

**PENGARUH pH TERHADAP KEMAMPUAN BIOREMEDIASI TIMBAL
OLEH ISOLAT BAKTERI T2P2 RESISTEN TIMBAL DARI KAWASAN
PERTAMBANGAN TULUNGAGUNG**

SKRIPSI

**Oleh:
SOFI SALASI WARGANA
NIM. 17630082**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

**PENGARUH pH TERHADAP KEMAMPUAN BIOREMEDIASI TIMBAL
OLEH ISOLAT BAKTERI T2P2 RESISTEN TIMBAL DARI KAWASAN
PERTAMBANGAN TULUNGAGUNG**

SKRIPSI

**Oleh:
SOFI SALASI WARGANA
NIM. 17630082**

**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)**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

**PENGARUH pH TERHADAP KEMAMPUAN BIOREMEDIASI TIMBAL
OLEH ISOLAT BAKTERI T2P2 RESISTEN TIMBAL DARI KAWASAN
PERTAMBANGAN TULUNGAGUNG**

SKRIPSI

**Oleh:
SOFI SALASI WARGANA
NIM. 17630082**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 7 Desember 2022**

Pembimbing I



**Dr. Anik Maunatin, S.T., M.P
NIDT. 19760105 20180201 2 248**

Pembimbing II



**Susi Nurul Khalifah, M.Si
NIP. 19851020 201903 2 012**

**Mengetahui,
Ketua Program Studi**



**Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010**

**PENGARUH pH TERHADAP KEMAMPUAN BIOREMEDIASI TIMBAL
OLEH ISOLAT BAKTERI T2P2 RESISTEN TIMBAL DARI KAWASAN
PERTAMBANGAN TULUNGAGUNG**

SKRIPSI

**Oleh:
SOFI SALASI WARGANA
NIM. 17630082**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 7 Desember 2022**

**Penguji Utama : Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P
NIP. 19750410 200501 2 009**

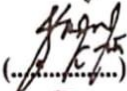
**Ketua Penguji : Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc
NIDT. 19900906 20180201 2 239**

**Sekretaris Penguji : Dr. Anik Maunatin, S.T., M.P
NIDT. 19760105 20180201 2 248**

**Anggota Penguji : Susi Nurul Khalifah, M.Si
NIP. 19851020 201903 2 012**


(.....)


(.....)


(.....)


(.....)

**Mengesahkan
Ketua Program Studi**


**Rachmawati Ningsil, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010**

...

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Sofi Salasi Wargana
NIM : 17630082
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : “Pengaruh pH terhadap Kemampuan Bioremediasi Timbal oleh Isolat Bakteri T2P2 Resisten Timbal dari Kawasan Pertambangan Tulungagung”

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya, kecuali dengan mencantumkan sumber kutipan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia mempertanggungjawabkannya sesuai peraturan yang berlaku

Malang, 23 Desember 2022

Yang membuat pernyataan,



Sofi Salasi Wargana
NIM. 17630082

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, puji dan syukur saya panjatkan atas kehadiran Allah Swt yang telah memberikan segala rahmat dan nikmatNya sehingga saya bisa menyelesaikan skripsi ini. Skripsi ini saya persembahkan kepada kedua orang tua saya Bapak Gatut Wargana dan Ibu Hindiyati Soffah yang telah memberikan do'a-do'a, dukungan, semangat, dan kasih sayang kepada saya. Kepada kedua kakak saya Moh. Zanuvar Fahmi Surya Negara dan Yasinta Aulia Fajrin yang telah memberi dukungan kepada saya. Kepada Chiko dan Garfield yang menghibur saya dan kepada teman-teman yang selalu mendukung saya dalam menyelesaikan kuliah dan mendapatkan gelar S. Si.

MOTTO

"When the pain of an obstacle is too great, challenge yourself to be stronger"

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji dan syukur penyusun panjatkan atas kehadiran Allah Swt yang telah memberikan segala rahmat dan nikmatNya sehingga penyusun dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh pH terhadap Kemampuan Bioremediasi Timbal oleh Isolat Bakteri T2P2 Resisten Timbal dari Kawasan Pertambangan Tulungagung”** dengan semaksimal mungkin. Selawat serta salam selalu tercurah limpahkan kepada Nabi Muhammad saw.

Penyusun menyadari bahwa penulisan skripsi ini tidak akan tersusun dengan baik tanpa adanya bantuan dari pihak-pihak yang terkait. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penyusun mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. M. Zainuddin, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si, selaku Ketua Program Studi Kimia, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Dr. Anik Maunatin, S.T., M.P, Ibu Dewi Yuliani, M.Si, dan Ibu Susi Nurul Khalifah, M.Si selaku dosen pembimbing skripsi yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan.
5. Kedua orang tua saya Bapak Gatut Warga dan Ibu Hindiyati Soffah yang telah memberikan do'a-do'a, dukungan, semangat, dan kasih sayang kepada saya.

6. Kedua kakak saya Moh. Zanuvar Fahmi Surya Negara dan Yasinta Aulia Fajrin yang telah memberi dukungan kepada saya. Kepada Chiko dan Garfield yang menghibur saya
7. Teman-teman kimia yang banyak membantu dalam penyelesaian skripsi.
8. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari banyaknya kekurangan dan keterbatasan dalam penyusunan skripsi ini. Untuk itu penulis dengan lapang hati mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan dalam penyusunan selanjutnya. Semoga skripsi ini dapat memberikan informasi dan kontribusi positif serta bermanfaat bagi kita semua. Aamin.

Malang, 14 November 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
PERNYATAN KEASLIAN TULISAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
مستخلص البحث.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan.....	6
1.4 Batasan Masalah.....	6
1.5 Manfaat.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Logam Berat Timbal (Pb).....	7
2.2 Bioremediasi Timbal Menggunakan Bakteri.....	8
2.3 Pengaruh pH pada Bioremediasi	11
2.4 Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)	13
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	14
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	14
3.2 Alat dan Bahan	14
3.2.1 Alat.....	14
3.2.2 Bahan	14
3.3 Rancangan Penelitian	16
3.4 Tahapan Penelitian	16
3.5 Cara Kerja.....	17
3.5.1 Peremajaan Bakteri	17
3.5.2 Pembuatan Inokulum	17
3.5.3 Pembuatan Kurva Standar Timbal.....	17
3.5.4 Analisis Kadar Timbal Menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom.....	18
3.5.5 Uji Aktivitas Bioremediasi Timbal Terhadap Variasi pH	18
3.5.6 Analisis Data.....	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Pembuatan Media	20

