa fungi menurun sebagai akibat adanya paparan logam berat yang meningkat maka luas permukaan dinding sel lebih kecil untuk mengikat ion logam yang berada dalam larutan (Siddiquee *et al.*, 2013).



Gambar 4.5 Kemampuan biosorpsi isolat terpilih terhadap Cu dengan variasi konsentrasi sebesar 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L. Notasi huruf menunjukkan perbedaan yang nyata antarperlakuan pada sig. 0.05 dan $\alpha=95\%$. Error bars menunjukkan ulangan sebanyak 3 kali (Lampiran 9)

Penurunan berat kering (biomassa) fungi berbanding lurus dengan penurunan persentase biosorpsi. Rata-rata biomassa fungi yang tumbuh pada konsentrasi Cu 20 mg/L sebesar 0.3375 gram, 40 mg/L sebesar 0.3245 gram, 60

mg/L sebesar 0.3162 gram, 80 mg/L sebesar 0.3146 gram, dan 100 mg/L sebesar 0.3039 gram (Lampiran 10). Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Siddiquee *et al.* (2013) bahwa persentase biosorpsi menurun ketika biomassa fungi juga mengalami penurunan dengan meningkatnya konsentrasi logam (Gambar 4.6).



Gambar 4.6 Berat kering isolat terpilih setelah dilakukan uji biosorpsi terhadap Cu dengan variasi konsentrasi sebesar 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L yang dinyatakan dalam gram. Error bars menunjukkan ulangan sebanyak 3 kali (Lampiran 11)

Peningkatan paparan logam berat menyebabkan sel mengalami pengikatan lebih lanjut terhadap ion logam, sehingga biomassa fungi akan menurun dengan adanya paparan logam yang meningkat. Persentase biosorpsi berkaitan dengan interaksi elektrostatis dari gugus fungsional pada permukaan sel fungi. Sel-sel pada konsentrasi logam yang lebih tinggi akan menempel satu sama lain, sehingga menurunkan area permukaan sel dalam kontak dengan ion logam (Siddiquee *et al.*, 2013).

Tembaga yang termasuk dalam golongan logam transisi selain memberikan dampak negatif dalam pencemaran lingkungan juga memberikan dampak positif jika konsentrasinya tidak melebihi ambang batas. Keberadaan tembaga di dalam tubuh manusia maupun tumbuhan berperan dalam proses fisiologis jika mencukupi kebutuhan di dalam tubuh. Allah SWT telah menciptakan segala sesuatu di bumi dengan adanya manfaat, sebagaimana firman Allah SWT dalam Q.S. Al-Hadid ayat 25 sebagai berikut:

لَقَدْ أَرْسَلْنَا رُسُلَنَا بِالْبَيِّنَاتِ وَأَنْزَلْنَا مَعَهُمُ الْكِتَابَ وَالْمِيزَانَ لِيَقُومَ النَّاسُ بِالْقِسْطِ وَأَنْزَلْنَا الْحَدِيدَ فِيهِ بَأْسٌ شَدِيدٌ وَمَنَافِعُ لِلنَّاسِ وَلِيَعْلَمَ اللَّهُ مَن 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 turunkan 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 Mahakuat lagi Maha Perkasa."

Arti kata الْحَدِيدُ dalam ayat tersebut yaitu besi. Menurut *Tafsir Quraish Shihab* (2002), Allah SWT telah mengeluarkan besi (golongan logam) dari tempat-tempat penambangannya. Hal tersebut agar manusia memanfaatkan besi dalam kebutuhannya. Besi digunakan sebagai bahan baku berbagai macam industri yang dapat meningkatkan kemajuan teknologi. Besi berperan dalam proses fisiologis tumbuhan, hewan, dan manusia. Tubuh membutuhkan zat besi dalam konsentrasi tertentu yang harus dipenuhi untuk menunjang proses biologis, namun jika melebihi kebutuhan akan menjadi racun bagi tubuh.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Kemampuan toleransi fungi endofit daun jati (*Tectona grandis*) terhadap konsentrasi Cu tertinggi (200 mg/L) yang diisolasi dari pertambangan minyak Desa Wonocolo, Bojonegoro, Jawa Timur berjumlah 1 isolat yang memiliki indeks toleransi sebesar 0,5625.
2. Jenis fungi endofit daun jati (*Tectona grandis*) yang memiliki toleransi pada konsentrasi Cu tertinggi (200 mg/L) berdasarkan pengamatan secara makroskopik dan mikroskopik termasuk dalam genus *Aspergillus*.
3. Kemampuan biosorpsi Cu oleh fungi endofit daun jati (*Tectona grandis*) terpilih pada variasi konsentrasi Cu sebesar 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L secara berturut-turut yaitu 99.95%, 99.36%, 99.11%, 98.52%, dan 97.29%.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat dikemukakan saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan identifikasi secara molekuler untuk mengkonfirmasi hasil identifikasi secara makroskopik dan mikroskopik.

2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menambah variasi dari pengaruh jenis logam berat, konsentrasi biomassa, pH, suhu, dan waktu kontak untuk menentukan kondisi optimum isolate fungi dalam biosorpsi.



DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, Mudhofir. 2010. *Al-Qur'an & Konservasi Lingkungan: Argumentasi Konservasi Lingkungan sebagai Tujuan Tertinggi Syari'ah*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Ahmad, I., Mohd Ikram Ansari, and Farrukh Aqil. 2006. Biosorption of Ni, Cr and Cd by Metal Tolerant *Aspergillus niger* and *Penicillium* sp. Using Single and Multi-Metal Solution. *Indian Journal of Experimental Biology*, 44: 73-76.
- Ahmad, Riza Zainuddin. 2018. Mikoremediasi Menghilangkan Polusi Logam Berat pada Lahan Bekas Tambang untuk Lahan Peternakan. *Wartazoa*, 28(1): 41-50.
- Aishwarya, S., Venkateswarlu N, Chandra mouli K, and Vijaya T. 2014. Role of Endophytic Fungi in Restoration of Heavy Metal Contaminated Soils. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 4(11): 5427-5436.
- Ajmal, M., Rifaqat Ali Khan Rao, and Rais Ahmad. 2011. Adsorption Studies of Heavy Metals on *Tectona Grandis*: Removal and Recovery of Zn (II) from Electroplating Wastes. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 32: 851-856.
- Akhtar, S., Muhammad Mahmood-ul-Hassan, Rizwan Ahmad, Vishandas Suthor, and Muhammad Yasin. 2013. Metal Tolerance Potential of Filamentous Fungi Isolated from Soils Irrigated with Untreated Municipal Effluent. *Soil Environ*. 32(1): 55-62.
- Al Imam Jalaluddin Muhammad dan Al Jalaluddin Asy-Syuyuthi. 2010. *Tafsir Jalalain*. Surabaya: Pustaka Elba.
- Al-Maraghi, Ahmad Mustafa. 1987. *Tafsir Al-Maraghi* Juz 14 (Penerjemah: Bahrun Abu Bakar, Lc., Hery Noer Aly dan K. Anshori Umar Sitanggal). Semarang: Toha Putra.
- Almatsier, S. 2004. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: Gedia Pustaka Utama.
- Anahid, S., S. Yaghmaeia, and Z. Ghobadinejad. 2011. Heavy Metal Tolerance of Fungi. *Scientia Iranica*, 18(3): 502-508.
- Archana and A. K. Jaitly. 2015. Mycoremediation: Utilization of Fungi for Reclamation of Heavy Metals at Their Optimum Remediation Conditions. *An International Quarterly Journal of Biology and Life Sciences*, 3(1): 77-106.
- Barnett, H. L. and Barry B. Hunter. 1972. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. USA: The American Phytopathological Society.
- Damodaran, D., K. Vidya Shetty, and B. Raj Mohan. 2013. Effect of Chelaters on Bioaccumulation of Cd (II), Cu (II), Cr (VI), Pb (II) and Zn (II) in *Galerina*

- vittiformis* from Soil. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 85: 182-188.
- Das, Nilanjana, R. Vimala and P. Karthika. 2008. Biosorption of Heavy Metals- An Overview. *Indian Journal of Biotechnology*, 7: 159-169.
- Dismukes, W. E., Peter G. Pappas, and Jack D. Sobel. 2003. *Clinical Mycology*. New York: Oxford University Press.
- Dwivedi, S., Anuradha Mishra, and Devendra Saini. 2012. Removal of Heavy Metals in Liquid Media through Fungi Isolated from Waste Water. *International Journal of Science and Research*, 1(3): 181-185.
- El-Saharty, A. A., Nasr Hussein El-Hammamy, and Haitham Ahmed El-Araby. 2015. Sodium Diethyldithiocarbamate as Accelerator of the Rate of Copper Cementation. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 41: 289-293.
- Ezzouhri, L., E. Castro, M. Moya, F. Espinola, and K. Lairini. 2009. Heavy Metal Tolerance of Filamentous Fungi Isolated from Polluted Sites in Tangier, Morocco. *African Journal of Microbiology Research*, 3(2): 035-048.
- Gandjar, I. G. dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gavrilescu, M. 2004. Removal of Heavy Metals from the Environmental by Biosorption. *Engineering in Life Sciences*, 4(3): 219-232.
- Ghaed, S., Elham Khalilzadeh S., and Reza Marandi. 2013. Biosorption of Copper Ions by *Bacillus* and *Aspergillus* Species. *Adsorption Science and Technology*, 31(10): 869-890.
- Harmita. 2006. *Analisis Kuantitatif Bahan Baku dan Sediaan Farmasi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Hartati, Anis S. and Marita. 2017. The Performance of Miners in Old Oil Wells in Coal Potential Area (Study: Traditional Oil Miners in Wonocolo, Bojonegoro, Indonesia). *International Journal of Social Science and Humanity*, 7(12): 762-766.
- Hasanah, U. 2018. Kurva Pertumbuhan Jamur Endofit Antijamur *Candida* dari Tumbuhan Raru (*Cotylelobium melanoxydon*) Genus *Aspergillus*. *Jurnal Biosains*, 4(2): 102-107.
- Hozumi, T., Hiroaki Tsutsumia, and Masakazu Kono. 2000. Bioremediation on the Shore after an Oil Spill from the Nakhodka in the Sea of Japan. I. Chemistry and Characteristics of Heavy Oil Loaded on the Nakhodka and Biodegradation Tests by a Bioremediation Agent with Microbiological Cultures in the Laboratory. *Marine Pollution Bulletin*, 40(4): 308-314.

- Ibnu Katsier. 1988. *Tafsir Ibnu Katsier Jilid 1, dan Jilid 4* (Penerjemah: H. Salim Bahreisy dan H. Said Bakhreisy). Kuala Lumpur: Victory Agencie.
- Ihsan, Yudi N., Aurora Aprodita, Ike Rustikawati, dan Tri Dewi K. Pribadi. 2015. Kemampuan *Gracilaria* sp. sebagai Agen Bioremediasi dalam Menyerap Logam Berat Pb. *Jurnal Kelautan*, 8(1): 10-18.
- Iskandar, Nur L., Nur Ain Izzati Mohd Z., and Soon Guan Tan. 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.
- Jimoh, T.O., Iyaka, Y. A., and Nubaye, M. M. 2012. Sorption Study of Co (II), Cu(II) and Pb(II) ions Removal from Aqueous Solution by Adsorption on Flamboyant Flower (*Delonix regia*). *American Journal of Chemistry*, 2(3): 165-170.
- Khopkar, S. M. 2003. *Kimia Analitis*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Kim, Tae K., Taeyeon Kim, Woo-Seok Choe, Moon-Kyung Kim, Yong-Jun Jung, Kyung-Duk Zoh. 2018. Removal of Heavy Metals in Electroplating Wastewater by Powdered Activated Carbon (PAC) and Sodium Diethyldithiocarbamate-Modified PAC. *Environmental Engineering Research*, 23(3): 301-308.
- King, P., P. Srinivas, Y. Prasanna Kumar, and V.S.R.K. Prasad. 2006. Sorption of Copper(II) Ion from Aqueous Solution by *Tectona grandis* l.f. (Teak Leaves Powder). *Journal of Hazardous Materials*, B136: 560-566.
- Kosasih, E. 2013. *Produksi Bibit Berkualitas; Jati (Tectona grandis)*. Sumedang: Balai Perbenihan Tanaman Hutan Jawa dan Madura.
- Kumar, Y. Prasanna, P. King, and V.S.R.K. Prasad. 2006. Equilibrium and Kinetic Studies for the Biosorption System of Copper(II) Ion from Aqueous Solution Using *Tectona grandis* L.f. Leaves Powder. *Journal of Hazardous Materials*, B137: 1211-1217.
- Lee, J. D. 2004. *Concise Inorganic Chemistry*. London: Chapman & Hall.
- Li, Xinya, Wei Li, Long Chu, James F. White Jr, Zhi Xiong, and Haiyan Li. 2016. Diversity and Heavy Metal Tolerance of Endophytic Fungi from *Dysphania Ambrosioides*, A Hyperaccumulator from Pb-Zn Contaminated Soils. *Journal of Plant Interactions*, 11(1): 186-192.
- Mansur, Irdika. 2015. *Bisnis dan Budidaya 18 Kayu Komersial*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Monser, L. and Nafaa Adhoum. 2002. Modified Activated Carbon for the Removal of Copper, Zinc, Chromium and Cyanide from Wastewater. *Separation and Purification Technology*, 26: 137-146.