4.2 Regenerasi Bakteri	21
4.3 Pembuatan Inokulum.....	22
4.4 Pembuatan Kurva Standar Timbal	23
4.5 Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Bioremediasi Timbal	24
4.6 Kajian Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam	27
BAB V PENUTUP.....	30
5.1 Kesimpulan.....	30
5.2 Saran.....	30
DAFTAR PUSTAKA	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Pewarnaan Gram isolat T2P2	9
Gambar 2.2 Mekanisme resistensi bakteri terhadap logam berat timbal.....	10
Gambar 4.1 Hasil regenerasi isolat T2P2	21
Gambar 4.2 Inokulum isolat T2P2	22
Gambar 4.3 Pengaruh pH terhadap timbal teremediasi (%).....	23

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Aktivitas remediasi logam berat oleh bakteri.....	9
Tabel 4.1 Signifikansi pengaruh suhu inkubasi terhadap timbal teremediasi.....	25

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan penelitian.....	36
Lampiran 2. Diagram alir	37
Lampiran 3. Perhitungan	39
Lampiran 4. Hasil analisis statistik	47
Lampiran 5. Dokumentasi penelitian	50

ABSTRAK

Wargana, Sofi Salasi. 2022. **Pengaruh pH terhadap Kemampuan Bioremediasi Timbal oleh Isolat Bakteri T2P2 Resisten Timbal dari Kawasan Pertambangan Tulungagung**. Skripsi. Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Anik Maunatin, S.T., M.P; Pembimbing II: Susi Nurul Khalifah, M.Si.

Logam timbal merupakan senyawa yang sangat beracun baik bagi lingkungan maupun bagi manusia. Limbah timbal (Pb) semakin meningkat di lingkungan, oleh karena itu perlu dilakukan pengolahan limbah tersebut salah satunya dengan bioremediasi menggunakan bakteri untuk mengurangi pencemarannya. Isolat bakteri T2P2 yang telah diisolasi dari kawasan pertambangan Tulungagung berpotensi menjadi agen bioremediasi karena memiliki kemampuan resistensi yang tinggi terhadap timbal (Pb). Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pH terhadap kemampuan bioremediasi timbal (Pb) oleh isolat bakteri T2P2 resisten timbal dari kawasan pertambangan Tulungagung. Rancangan penelitian dalam penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) faktor tunggal yaitu pH, dengan variasi pH media 5, 6, 7, 8, dan 9. Analisis yang dilakukan yaitu penentuan kadar Pb menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) pada panjang gelombang 283,3 nm. Berdasarkan uji *One Way* ANOVA menunjukkan pH media mempunyai pengaruh signifikan ($P < 0,05$) terhadap nilai timbal teremediasi. Kemampuan bioremediasi tertinggi oleh isolat bakteri T2P2 diperoleh pada pH 6 sebesar 97,397% dan terendah diperoleh pada pH 9 sebesar 66,933%.

Kata Kunci: Bakteri, Bioremediasi, pH, Timbal

ABSTRACT

Wargana, Sofi Salasi. 2022. **Effect of pH on Lead Bioremediation Ability by Isolat of Lead Resistant T2P2 Bacteria from the Tulungagung Mining Area.** Thesis. Chemistry Study Program, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Malang. Supervisor I: Anik Maunatin, S.T., M.P; Advisor II: Susi Nurul Khalifah, M.Sc.

Lead metal is a very toxic compound both for the environment and for humans. Lead (Pb) waste is increasing in the environment, therefore it is necessary to treat the waste, one of which is bioremediation using bacteria to reduce pollution. The T2P2 bacterial isolate that has been isolated from the Tulungagung mining area has the potential to be a bioremediation agent because it has high resistance to lead (Pb). The purpose of this study was to determine the effect of pH on the bioremediation ability of lead (Pb) by lead-resistant T2P2 bacterial isolates from the Tulungagung mining area. The research design in this study used a single factor randomized block design (RBD), namely pH, with variations in pH media 5, 6, 7, 8, and 9. The analysis carried out was the determination of Pb levels using an Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) at a wavelength of 283.3 nm. Based on the *One Way* ANOVA test, the media pH had a significant effect ($P < 0.05$) on the remediated lead value. The highest bioremediation ability by the bacterial isolate T2P2 was obtained at pH 6 of 97.397% and the lowest was obtained at pH 9 of 66.933%.

Keywords: Bacteria, Bioremediation, pH, Lead

مستخلص البحث

ورغانا، صافي الثالث. ٢٠٢٢. أثر الهيدروجين المحتمل (pH) على استطاعة رصاص المعالجة الحيوائية عن العزلة البكتيرية (T2P2) رصاص الصامد من بيئة التعدين تولونج أنجونج. البحث العلمي. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة ١: أنك معونة الماجستير، المشرفة ٢: سوسي نور الخليفة الماجستير.

المعدن الرصاص هو المستحضر السام شديدا على البيئة أو الناس. تغلب نفاية الرصاص (Pb) أن ترتفع في البيئة. بسبب ذلك، يحتاج ان يفعل رعي تلك النفاية والإحدى برصاص المعالجة الحيوائية الذي يستخدم البكتيرية لإنقاص الوساحة. العزلة البكتيرية (T2P2) التي عازلت من بيئة التعدين تولونج أنجونج تحتل ان تصبح مندوب رصاص المعالجة الحيوائية لأنها تملك استطاعة الصامد العالي لرصاص نفايته (Pb). الهدف من هذا البحث هو لمعرفة أثر الهيدروجين المحتمل (pH) على استطاعة رصاص المعالجة الحيوائية عن العزلة البكتيرية (T2P2) رصاص الصامد من بيئة التعدين تولونج أنجونج. تستخدم خطة البحث بخطة الإعتباطي المجموعة (RBD) العنصر المنفرد هو الهيدروجين المحتمل (pH)، بتنوع الهيدروجين المحتمل (pH) بواسطة ٩،٨،٧،٦،٥. التحليل الذي يفعل هو تقرير المقياس في نفاية الرصاص (Pb) يستخدم مقياس الإمتصاص الذري (AAS) في طول الموج ٣،٢٨٣ ن م. بناء على إختبار (One Way ANOVA) يدل الهيدروجين المحتمل (pH) بواسطة تملك أثر الأهمية ($P<0,05$) على قيمة الرصاص المصلح. استطاعة رصاص المعالجة الحيوائية الأعلى عن العزلة البكتيرية (T2P2) تنال على الهيدروجين المحتمل (pH) ٦ هي ٣٩٧،٩٧٪ والأدنى في الهيدروجين المحتمل (pH) ٩ هو ٩٣٣،٦٦٪.