- Mukhopadhyay, M., S.B. Noronha, and G. K. Suraishkumar. 2007. Kinetic Modeling for the Biosorption of Copper by Pretreated *Aspergillus niger* Biomass. *Bioresource Technology*, 98: 1781-1787.
- Muszynska, E. and Ewa Hanus-Fajerska. 2015. Why are Heavy Metal Hyperaccumulating Plants so Amazing?. *Journal of Biotechnology, Computational Biology and Bionanotechnology*, 96(4): 265-271.
- Naumi, Rizha Nahdia. 2015. Pertambangan Minyak Tradisional di Desa Wonocolo, Kecamatan Kedewan, Kabupaten Bojonegoro Tahun 1970-1987. *AVATARA, e-Journal Pendidikan Sejarah*, 3(1): 135- 146.
- Nuriadi, Mery Napitupulu, dan Nurdin Rahman. 2013. Analisis Logam Tembaga (Cu) pada Buangan Limbah Tromol (Tailing) Pertambangan Poboya. *Jurnal Akademika Kimia*, 2(2): 90-96.
- Oladipo, Oluwatosin G., Olusegun Olufemi A., Akinyemi Olayinka, Cornelius Carlos B., and Mark Steve M. 2018. Heavy Metal Tolerance Traits of Filamentous Fungi Isolated from Gold and Gemstone Mining Sites. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49: 29-37.
- Palanisamy, K., Maheshwar Hegde, and Jae-Seon Yi. 2009. Teak (*Tectona grandis* Linn. f.): A Renowned Commercial Timber Species. *Journal of Forest Science*, 25(1): 1-24.
- Palar, Heryando. 2004. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Parmar, M. and Lokendra Singh Thakur. 2013. Heavy Metal Cu, Ni and Zn: Toxicity, Health Hazards and Their Removal Techniques by Low Cost Adsorbents. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 3(3): 143-157.
- Patel, Khageshwar S., Reetu Sharma, Nohar Singh D., Ankit Yadav, Borislav Blazhev, Laurent M., and Jon Hoinkis. 2015. Heavy Metal Contamination of Tree Leaves. *American Journal of Analytical Chemistry*, 6: 687-693.
- Peng, C., Li-Yuan Chai, Chong-Jian Tang, Xiao-BoMin, Mohammad Ali, Yu-Xia Songa and Wei-Ming Qia. 2016. Feasibility and Enhancement of Copper and Ammonia Removal from Wastewater using Struvite Formation: A Comparative Research. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 5(9): 1-9.
- 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*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri. Malang. Skripsi.

- Quthb, Sayyid. 2004. *Tafsir Fi Zhilalil-Qur'an di Bawah Naungan Al-Qur'an*. Jakarta: Gemma Insani Press.
- Radmehr, V., Seyed Mohammad Javad K., Mohammad Reza K., and Mohammad Reza Tavakoli M. 2014. Ammonia Leaching: A New Approach of Copper Industry in Hydrometallurgical Processes. *Journal of the Institution of Engineers (India): Series D*, 94(2): 95-104.
- Rascio, N. and Flavia Navari-Izzo. 2011. Heavy Metal Hyperaccumulating Plants: How and Why Do They Do it? And What Makes Them so Interesting?. *Plant Science*, 180: 169-181.
- Ratnawati, E., Rahyani Ermawati dan Siti Naimah. 2010. Teknologi Biosorpsi oleh Mikroorganisme, Solusi Alternatif untuk Mengurangi Pencemaran Logam Berat. *Jurnal Kimia dan Kemasan*, 32(1): 34-40.
- Rendowaty, A., Akmal Djamaan, dan Dian Handayani. 2017. Waktu Kultivasi Optimal dan Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etil Asetat Jamur Simbion *Aspergillus unguis* (WR8) dengan *Haliclona fascigera*. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 4(2): 49-54.
- Sandhu, Sardul S., Suneel Kumar and Ravindra Prasad Aharwal. 2014. Isolation and Identification of Endophytic Fungi from *Ricinus Communis* Linn. and Their Antibacterial Activity. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, 4(3): 611-618.
- Sari, Gina L., Yulinah Trihadiningruma, Farradina Choria S., Aulia Fashanah H. 2018. Identification of Total Petroleum Hydrocarbon and Heavy Metals Levels in Crude Oil Contaminated Soil at Wonocolo Public Mining. *Environment Asia*, 11(2): 109-117.
- Selim, K. A., El-Beih A. A., Abdel-Rahman T. M., and El-Diwanly A. I. 2012. Biology of Endophytic Fungi. *Current Research in Environmental & Applied Mycology*, 2(1): 31-82.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati Press.
- Siddiqoh, Elha Ayu Alinda. 2015. *Konflik Masyarakat Penambang Minyak Mentah (Analisis Konflik Pengelolaan Pertambangan Minyak Mentah Desa Wonocolo, Kecamatan Kedewan, Kabupaten Bojonegoro Periode 2009-2015)*. Jurusan Sosiologi Fakultas Ilmu Sosial dan Ilmu Politik Universitas Airlangga. Surabaya. Skripsi.
- Siddiquee, S., Salleh N. A., Sujjat A. A., Saili N. S., and Laila Naher. 2013. Tolerance and Biosorption Capacity of Zn^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{3+} , and Cu^{2+} by Filamentous Fungi (*Trichoderma harzianum*, *T. aureoviride*, and *T. virens*). *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 4: 570-583.