الكلمات المفتاحيات: البكتيرية، رصاص المعالجة الحيوائية، الهيدروجين المحتمل (pH)، الرصاص.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pencemaran lingkungan terus meningkat pada tingkat yang mengkhawatirkan karena aktivitas manusia antara lain disebabkan oleh aktivitas pertambangan. Wahyuni (2018) menunjukkan adanya pencemaran kandungan logam berat pada daerah bekas pertambangan batubara di pusat kota Sawahlunto mengandung logam berat Cu , Zn, Pb, As, dan Cr secara berturut-turut sebesar 312 ppm, 1612 ppm, 226 ppm, 108 ppm, dan 136 ppm. Huang (2017) menunjukkan adanya pencemaran kandungan logam berat pada daerah bekas pertambangan di China mengandung logam berat Pb dan Zn secara berturut-turut sebesar 802,58 mg/kg dan 689,66 mg/kg. Kurniawan (2019) menunjukkan adanya pencemaran kandungan logam berat pada daerah bekas pertambangan timah di kabupaten Bangka, kandungan logam Pb mencapai 6415 ppm, logam Zn 60375 ppm, dan logam Cu 6375 ppm. Logam berat yang dilepaskan ke lingkungan bersifat toksik atau beracun yang merupakan ancaman berat bagi organisme yang terpapar polutan tingkat tinggi tersebut (Ojuederi *et al.*, 2017). Terkait dengan hal tersebut sudah tercantum pada firman Allah dalam surat Ar-Rum (30) ayat 41:

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

Artinya: “Telah tampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusia; Allah menghendaki agar mereka merasakan sebagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar)” (Q.S Ar-Rum: 41).

Kata *الْفَسَادُ* dalam ayat tersebut berarti “kerusakan”. Menurut Tafsir Al Misbah, al-fasad adalah keluarnya sesuatu dari keseimbangan, baik sedikit maupun banyak. Keseimbangan yang dimaksud dapat merujuk pada keseimbangan lingkungan di sekitar, dimana interaksi antara organisme dan faktor lingkungan serta komponen yang ada di dalamnya dapat berjalan dengan proporsional (Shihab, 2002).

Keseimbangan lingkungan yang tidak proporsional akan menyebabkan adanya kerusakan lingkungan, baik di darat maupun di laut yang diakibatkan oleh perbuatan manusia yang tidak bertanggung jawab. Salah satu kerusakan yang ditimbulkan oleh manusia yaitu perairan yang mulai tercemar oleh logam berat sehingga membahayakan biota, sumber daya, dan ekosistem perairan. Hal tersebut juga berdampak terhadap kesehatan manusia ketika mengonsumsi sumber makanan dari perairan. Upaya yang dilakukan untuk mengurangi pencemaran logam tersebut yaitu menggunakan metode bioremediasi (Audu *et al.*, 2020)

Metode bioremediasi ini merupakan salah satu cara untuk mengatasi pencemaran lingkungan yang mengandung logam berat melebihi batas ambang yang telah ditetapkan oleh pemerintah. Logam berat merupakan kelompok dari mikro-polutan anorganik yang memiliki efek toksik bila tidak diolah dengan baik (Ojuederi *et al.*, 2017). Pencemaran logam berat saat ini menjadi masalah lingkungan yang utama karena ion logam tetap bertahan di lingkungan. Toksisitas dan kecenderungan bioakumulasi logam berat di lingkungan merupakan ancaman serius bagi kesehatan makhluk hidup. Logam berat tidak dapat diuraikan hanya dapat diubah menjadi spesies yang kurang beracun (Ayangbenro *et al.*, 2017).

Logam berat beracun ada berbagai macam salah satunya yaitu timbal (Pb), logam ini mempunyai sifat sitotoksik pada konsentrasi rendah dan dapat menyebabkan kanker pada manusia (Dixit *et al.*, 2015). Timbal (Pb) secara alami terdapat di kerak bumi dan merupakan salah satu logam berat yang banyak dihasilkan dari aktivitas pertambangan (Zakaria *et al.*, 2021). Timbal (Pb) ini bersumber dari berbagai industri antara lain industri peleburan, pembakaran batubara, elektroplating, manufaktur baterai, dan pertambangan (Ayangbenro *et al.*, 2017). Konsentrasi maksimum yang diizinkan dari beberapa logam berat dalam air, sebagaimana dinyatakan oleh Comprehensive Environmental Response Compensation and Liability Act (CERCLA), AS adalah 0,015 mg/L untuk Pb (Chaturvedi *et al.*, 2015). Standar India untuk tanah terhadap logam berat Pb adalah 250-500 mg/kg (Ayangbenro *et al.*, 2017).

Beberapa metode konvensional telah digunakan untuk menghilangkan atau memulihkan logam berat dari lingkungan yang tercemar antara lain adsorpsi, elektro-dialisis, pengendapan, pertukaran ion, dan osmosis balik (Gunatilake, 2015). Secara umum metode konvensional memiliki beberapa kelemahan yaitu mahal, tidak praktis, kurang efektif, menimbulkan limbah beracun, dan tidak spesifik untuk menghilangkan logam berat (Kapahi dan Scadeva, 2019). Hal itu mendorong pemanfaatan mikroorganisme asli untuk menghilangkan kontaminan logam berat beracun dari lingkungan tercemar yang dikenal dengan istilah bioremediasi (Ayangbenro *et al.*, 2017).

Bioremediasi menggunakan mikroorganisme dianggap lebih efisien, efektif, hemat biaya, dan ramah lingkungan dalam memulihkan fungsi tanah dibandingkan dengan metode konvensional (Tyagi dan Kumar, 2021).

Mikroorganisme sangat penting dalam remediasi lingkungan yang terkontaminasi logam berat karena mikroorganisme tersebut berfungsi untuk menyerap, mengendapkan, atau mengubah keadaan oksidasi berbagai logam berat (Gupta *et al.*, 2016). Menurut Ojuederi *et al.* (2017) mikroorganisme mendegradasi dan mengubah polutan melalui reaksi metabolismenya dan memanfaatkannya untuk pertumbuhan.

Bakteri merupakan mikroorganisme yang sering digunakan untuk melakukan remediasi logam berat. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Ihsani (2020) menunjukkan kemampuan resistensi terhadap timbal pada isolat bakteri resisten timbal dengan kode T2P2 sebesar 6 mM. Bakteri tersebut berpotensi sebagai agen bioremediasi timbal karena memiliki kemampuan resistensi dan toleransi terhadap timbal. Menurut Fahrudin *et al.* (2020) bakteri yang diisolasi dari wilayah yang tercemar logam berat mempunyai daya resistensi terhadap logam berat di wilayah yang tercemar tersebut. Teknik yang dilakukan mikroorganisme saat berada di lingkungan tercemar yaitu biosorpsi, bioakumulasi, biotransformasi, dan bio-mineralisasi (Ayangbenro *et al.*, 2017). Nath dan Sharma (2012) mengidentifikasi bahwa bakteri *Bacillus sp.* yang ditemukan memiliki pola resistensi yang tinggi terhadap timbal yaitu sebesar 1200 g/ml. Igiri *et al.* (2018) menunjukkan bahwa bakteri *Brevibacterium iodinium* dan *Bacillus pumilus* dapat meremediasi timbal (Pb) sebesar 87% dan 88% dengan mereduksi 1000 mg/L menjadi 1,8 mg/L dalam 96 jam.