- Sirotiak, M., Alica Bartošová, and Lenka Blinová. 2014. Uv-Vis Spectrophotometric Determinations of Selected Elements in Modelled Aqueous Solutions. *Journal of Environmental Protection, Safety, Education and Management*, 3(2): 75-87.
- Steenis, Van. 2006. *Flora*. Jakarta: Pradnya Paramita.
- Subowo, Y. B. 2010. Uji Aktifitas Enzim Selulase dan Ligninase dari Beberapa Jamur dan Potensinya sebagai Pendukung Pertumbuhan Tanaman Terong (*Solarium melongena*). *Berita Biologi*, 10(1): 1-6.
- Sumarna, Yana. 2011. *Kayu Jati: Panduan Budidaya dan Prospek Bisnis*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sundari. 2012. Suatu Model Pengembangan Media Pembelajaran Slide Culture untuk Pengamatan Struktur Mikroskopik Kapang pada Matakuliah Mycologi. *Jurnal Bioedukasi*, 1(1): 39-47.
- Suprapti. 2011. Penyelesaian Sengketa Pengelolaan Sumur Tua secara Tradisional oleh Masyarakat di Desa Wonocolo Bojonegoro Ditinjau dari Aspek Hukum. *Jurnal Sosial Humaniora*, 4(2): 121-134.
- Suprihatin. 2010. *Teknologi Fermentasi*. UNESA Press.
- Talaro, Kathleen Park. 2002. *Foundations in Microbiology*. USA: McGraw-Hill College.
- Tan, R. X. and W. X. Zou. 2001. Endophytes: A Rich Source of Functional Metabolites. *Natural Product Reports*, 18: 448-459.
- Tiwari, Kartikeya. 2015. The Future Products: Endophytic Fungal Metabolites. *Journal of Biodiversity, Bioprospecting and Development*, 2(1): 1-7.
- Tsekova, K., Danka Galabova, Kristina Todorova, and Svetla Ilieva. 2002. Phosphatase Activity and Copper Uptake during Growth of *Aspergillus niger*. *Process Biochemistry*, 37: 753-758.
- Vogel. 1990. *Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro*. Jakarta: Kalman Media Pustaka.
- Wang, J., Heng Ban, Xinjun Teng, Hao Wang, and Ken Ladwig. 2006. Impacts of pH and ammonia on the leaching of Cu(II) and Cd(II) from coal fly ash. *Chemosphere*, 64: 1892-1898.
- Watanabe, Tsuneo. 2002. *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species*. Florida: CRC Press.
- Watson, D. G. 1999. *Pharmaceutical Analysis: A Textbook for Pharmacy Students and Pharmaceutical Chemists*. Edinburgh: Churchill Livingstone.
- Yruela, Inmaculada. 2005. Copper in Plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1): 145-156.

Zimmermann, M., and Wolf, K. 2002. Biosorption of Metals. *The Mycota, Industrial Application*, 10: 355-364.



Lampiran 1 Pembuatan Larutan Stok $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Pembuatan larutan stok $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dilakukan dengan cara menghitung Mr $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{Mr CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} &= (1 \times \text{Ar Cu}) + (2 \times \text{Ar Cl}) + 2 \{ (2 \times \text{Ar H}) + (1 \times \text{Ar O}) \} \\ &= (1 \times 63,5) + (2 \times 35,5) + 2 \{ (2 \times 1) + (1 \times 16) \} \\ &= 63,5 + 71 + 36 \\ &= 170,5 \end{aligned}$$

Pembuatan larutan stok $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1000 mg/L dihitung berdasarkan rumus berikut:

$$\begin{aligned} 1000 \text{ mg/L} &= 1000 \text{ mg/L} \times \frac{1 \text{ gram}}{1000 \text{ mg}} \times \frac{\text{Mr CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}}{\text{Ar Cu}} \\ &= 1000 \times 0,001 \times 2,433 \\ &= 2,685 \text{ g/L} \end{aligned}$$

Jadi, larutan stok $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1000 mg/L dibuat dengan cara melarutkan 2,685 gram CuCl_2 dalam 100 mL H_2O .

Lampiran 2 Pembuatan Larutan Uji Toleransi

Perhitungan larutan uji toleransi sebesar 25, 50, 75, 100, dan 200 mg/L berdasarkan rumus berikut:

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

Keterangan:

V_1 = volume larutan stok yang diambil

M_1 = konsentrasi larutan stok

V_2 = volume larutan total

M_2 = konsentrasi yang diinginkan

Perhitungan larutan uji toleransi sebesar 25, 50, 75, 100, dan 200 mg/L sebagai berikut:

a. 25 mg/L

$$V_1 \times 1000 \text{ mg/L} = 20 \text{ ml} \times 25 \text{ mg/L}$$

$$V_1 = \frac{20 \text{ ml} \times 25 \text{ mg/L}}{1000 \text{ mg/L}}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

b. 50 mg/L

$$V_1 \times 1000 \text{ mg/L} = 20 \text{ ml} \times 50 \text{ mg/L}$$

$$V_1 = \frac{20 \text{ ml} \times 50 \text{ mg/L}}{1000 \text{ mg/L}}$$

$$V_1 = 1 \text{ ml}$$

c. 75 mg/L

$$V_1 \times 1000 \text{ mg/L} = 20 \text{ ml} \times 75 \text{ mg/L}$$

$$V_1 = \frac{20 \text{ ml} \times 75 \text{ mg/L}}{1000 \text{ mg/L}}$$

$$V_1 = 1,4 \text{ ml}$$

d. 100 mg/L

$$V_1 \times 1000 \text{ mg/L} = 20 \text{ ml} \times 100 \text{ mg/L}$$

$$V_1 = \frac{20 \text{ ml} \times 100 \text{ mg/L}}{1000 \text{ mg/L}}$$

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

e. 200 mg/L

$$V_1 \times 1000 \text{ mg/L} = 20 \text{ ml} \times 200 \text{ mg/L}$$

$$V_1 = \frac{20 \text{ ml} \times 200 \text{ mg/L}}{1000 \text{ mg/L}}$$

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

Tabel Ringkasan Perhitungan Pembuatan Larutan Uji Toleransi

Konsentrasi Larutan Logam (mg/L)	Volume Larutan Stok (ml)	Volume PDA (ml)	Volume Total (ml)
25	0,5	19,5	20
50	1	19	20
75	1,4	18,6	20
100	2	18	20
200	4	16	20