Bioremediasi logam berat timbal oleh bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain suhu, pH media, dan konsentrasi Pb^{2+} . Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Hakim (2021) menunjukkan adanya pengaruh suhu terhadap

kemampuan bioremediasi isolat bakteri T2P2. Konsentrasi timbal teremediasi pada suhu 26°C sebesar 39,81%, pada suhu 30°C sebesar 45,46%, pada suhu 35°C sebesar 59,58%, dan pada suhu 40°C sebesar 59,02%.

Derajat keasaman (pH) mempunyai pengaruh yang besar pada aktivitas mikroba untuk mengatasi limbah logam berat (Ayangbenro *et al.*, 2017) karena naik turunnya pH pada media perlakuan menyebabkan proses biosorpsi logam Pb oleh bakteri juga mengalami naik turun. Bakteri akan menghasilkan enzim yang memiliki aktivitas tertentu khususnya dalam proses biosorpsi. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh pH media, menurut penelitian Ni *et al.* (2011) menjelaskan bahwa aktivitas enzim dalam melakukan bioremediasi akan optimal pada rentang pH 6-8. El-Sersy *et al.* (2010) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa aktivitas enzim oksidase dan reduktase dalam mengubah polutan menjadi produk metabolisme optimal pada pH 6. Philip *et al.* (2018) menjelaskan bahwa pH media sangat mempengaruhi pertumbuhan dari suatu bakteri, sebagian besar bakteri pendegradasi tumbuh optimal pada rentang pH 6,5-7,5. pH media juga mempengaruhi kelarutan dan ketersediaan biologis nutrisi, logam, dan konstituen lainnya, selain itu pH merupakan faktor utama yang mempengaruhi adsorpsi sehingga akan mempengaruhi hasil bioremediasi timbal (Ebrahim *et al.*, 2021).

Menurut penelitian Rakhmawati dan Yulianti (2015) bioremediasi optimal oleh isolat D19 sebesar 73,19% akan terjadi pada pH 7 dan pada isolat D2 bioremediasi optimal terjadi pada pH 6 sebesar 72,14%. Menurut penelitian Sahoo dan Goli (2020) efisiensi bioremediasi oleh *Bacillus sp.* mengalami peningkatan dari 96,8% pada pH 7 hingga >99% pada pH 6 dan 8. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa pH yang optimal mempengaruhi proses

bioremediasi timbal oleh bakteri. Berdasarkan uraian diatas variasi pH yang tepat akan mengoptimalkan kemampuan isolat bakteri untuk melakukan bioremediasi timbal. Penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi dalam rangkaian riset mengenai kemampuan isolat bakteri T2P2 dalam melakukan bioremediasi timbal dengan variasi pH.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh pH terhadap kemampuan bioremediasi timbal oleh isolat bakteri T2P2 resisten timbal dari kawasan pertambangan Tulungagung?

1.3 Tujuan

Untuk mengetahui pengaruh pH terhadap kemampuan bioremediasi timbal oleh isolat bakteri T2P2 resisten timbal dari kawasan pertambangan Tulungagung.

1.4 Batasan Masalah

1. Isolat bakteri T2P2 yang digunakan diperoleh dari kawasan pertambangan Tulungagung.
2. pH media yang digunakan yaitu pH 5, 6, 7, 8, dan 9.
3. Analisis logam Pb yang digunakan yaitu Spektrofotometer Serapan Atom (SSA).

1.5 Manfaat

1. Memberikan informasi mengenai pengaruh pH terhadap kemampuan bioremediasi timbal oleh isolat bakteri T2P2 resisten timbal dari kawasan pertambangan Tulungagung.
2. Memberikan informasi mengenai cara yang ramah lingkungan untuk penanganan pencemaran timbal (Pb).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Logam Berat Timbal (Pb)

Timbal (Pb) merupakan logam berat yang sangat berbahaya dengan warna abu-abu kebiruan. Nomor atom dari timbal adalah 82 dengan berat molekul 207,2 dan titik leleh 328 °C. Timbal mempunyai 2 bentuk yaitu timbal organik dan timbal anorganik yang setiap bentuknya bersifat toksik. Menurut Kumar *et al.* (2020), timbal merupakan logam paling beracun kedua setelah Arsenik (As). Timbal mudah berikatan dengan materi organik bila terdapat di perairan, sehingga menyebabkan logam berat ini terdeposisi dan terakumulasi di sedimen (Fahrudin dan Asadi, 2015). Akibatnya, kadar logam berat yang terdapat di dalam sedimen lebih tinggi jika dibandingkan dengan yang ada di dalam kolom air (Fahrudin dkk., 2020).

Terdapat berbagai macam industri yang menggunakan timbal antara lain pertambangan, peleburan, manufaktur baterai, limbah elektronik, dan industri cat menurut (Verma dan Kuila, 2019). Pencemaran timbal (Pb) merupakan pencemaran yang sulit ditangani hal ini karena timbal tidak dapat terdegradasi secara alami. Pada manusia timbal dapat menyebabkan berbagai penyakit antara lain penyakit kanker, kerusakan neuron, penurunan kesuburan, kerusakan sistem ginjal, dan faktor risiko penyakit alzheimer (Sharma dkk., 2018). Pada tanaman timbal dapat menghambat perkecambahan biji dan pada mikroorganisme timbal dapat mendenaturasi asam nukleat dan protein (Ayangbenro *et al.*, 2017).

2.2 Bioremediasi Timbal Menggunakan Bakteri

Bioremediasi merupakan proses pemanfaatan mikroorganisme untuk menghilangkan komponen berbahaya dari limbah lingkungan menjadi bentuk yang tidak berbahaya (Azubuike *et al.*, 2016). Metode ini merupakan alternatif yang bagus untuk teknik fisik dan kimia dengan adanya penggunaan mikroorganisme yang berperan penting dalam remediasi logam berat (Dixit *et al.*, 2015). Mikroorganisme yang dapat digunakan salah satunya adalah bakteri karena bakteri mudah dikembangbiakkan, mudah didapatkan, dan dapat mendegradasi beberapa jenis logam sekaligus (Ojuederi *et al.*, 2017). Bakteri ditemukan dalam berbagai bentuk, termasuk batang (Basil), kokus (Streptokokus), berserabut (Actinomyces), dan spiral (Vibrio kolera) (Kapahi dan Sachdeva, 2019). Seperti yang telah dijelaskan dalam Q.S Al-Baqarah ayat 26 yang berbunyi:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ

Artinya: "Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang kafir mengatakan: "Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?". Dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik". (QS. al-Baqarah: 26)

Menurut Tafsir Fathul Qadir dalam kitab Zubdatut Tafsir, lafadz *famaa fauqoha* memiliki arti "atau yang lebih rendah dari itu" maksud dari yang lebih rendah yaitu dalam hal ini adalah fisiknya yang berarti hewan yang mempunyai ukuran yang lebih kecil daripada nyamuk yang dapat diartikan sebagai mikroorganisme seperti bakteri. Bakteri dapat dibedakan menjadi Gram positif

berwarna biru dan Gram negatif berwarna merah. Isolat T2P2 ini merupakan bakteri Gram negatif berwarna merah seperti yang ditunjukkan Gambar 2.1

Gambar 2.1 Pewarnaan Gram isolat bakteri T2P2

Bakteri memiliki toleransi yang besar terhadap berat logam melalui kemampuan mereka untuk menyerap, bioakumulasi, dan mengubah logam (Saraswat *et al.*, 2020). Spesies bakteri telah beradaptasi dan mengembangkan mekanisme untuk ketahanan ion logam dan perbaikan untuk kelangsungan hidup mereka. Bioremediasi logam berat oleh bakteri telah banyak diteliti seperti yang disajikan dalam Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Aktivitas remediasi logam berat oleh bakteri

Bakteri yang sering digunakan dalam proses bioremediasi adalah bakteri indigen, di mana bakteri indigen mampu tumbuh dalam media tercemar logam berat dan mempunyai kemampuan mengakumulasi logam berat dalam dinding selnya (Maulana dkk., 2017). Mekanisme resistensi bakteri terhadap logam berat timbal ditunjukkan pada Gambar 2.2

Gambar 2.2 Mekanisme resistensi bakteri terhadap logam berat timbal (Jarosławiecka dan Piotrowska, 2014)

Menurut Jarosławiecka dan Piotrowska (2014) mekanisme perlindungan sel yang dipilih terhadap toksisitas timbal Pb(II) dapat dijauhkan dari mikroorganisme melalui pengendapan Pb(II) di luar sel, adsorpsi Pb(II) pada ekstraseluler yang terjadi secara alami di dinding sel. Setelah memasuki sel melalui pengangkut logam esensial, Pb(II) dapat diinaktivasi lebih lanjut dengan

mengikat metalotionin (MT). Metalotionin (MT) merupakan protein pengikat logam Pb (II).

Berbagai mekanisme yang digunakan oleh mikroba untuk bertahan dari toksisitas logam adalah biotransformasi, ekstrusi, penggunaan enzim, produksi eksopolisakarida (EPS), dan sintesis metalotionin (Igiri *et al.*, 2018). Sistem ekstrusi adalah proses di mana logam didorong keluar melalui sel menggunakan mekanisme seperti peristiwa yang diperantarai kromosom atau plasmid. Biotransformasi adalah proses di mana mikroorganisme mengubah logam beracun menjadi bentuk tidak beracun. Mikroba menghasilkan enzim seperti oksidase dan reduktase yang digunakan untuk mengubah polutan menjadi produk metabolisme (Igiri *et al.*, 2018). Mikroorganisme beradaptasi dengan lingkungan yang terkontaminasi dengan mensekresi atau memproduksi eksopolisakarida (EPS) yang berkembang sebagai membran sel hidrofobik luar (Sharma dkk., 2018). EPS ini memiliki kemampuan penyerapan ion dan melindungi bakteri terhadap tekanan lingkungan seperti toksisitas logam berat, kekeringan, salinitas, dll (Ojuederi *et al.*, 2017). Mekanisme yang terakhir yaitu mensintesis metalotionin (MT) ini adalah protein pengikat logam yang membentuk kompleks logam (Sharma dkk., 2018). Mekanisme tersebut melibatkan beberapa prosedur, bersama-sama dengan interaksi elektrostatik, pertukaran ion, pengendapan, proses redoks, dan kompleksasi permukaan (Igiri *et al.*, 2018).

Penyerapan logam berat oleh mikroorganisme terjadi baik secara bioakumulasi yang merupakan proses aktif atau melalui biosorpsi yang merupakan proses pasif (Sharma dkk., 2018). Struktur seluler suatu mikroorganisme dapat menjebak ion logam berat dan selanjutnya menyerapnya ke

tempat pengikatan dinding sel proses ini disebut biosorpsi atau proses pasif karena tidak tergantung pada siklus metabolisme (Ayangbenro *et al.*, 2017). Sedangkan bioakumulasi atau proses aktif adalah proses di mana ion logam berat melewati membran sel ke dalam sitoplasma melalui siklus metabolisme sel (Ojuederi *et al.*, 2017).

Berbagai faktor yang mempengaruhi remediasi mikroba logam antara lain konsentrasi polutan, akseptor elektron, kadar air, nutrisi, pH, suhu, dan nutrisi yang tersedia (Ayangbenro *et al.*, 2017). Bioremediasi juga mempunyai kelebihan dan kelemahan. Kelebihan dari bioremediasi yaitu dapat diterapkan pada lokasi yang terkontaminasi, hemat biaya 50-65% (Habila *et al.*, 2020), ramah lingkungan, dapat menghilangkan kontaminan secara permanen, dapat dioperasikan dalam skala besar, dan dapat digabungkan dengan teknik fisik dan kimia pengolahan limbah (Tyagi dan Kumar, 2021). Sedangkan kelemahan dari proses bioremediasi antara lain terdapat beberapa senyawa yang tidak dapat didegradasi menggunakan proses mikroba dan memerlukan waktu yang lama (Sardrood *et al.*, 2015).

2.3 Pengaruh pH pada Bioremediasi

Derajat keasaman (pH) mempunyai pengaruh yang besar pada aktivitas mikroba untuk mengatasi limbah logam berat (Ayangbenro *et al.*, 2017). Naik turunnya pH pada media perlakuan menyebabkan proses biosorpsi logam Pb oleh bakteri juga mengalami naik turun. Maulana dkk. (2017) menyebutkan, pada pH basa ion logam secara spontan akan bereaksi dengan ion hidroksida membentuk ikatan logam-hidroksida, sedangkan pada pH asam akan terjadi persaingan antara ion logam dengan ion H^+ untuk berikatan dengan dinding sel mikroba. Pada

konsentrasi ion hidrogen yang lebih tinggi, permukaan adsorben lebih bermuatan positif, sehingga mengurangi daya tarik antara adsorben dan kation logam hal itu mengakibatkan meningkatnya toksisitas logam. Pada pH netral akumulasi logam dalam sel mikroba lebih besar dibandingkan dengan pH asam maupun basa (Tarekegn *et al.*, 2020). pH yang terlalu asam atau terlalu basa dapat menyebabkan bakteri mati, karena bakteri tumbuh dalam kondisi pH mendekati netral (Obahiagbon *et al.*, 2014).