Lampiran 3 Pembuatan Larutan Cu untuk Kurva Kalibrasi

Pembuatan larutan Cu dengan konsentrasi 0; 1; 2,5; 5; 10; 20; dan 50 mg/L diambil dari stok larutan Cu 50 mg/L, dengan perhitungan sebagai berikut:

a. 1 mg/L

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

$$V_1 \times 50 \text{ mg/L} = 1 \text{ mL} \times 1 \text{ mg/L}$$

$$V_1 = \frac{1 \text{ mL} \times 1 \text{ mg/L}}{50 \text{ mg/L}}$$

$$V_1 = 0,02 \text{ mL}$$

b. 2,5 mg/L

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

$$V_1 \times 50 \text{ mg/L} = 1 \text{ mL} \times 2,5 \text{ mg/L}$$

$$V_1 = \frac{1 \text{ mL} \times 2,5 \text{ mg/L}}{50 \text{ mg/L}}$$

$$V_1 = 0,05 \text{ mL}$$

c. 5 mg/L

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

$$V_1 \times 50 \text{ mg/L} = 1 \text{ mL} \times 5 \text{ mg/L}$$

$$V_1 = \frac{1 \text{ mL} \times 5 \text{ mg/L}}{50 \text{ mg/L}}$$

$$V_1 = 0,1 \text{ mL}$$

d. 10 mg/L

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

$$V_1 \times 50 \text{ mg/L} = 1 \text{ mL} \times 10 \text{ mg/L}$$

$$V_1 = \frac{1 \text{ ml} \times 10 \text{ mg/L}}{50 \text{ mg/L}}$$

$$V_1 = 0,2 \text{ mL}$$

e. 20 mg/L

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

$$V_1 \times 50 \text{ mg/L} = 1 \text{ mL} \times 20 \text{ mg/L}$$

$$V_1 = \frac{1 \text{ ml} \times 20 \text{ mg/L}}{50 \text{ mg/L}}$$

$$V_1 = 0,4 \text{ mL}$$

Tabel Ringkasan Perhitungan Pembuatan Larutan Kurva Kalibrasi Cu

Konsentrasi Larutan Cu (mg/L)	Volume Larutan Stok (mL)	Volume Aquades Steril (mL)	Volume diethyl-dithiocarbamate (mL)	Volume ammonium hydroxide (mL)	Volume Total (mL)
0	0	1	1	1	3
1	0,02	0,98	1	1	3
2,5	0,05	0,95	1	1	3
5	0,1	0,9	1	1	3
10	0,2	0,8	1	1	3
20	0,4	0,6	1	1	3
50	1	0	1	1	3

Lampiran 4 Rumus Perhitungan Indeks Toleransi Isolat Terpilih

Indeks toleransi isolat terpilih dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$Ti = \frac{Dt}{Du}$$

$$Ti = \frac{4,5}{8}$$

$$Ti = 0,5625$$

Keterangan:

Ti = indeks toleransi logam berat

Dt = diameter koloni (cm) yang telah diberi perlakuan logam berat

Du = diameter koloni (cm) yang tidak diberi perlakuan logam berat (kontrol)

Lampiran 5 Data Berat Fungi selama 14 Hari

Berat fungi selama 14 hari dalam pembuatan kurva pertumbuhan fungi sebagai berikut:

Hari	Berat Kertas Saring Kosong (gram)	Berat Kertas Saring + Fungi (gram)	Berat Fungi (gram)
1	0.3659	0.3873	0.0214
2	0.3615	0.3890	0.0275
3	0.3575	0.3893	0.0318
4	0.3622	0.3949	0.0327
5	0.3698	0.4048	0.0350
6	0.3634	0.4122	0.0488
7	0.3579	0.4052	0.0473
8	0.3697	0.4140	0.0443
9	0.3634	0.4069	0.0435
10	0.3702	0.4133	0.0431
11	0.3625	0.4040	0.0415
12	0.3590	0.3965	0.0375
13	0.3606	0.3931	0.0325
14	0.3692	0.3942	0.0250

Contoh perhitungan berat fungi sebagai berikut:

Berat fungi = (berat kertas saring berisi fungi) – bertas kertas saring kosong

Berat fungi hari ke-1 = $0.3873 - 0.3659 = 0.0214$ gram

Lampiran 6 Standar Deviasi Data Hasil Kurva Pertumbuhan Fungi

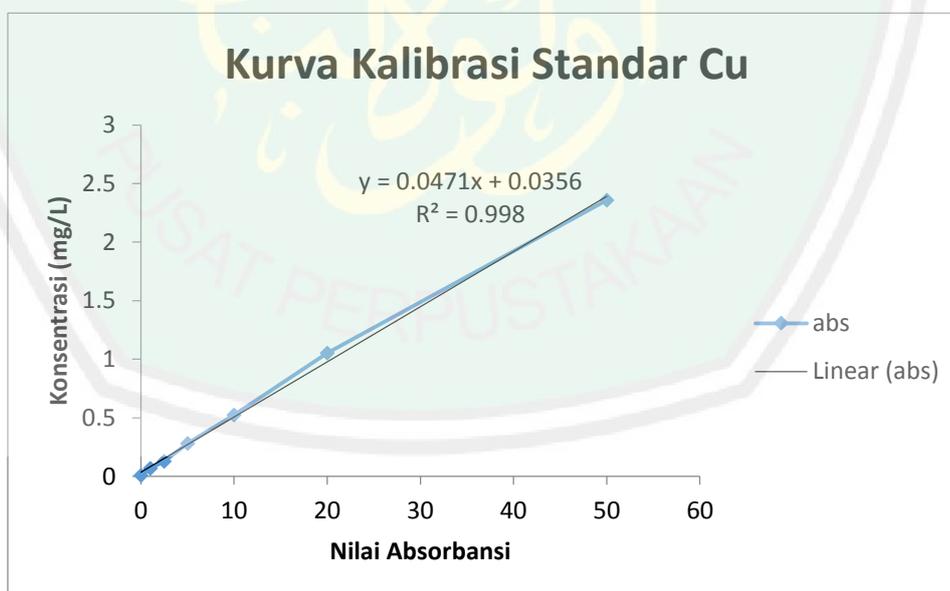
Standar deviasi data hasil kurva pertumbuhan fungi selama 14 hari sebagai berikut:

Hari	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Mean	Standar Deviasi
1	0.021	0.0219	0.0214	0.0214	0.0005
2	0.027	0.0275	0.028	0.0275	0.0005
3	0.031	0.032	0.0325	0.0318	0.0008
4	0.0326	0.0327	0.0328	0.0327	0.0001
5	0.0345	0.0350	0.0355	0.0350	0.0005
6	0.048	0.0495	0.0489	0.0488	0.0008
7	0.0452	0.049	0.0477	0.0473	0.0019
8	0.045	0.041	0.047	0.0443	0.0031
9	0.0492	0.0499	0.0315	0.0435	0.0104
10	0.0430	0.0431	0.0432	0.0431	0.0001
11	0.0405	0.0425	0.0416	0.0415	0.0010
12	0.0354	0.0395	0.0376	0.0375	0.0021
13	0.0314	0.0335	0.0326	0.0325	0.0011
14	0.0249	0.025	0.0251	0.0250	0.0001

Lampiran 7 Nilai Absorbansi Kurva Standar Cu dan Sampel

Nilai absorbansi kurva standar Cu konsentrasi 0; 1; 2,5; 5; 10; 20; dan 50 mg/L menggunakan diethyl-dithiocarbamate dan ammonium hydroxide sebagai berikut:

No.	Konsentrasi (mg/L)	Nilai Absorbansi
1.	0	0.007
2.	1	0.069
3.	2.5	0.128
4.	5	0.281
5.	10	0.523
6.	20	1.051
7.	50	2.358



Gambar L.6.1 Kurva kalibrasi standar Cu

Nilai absorbansi sampel pada panjang gelombang 447 menggunakan spektrofotometer sebagai berikut:

No.	Konsentrasi (mg/L)	Nilai Absorbansi	Rata-Rata
1.	20	0.038	0.037
		0.036	
		0.037	
2.	40	0.070	0.072
		0.072	
		0.073	
3.	60	0.111	0.112
		0.112	
		0.113	
4.	80	0.204	0.205
		0.206	
		0.205	
5.	100	0.423	0.422
		0.421	
		0.422	

Rumus yang didapat dari pembuatan kurva standar Cu yaitu $y = 0.0471x + 0.0356$ yang akan digunakan untuk menghitung konsentrasi logam akhir sebagai berikut:

No.	Konsentrasi awal (mg/L)	Nilai Rata-Rata Absorbansi	Hasil Rumus	Konsentrasi akhir (mg/L)	Persentase Biosorpsi (%)
1.	20	0.037	0.030	0.010	99.95
2.	40	0.072	0.773	0.255	99.36
3.	60	0.112	1.622	0.535	99.11
4.	80	0.205	3.597	1.187	98.52
5.	100	0.422	8.204	2.707	97.29

Contoh perhitungan:

➤ Nilai rata-rata absorbansi 20 mg/L = 0.037

$$y = 0.0471x + 0.0356$$

$$0.037 = 0.0471x + 0.0356$$

$$0.037 - 0.0356 = 0.0471x$$

$$0.0014 = 0.0471x$$

$$x = 0.030$$

- Konsentrasi logam akhir dihitung menggunakan rumus berikut ini:

$$C_e = X \left\{ \frac{V}{V_t} \times V_o \right\}$$

$$C_e = 0.030 \left\{ \frac{0.1}{3} \times 10 \right\}$$

$$C_e = 0.010 \text{ mg/L}$$

- Persentase biosorpsi dihitung menggunakan rumus berikut ini:

$$Q = \left\{ \frac{C_o - C_e}{C_o} \right\} \times 100\%$$

$$Q = \left\{ \frac{20 - 0.010}{20} \right\} \times 100\%$$

$$Q = 99.95\%$$

Lampiran 8 Analisis Data Kemampuan Biosorpsi Menggunakan SPSS

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hasil
N		5
Normal Parameters ^a	Mean	.16960
	Std. Deviation	.154422
Most Extreme Differences	Absolute	.245
	Positive	.245
	Negative	-.195
Kolmogorov-Smirnov Z		.549
Asymp. Sig. (2-tailed)		.924

Test distribution is Normal.

Uji One-Sample Kolmogorov-Smirnov digunakan untuk mengetahui distribusi data. Analisis data pada penelitian ini menunjukkan bahwa signifikansi sebesar 0.924 (>0.05) sehingga data tersebut berdistribusi normal dan memenuhi salah satu syarat uji one way anova.

Test of Homogeneity of Variances

Hasil

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.327	4	10	.854

Uji Homogenitas Varian digunakan untuk mengetahui apakah data dalam variable X dan Y bersifat homogen atau tidak. Analisis data pada penelitian ini menunjukkan bahwa signifikansi sebesar 0.854 (> 0.05) sehingga data tersebut bersifat homogen dan memenuhi salah satu syarat uji one way anova.

ANOVA

Hasil

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.286	4	.072	5.652E4	.000
Within Groups	.000	10	.000		
Total	.286	14			

Anova (*Analysis of variance*) digunakan untuk menguji hipotesis penelitian dengan menilai adakah perbedaan rerata antargrup (kelompok atau jenis perlakuan). Analisis data pada penelitian ini menunjukkan bahwa signifikansi sebesar 0.000 (< 0.05) sehingga kelompok data tersebut berbeda nyata, kemudian dilakukan uji perbandingan berganda Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*) pada selang kepercayaan 95%.

Post Hoc Tests

Hasil

Duncan

Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
1	3	.03700				
2	3		.07167			
3	3			.11200		
4	3				.20500	
5	3					.42200
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Uji Duncan merupakan uji lanjut yang digunakan untuk mengetahui perbedaan secara nyata antarperlakuan. Analisis data pada penelitian ini

menunjukkan bahwa setiap perlakuan (20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L) masing-masing berbeda nyata, yang diketahui melalui notasi (notasi a, b, c, d, dan e).