Menurut penelitian Sahoo dan Goli (2020) Efisiensi bioremediasi timbal (Pb) oleh *Bacillus sp.* Mengalami peningkatan dari 96,8% pada pH 7 hingga >99% pada pH 6 dan 8. Penyerapan ion logam sangat bervariasi dari pada pH 7 yaitu 296,18 ppm, pada pH 6 yaitu 412,15 ppm, dan pada pH 8 yaitu 462,55 ppm. Pada penelitian Obahiagbon *et al.* (2014) menunjukkan bahwa bioremediasi timbal (Pb) dengan menggunakan mikroba optimal terjadi pada sampel dengan pH 6. Pada pH 10 akan terjadi kematian mikroba dan pada pH 3 aktivitas mikroba akan terhambat. Menurut penelitian Rakhmawati dan Yulianti (2015) bioremediasi timbal (Pb) optimal oleh isolat D19 sebesar 73,19% akan terjadi pada pH 7 dan pada isolat D2 bioremediasi timbal (Pb) optimal terjadi pada pH 6 sebesar 72,14%. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa pH optimal untuk aktivitas bioremediasi timbal adalah pH 6 dan 7 seperti pada *Aureobasidium pullulans* pada pH 6-7 (Sahoo dan Goli, 2020) dan pada *Pseudomonas putida* pH 6-6,5 (Tarekegn *et al.*, 2020).

2.4 Spektroskopi Serapan Atom (SSA)

Spektroskopi Serapan Atom (SSA) atau Atomic Absorption Spectroscopy (AAS) merupakan suatu teknik analisa yang digunakan untuk menentukan kadar

logam berdasarkan pada absorpsi radiasi oleh atom-atom bebas (Dwantari and Wiyantoko, 2019). Alat ini mampu menganalisa kadar logam secara selektif dan kadar logam paling kecil. Spektroskopi Serapan Atom (SSA) ini mempunyai keakuratan yang tinggi, dikarenakan terdapat lampu deuterium yang membantu proses penyerapan cahaya sehingga kesalahannya sedikit (Hasni and Ulfa, 2016). Penggunaan sumber cahaya khusus yang dihasilkan oleh lampu deuterium dipancarkan dari atom tereksitasi dari elemen yang sama dan pemilihan spektrum tertentu memungkinkan penentuan kuantitatif komponen individu dari campuran multielemen (Karpiuk dkk., 2016).

Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) ini mempunyai prinsip yaitu dengan mengubah sampel dalam bentuk larutan menjadi bentuk aerosol sehingga nyala akan mengandung unsur - unsur yang dianalisis dan akan menjadi atom-atom pada keadaan dasarnya. Kemudian dilewatkan sinar dari lampu katoda sesuai dengan panjang gelombang unsur yang diuji pada atom tersebut, sehingga elektron pada kulit terluar akan mengalami eksitasi dan atom yang ada pada keadaan dasar akan menyerap sinar yang diberikan. Sinar yang diteruskan atau tidak diserap oleh atom ini akan diteruskan ke detektor sehingga akan didapatkan sinyal terukur (Bakhtra dkk., 2015). Timbal menyerap pada panjang gelombang 283,3 nm (Dwantari dan Wiyantoko, 2019). Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) ini memiliki kelebihan dan kekurangan, kelebihan antara lain dapat menganalisis secara cepat, tidak perlu memisahkan unsur, dan dapat menentukan konsentrasi semua unsur. Kelemahan dari Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) ini adalah terdapat gangguan-gangguan yang menyebabkan adanya perbedaan antar konsentrasi sampel dan konsentrasi hasil dan Spektrofotometer Serapan

Atom (SSA) ini kurang sensitif terhadap pengukuran sampel bukan logam (Manuhutu, 2020).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni – November 2022 di laboratorium biokimia Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan untuk peremajaan bakteri dan pembuatan inokulum bakteri membutuhkan jarum ose, bunsen, cawan petri steril, botol kaca steril, seperangkat alat gelas, dan inkubator. Uji aktivitas bioremediasi logam timbal membutuhkan seperangkat alat gelas, mikropipet, blue tip steril, bunsen, inkubator, dan tabung sentrifugasi steril. Analisis kadar timbal memerlukan seperangkat alat gelas, penangas, dan instrumen Spektrofotometer Serapan Atom (SSA).

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam peremajaan isolat bakteri adalah stok isolat bakteri T2P2, media *Nutrient Agar* (NA), dan media *Nutrient Broth* (NB). Uji aktivitas bioremediasi timbal menggunakan inokulum bakteri, media NB, larutan induk timbal 1.000 ppm, akuades, HCl 1 N dan NaOH 1 N. Analisis kadar timbal menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom menggunakan larutan standar konsentrasi 10-40 ppm, larutan HNO₃ 0,5 M dan larutan HNO₃ pekat.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pH terhadap kemampuan bioremediasi timbal oleh isolat bakteri T2P2 resisten timbal dari kawasan pertambangan Tulungagung. Stok isolat bakteri dari penelitian sebelumnya diremajakan dengan media NA dan diinkubasi. Kultur bakteri yang telah diremajakan akan dibuat inokulum dengan media NB. Rancangan penelitian dalam penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) faktor tunggal yaitu pH, dengan variasi pH media 5, 6, 7, 8, dan 9. Analisis yang dilakukan yaitu penentuan kadar Pb menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) pada panjang gelombang 283,3 nm. Sebelum dianalisis, sampel akan didestruksi menggunakan HNO₃ pekat. Analisis konsentrasi timbal pada sampel menggunakan metode kurva larutan standar. Konsentrasi timbal dari perlakuan pH media akan diuji *One way* ANOVA untuk mengetahui pengaruh pH terhadap kemampuan bioremediasi timbal oleh isolat bakteri T2P2.

3.4 Tahapan Penelitian

1. Peremajaan Isolat Bakteri.
2. Pembuatan Inokulum
3. Pembuatan Kurva Standar Timbal
4. Uji Aktivitas Bakteri Terhadap Bioremediasi Timbal Dengan Variasi pH.
5. Analisis Kadar Timbal Menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA).
6. Analisis Data.

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Peremajaan Bakteri

Peremajaan isolat bakteri dilakukan secara aseptis dengan cara menambahkan dua ose isolat bakteri yang telah ada ke *Nutrient Agar* (NA) miring. Selanjutnya, isolat bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C (Seraswat *et al.*, 2020).

3.5.2 Pembuatan Inokulum

Pembuatan inokulum bakteri dilakukan secara aseptis dengan cara mengambil 2 tabung reaksi bakteri yang telah diremajakan menggunakan jarum ose dan diinokulasikan dalam media *Nutrient Broth* (NB) sebanyak 60 mL. Bakteri yang telah di inokulum kemudian Selanjutnya dilakukan inkubasi shaker pada suhu ruang dengan kecepatan 100 rpm selama 24 jam. Setelah waktu inkubasi habis dilakukan penyetaraan *optical density* (OD) 0.6 menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 600 nm (Igiri *et al.*, 2018).

3.5.3 Pembuatan Kurva Standar Timbal

Larutan induk timbal 100 ppm dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL masing-masing sebanyak 1, 2, 3, dan 4 mL untuk mendapatkan konsentrasi larutan kurva standar timbal secara berturut-turut 10, 20, 30, dan 40 ppm. Kemudian ditandabatkan larutan tersebut menggunakan HNO₃ 0,5 M dan dihomogenkan di dalam lemari asam. Dimasukkan larutan tersebut kedalam masing-masing tabung reaksi dan diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) dengan panjang gelombang 283,3 nm (Kusuma *et al.*, 2019).

3.5.4 Analisis Kadar Timbal Menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom

Diambil sebanyak 5 mL supernatant lalu ditambahkan HNO₃ pekat sebanyak 5 mL. Selanjutnya, larutan dipanaskan dengan suhu 100 °C hingga volume berkurang setengah (Marzan *et al.*, 2017). Sampel yang telah dipreparasi kemudian diambil 1 mL dan dimasukkan ke dalam botol vial. Selanjutnya, sampel diencerkan dengan penambahan 4 mL HNO₃ 0,5 M dan dihomogenkan menggunakan *vortex mixer*. Kurva standar dibuat dengan konsentrasi larutan standar timbal 10, 20, 30, dan 40 ppm. Absorbansi larutan standar dan sampel dianalisis dengan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) pada panjang gelombang 283,3 nm (Kusuma dkk., 2019).

3.5.5 Uji Aktivitas Bioremediasi Timbal Terhadap Variasi pH

Uji aktivitas bioremediasi dilakukan dengan diambil inokulum bakteri sebanyak 10 mL dan dimasukkan pada media NB 100 mL yang mengandung logam Pb 100 ppm. Pengulangan dilakukan sebanyak 3 kali, kontrol berupa media NB ditambahkan logam Pb 100 ppm tanpa penambahan kultur bakteri. Variasi perlakuan sampel dilakukan dengan kondisi pH 5, 6, 7, 8, dan 9 dengan inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Perlakuan pH tersebut diatur dengan menggunakan penambahan 1 N HCl atau 1 N NaOH. Setelah mencapai batas waktu inkubasi, sampel akan disentrifugasi dengan kecepatan 5.000 rpm selama 15 menit. Supernatan dipisahkan dari pelet untuk analisis residu timbal menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (Oziegbe *et al.*, 2021). Konsentrasi timbal teremediasi dapat diketahui melalui persamaan 3.1.

Konsentrasi Timbal Teremediasi

$$C_f = \frac{C_i - C_r}{C_i} \times 100 \% \dots\dots\dots(3.1)$$

Di mana C_f : Konsentrasi timbal teremediasi, C_i : Konsentrasi awal timbal,
dan C_r : Konsentrasi Residu timbal.

3.5.6 Analisis Data

Data konsentrasi timbal teremediasi yang diperoleh kemudian dianalisis dengan ragam varian *One Way* ANOVA menggunakan *software* SPSS 25. Apabila pH memiliki pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap konsentrasi timbal teremediasi, maka dilanjutkan dengan uji Tukey.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

pH media mempunyai pengaruh terhadap kemampuan bioremediasi timbal oleh isolat bakteri T2P2 resisten timbal dari kawasan pertambangan Tulungagung. Kemampuan bioremediasi tertinggi oleh isolat bakteri T2P2 diperoleh pada pH 6 sebesar 97,397% dan terendah diperoleh pada pH 9 sebesar 66,933%.

5.2 Saran

1. Mengidentifikasi fenotip dan genotip isolat T2P2 agar diketahui jenis bakterinya dan lebih memudahkan bagi peneliti selanjutnya.
2. Penelitian lebih lanjut dapat mengenai bioremediasi timbal isolat T2P2 menggunakan variasi konsentrasi timbal.
3. Penelitian lebih lanjut disarankan menggunakan konsentrasi awal timbal yang sesuai dengan konsentrasi timbal di lingkungan yang tercemar.

DAFTAR PUSTAKA

- Ameen F. A., Hamdan A. M., and El-Nanggar M. Y. (2020). Assessment of The Heavy Metal Bioremediation Efficiency of The Novel Marine Lactic Acid Bacterium, *Lactobacillus plantarum* MF042018. *Scientific Report*. Vol. 10. <http://doi.org/10.1038/s41598-019-57210-3>.
- Angraeni, S. D. (2017). Kemampuan Bioakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) Berdasarkan Waktu Paparannya Oleh Bakteri Endapan Sedimen Perairan Sekitar Rumah Susun Kota Makassar. *Skripsi*.
- Audu, K. E., Adeniji, S. E., and Obidah, J. S. (2020). Bioremediation of Toxic Metals in Mining Site of Zamfara Metropolis Using Resident Bacteria (*Pantoea Agglomerans*): A Optimization Approach. *Heliyon*, 6 <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04704>.
- Ayangbenro, A. S. dan Babalola, O. O. (2017). A New Strategy for Heavy Metal Polluted Environments: A Review of Microbial Biosorbents. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. Doi:10.3390/ijerph14010094.
- Azubuiké, C. C., Chikere, C. B., and Okpokwasili, G. C. (2016). Bioremediation Techniques Classification Based on Site of Application: Principles, Advantages, Limitations and Prospects. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 32 (11), 180.
- Bakhtara, D. D. A., Zulharmita, and Pramudita, V. (2015). Penetapan Kadar Zink pada Sediaan Farmasi dengan Metode Kompleksometri dan Spektrofotometri Serapan Atom. *Jurnal Farmasi Higea*. Vol. 7, No. 2.
- Bolan, S., Seshadri, B., Keely, S., Kunhikrishnan, A., Bruce, J., Grainge, I., Talley, N. J., and Naidu, R. (2022). Bioavailability of arsenic, cadmium, lead and mercury as measured by intestinal permeability. *Scientific Reports*. 11:14675. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94174-9>.
- Chaturvedi, A. D., Pal, D., Penta, S., and Kumar, A. (2015). Ecotoxic Heavy Metals Transformation by Bacteria and Fungi in Aquatic Ecosystem. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 31, 1595–1603.
- Dawaiyah, A. (2020). Identifikasi dan Uji Resistensi Logam Berat Timbal (Pb) pada Bakteri yang Diisolasi dari Perairan Paciran Lamongan. *Skripsi*.
- Dixit, R., Malaviya, D., Pandiyan, K., Singh, U.B., Sahu, A., Shukla, R., Singh, B.P., Rai, J.P., Sharma, P.K., dan Lade, H. (2015). Bioremediation of Heavy Metals from Soil and Aquatic Environment: An Overview of Principles and Criteria of Fundamental Processes. *Sustainability*, 7, 2189–2212.
- Dwantari, I. P. S., and Wiyantoko, B. (2019). Analisa Kesadahan Total, Logam Timbal (Pb), dan Kadmium (Cd) dalam Air Sumur Dengan Metode Titrasi

Kompleksometri dan Spektrofotometri Serapan Atom. *Ind. J. Chem. Anal.* Vol. 02, No 01. ISSN 2622-7401, e ISSN 2622-7126.