Lampiran 9 Standar Deviasi Kemampuan Biosorpsi Isolat Terpilih

Standar deviasi data hasil uji kemampuan biosorpsi isolat terpilih sebagai berikut:

Konsentrasi (mg/L)	Ulangan	Hasil Rumus	Konsentrasi Akhir (mg/L)	Persentase Biosorpsi (%)	Mean	Standar Deviasi
20	1	0.051	0.017	100%	0.9995	0.000350
	2	0.008	0.003	100%		
	3	0.030	0.010	100%		
40	1	0.730	0.241	99%	0.9937	0.000268
	2	0.773	0.255	99%		
	3	0.794	0.262	99%		
60	1	1.601	0.528	99%	0.9911	0.000117
	2	1.622	0.535	99%		
	3	1.643	0.542	99%		
80	1	3.575	1.180	99%	0.9852	0.000088
	2	3.618	1.194	99%		
	3	3.597	1.187	99%		
100	1	8.225	2.714	97%	0.9729	0.000070
	2	8.183	2.700	97%		
	3	8.204	2.707	97%		

Lampiran 10 Berat Kering Fungi setelah Biosorpsi

Berat kering fungi setelah disaring dan dioven pada suhu 80°C (setelah biosorpsi) sebagai berikut:

Konsentrasi (mg/L)	U-1 (gram)	U-2 (gram)	U-3 (gram)	Rata-rata (gram)
20	0.3528	0.3342	0.3255	0.3375
40	0.3288	0.3240	0.3208	0.3245
60	0.3160	0.3171	0.3156	0.3162
80	0.3147	0.3147	0.3145	0.3146
100	0.3144	0.3015	0.2957	0.3039

Lampiran 11 Standar Deviasi Berat Kering Fungi setelah Biosorpsi

Standar deviasi berat kering fungi setelah disaring dan dioven pada suhu 80°C (setelah biosorpsi) sebagai berikut:

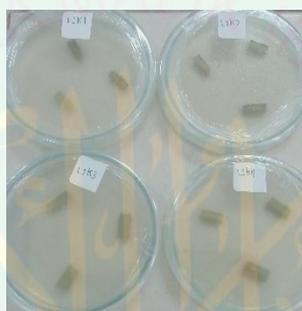
No.	Konsentrasi (mg/L)	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Mean	Standar Deviasi
1.	20	0.3528	0.3342	0.3255	0.3375	0.013946
2.	40	0.3288	0.3240	0.3208	0.3245	0.004027
3.	60	0.3160	0.3171	0.3156	0.3162	0.000777
4.	80	0.3147	0.3147	0.3145	0.3146	0.000115
5.	100	0.3144	0.3015	0.2957	0.3039	0.009572

Lampiran 12 Dokumentasi Penelitian

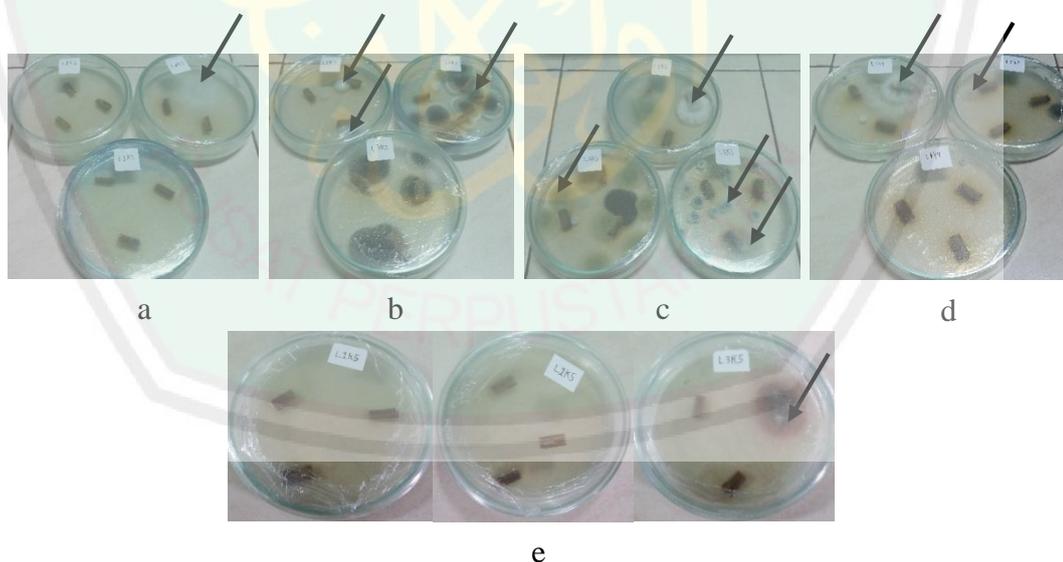
a. Proses Isolasi (*Screening*) Fungi Endofit Daun Jati (*Tectona grandis*)



Gambar L.8.1 Sampel daun Jati dicuci dengan air mengalir



Gambar L.8.2 Sampel dipotong 1 cm dan diinokulasikan ke PDA



Gambar L.8.3 Hasil *screening* fungi endofit daun jati pada konsentrasi 25 mg/L (a), 50 mg/L (b), 75 mg/L (c), 100 mg/L (d), dan 200 mg/L (e)
Keterangan: tanda anak panah menunjukkan isolat fungi yang tumbuh pada konsentrasi tersebut

b. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Fungi



Gambar L.8.4 Pertumbuhan fungi setelah dishaker pada hari ke 1-14 pada PDB



Gambar L.8.5 Penyaringan fungi setelah dishaker menggunakan kertas saring

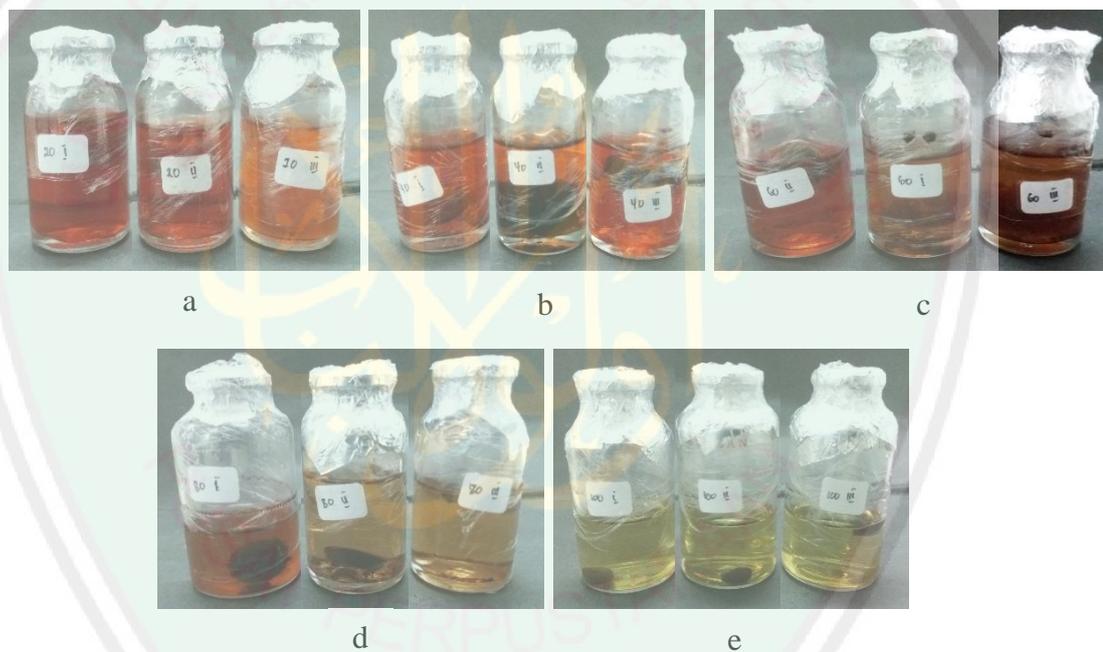


Gambar L.8.6 Berat kering fungi setelah dioven 1 x 24 jam

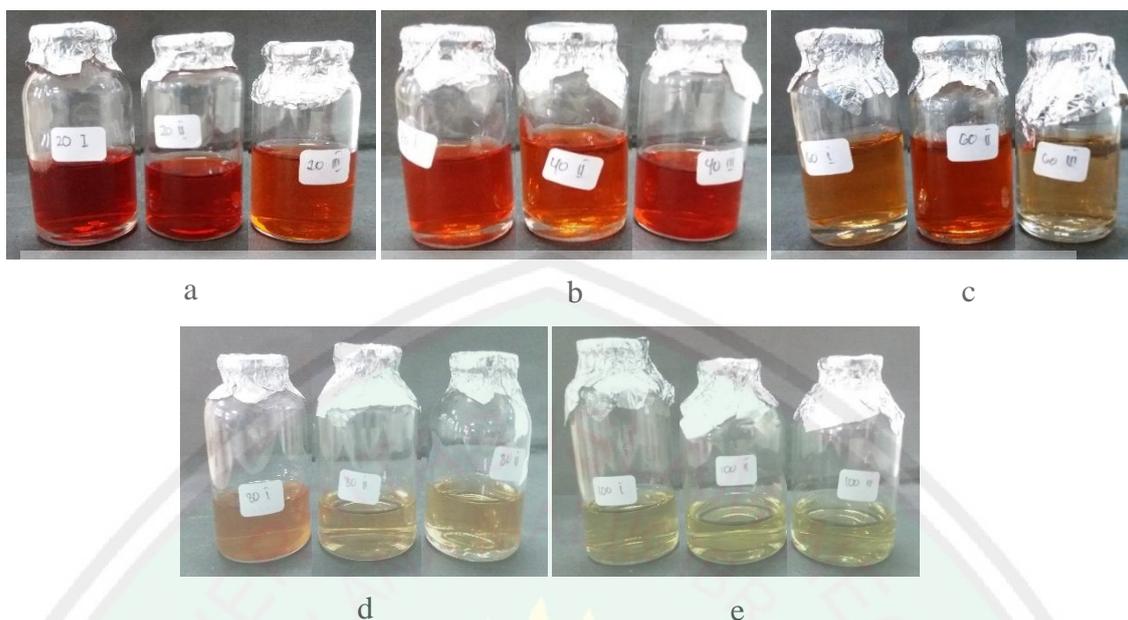
c. Pembuatan Kurva Kalibrasi Standard dan Uji Biosorpsi Sampel



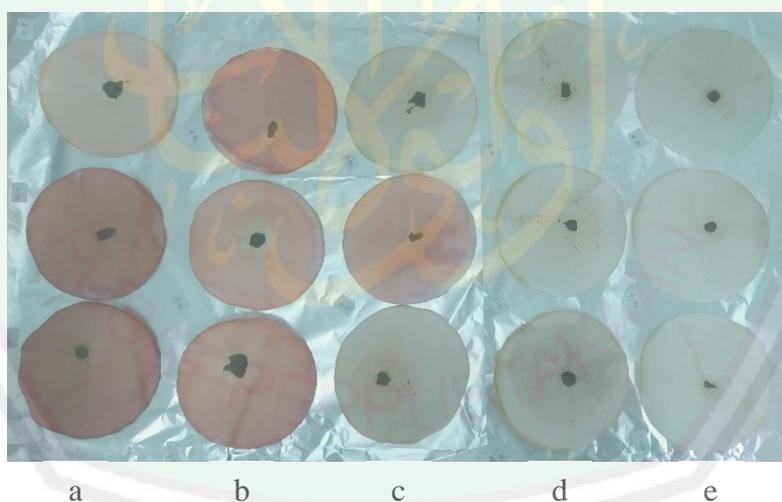
Gambar L.8.7 Perbedaan warna larutan Cu setelah direaksikan dengan diethyl-dithiocarbamate dan ammonium hydroxide pada konsentrasi 0; 1; 2,5; 5; 10; 20; dan 50 mg/L



Gambar L.8.8 Pertumbuhan fungi setelah dishaker hari ke 6 di PDB pada konsentrasi 20 mg/L (a), 40 mg/L (b), 60 mg/L (c), 80 mg/L (d), dan 100 mg/L (e)



Gambar L.8.9 Hasil saringan media (PDB) yang ditumbuhi fungi endofit pada konsentrasi 20 mg/L (a), 40 mg/L (b), 60 mg/L (c), 80 mg/L (d), dan 100 mg/L (e)



Gambar L.8.10 Fungi setelah disaring dan dioven pada suhu 80°C untuk mengetahui berat kering fungi (setelah dilakukan biosorpsi) pada konsentrasi 20 mg/L (a), 40 mg/L (b), 60 mg/L (c), 80 mg/L (d), dan 100 mg/L (e)