- Ebrahim, M. A., Kebede, G., Tafese, T., Kamaraj, M., and Assefa F. (2021). Factors Influencing the Bacterial Bioremediation of Hydrocarbon Contaminants in the Soil: Mechanisms and Impacts. *Journal of Chemistry*. Article ID 9823362, 17. <https://doi.org/10.1155/2021/9823362>
- El-Sersy, N. A., Abd-Elnaby, H., Abd-Elnaby, G. M., Ibrahim, dan Ibrahim, N. M. K. (2010). *African Journal of Biotechnology*. Vol. 9(38), pp. 6355-6364. ISSN 1684-5315.
- Fahrudin and Asadi, A. (2015). Use of Organic Materials Wetland for Improving The Capacity of Sulfate Reduction Bacteria (SRB) in Reducing Sulfate in Acid Mine Water (AMW). *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences*. 17 (21), pp. 321-324.
- Fahrudin, F., Santosa, S., dan Sareda. (2020). Toleransi Logam Berat Timbal (Pb) pada Bakteri Indigenous dari Air Laut Pelabuhan Paotere, Makassar. *Aquatic Science & Managemen*. Vol. 8, No. 1. e-ISSN 2337-5000.
- Ghosh, A., Dastidar, M. G., and Sreekrishnan T. R. (2015). Recent Advances in Bioremediation of Heavy Metals and Metal Complex Dyes: Review. *Journal of Environmental Engineering*, 142(9), C4015003. doi:10.1061/(asce)ee.1943-7870.0000965.
- Gunatilake, S. K. (2015). Methods of Removing Heavy Metals from Industrial Wastewater. *J Multidiscip Eng Sci Stud*. 1(1):12-8.
- Gupta, A., Joia, J., Sood, A., Sood, R., Sidhu, C., and Kaur, G. (2016). Microbes as Potential Tool for Remediation of Heavy Metals: A Review. *J. Microb. Biochem. Technol*. 8, 364-372.
- Habila M. A., Al-Masoud N., Alomar T. S., Al-Othman z. A., Yilmaz E., and Soylak M. (2020). Deep Eutectic Solvent-Based Microextraction of Lead (II) Traces from Water and Aqueous Extracts before FAAS Measurements. *Molecules*. Doi: 10.3390/molecules 25204794.
- Hakim, Rasyid Noor. (2021). Pengaruh Suhu Inkubasi terhadap Kemampuan Bioremediasi Timbal oleh Isolat Bakteri T2P2 Asal Kawasan Pertambangan di Tulungagung. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Hasni, N. A. M., and Ulfa, A. M. (2016). Penetapan Kadar Logam Besi (Fe) pada Air Sumur Galian Warga Sekitar Industri “X” Kecamatan Panjang dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom. *Jurnal Analis Farmasi*. Volume 1, No. 3, Hal 163 - 168.
- Heidari, P., & Panico, A. (2020). Sorption Mechanism and Optimization Study for the Bioremediation of Pb (II) and Cd (II) Contamination by Two Novel Isolated Strains Q3 and Q5 of *Bacillus sp*. *International Journal of*

Environmental Research and Public Health, 17(4059), 1–20.
<https://doi.org/10.3390/ijerph17114059>.

- Huang, S., Yuan, C., LI, Q., Yang, Y., Tang, C., Ouyang, K., and Wang, B. (2017). Distribution and Risk Assessment of Heavy Metals in Soils from a Typical Pb-Zn Mining Area. *Pol. J. Environ. Stud.* Vol. 26, No. 3. Doi: 10.15244/pjoes/68424
- Igiri, B. E., Okoduwa, S. I. R., Idoko, G. O., Akabuogu, E. P., Adeyi, A. O., dan Ejiogu, I. K. (2018). Toxicity and Bioremediation of Heavy Metals Contaminated Ecosystem from Tannery Wastewater: A Review. *Hindawi Journal of Toxicology*. <https://doi.org/10.1155/2018/2568038>.
- Ihsani, S. H. (2020). Isolasi dan Analisis Ketahanan Bakteri di Daerah Bekas Tambang Telaga Tiga Warna Tulungagung terhadap Logam Berat Timbal (Pb). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Irawati, W., Riak, S., Sopiah, N., and Sulistia, S. (2017). Heavy Metal Tolerance in Indigenous Bacteria Isolated from The Industrial Sewage in Kemisan River, Tangerang, Banten, Indonesia. *Biodiversitas*, 18(4), 1481–1486. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d180426>
- Jarosławiecka, A. and Piotrowska Seget, Z. 2014. Lead Resistance in Microorganisms. *Microbiology*. 160: 12–25. Doi 10.1099/mic.0.070284-0.
- Jin, Y., Luan, Y., Ning, Y., dan Wang, L. (2018). Effects and Mechanisms of Microbial Remediation of Heavy Metals in Soil: A Critical Review. *Applied Science*, 8(1336), 1–17.
- Jufri, R. F. (2020). Microbial Isolation. *Journal La Lifesci*. VOL. 01, ISSUE 01 (018-023).
- Kanjee, U., dan Houry, Walid A. 2013. Mechanism of Acid Resistance in *Escherichia coli*. Review in Advance. *The Annual Review of Microbiology*. 67:65–81. Doi: 10.1146/annurev-micro-092412-155708
- Kapahi, M., dan Sachdeva, S. (2019). Bioremediation Options for Heavy Metal Pollution. *Journal of Health & Pollution* Vol. 9, No. 24.
- Karpiuk, U. V., Al Azzam, K. M., Abudayeh, Z. H. M., Kislichenko, V., Nadhafi, A., Cholok A., and Yamelianova, O. (2016). Penentuan Isi Kualitatif dan Kuantitatif Unsur Makro-Minor dalam *Bryonia Alba L.* Akar menggunakan Teknik Spektroskopi Serapan Atom Api. *Adv Pharm Banteng*. 6(2), 285-291. Doi: 10.15171/apb.2016.040.
- Kumar, A., Pinto M. M. S., Cabral, Chaturvedi, A. K., Shabnam, A. A., Subrahmanyam, G., Mondal, Gupa, D. K., Malyan, S. K., Kumar, S. S., Khan, H. A., and Yadav, K. K. (2020). Lead Toxicity: Health Hazards, Influence on Food Chain, and Sustainable Remediation Approaches. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 17, 2179. Doi:10.3390/ijerph17072179.

- Kurniawan, E., Jekti, D. S. D., & Zulkifli, L. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Batang Bidara Laut (*Strychnos ligustrina*) Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Biologi Tropis*, 19(1), 61–69. <https://doi.org/10.29303/jbt.v19i1.1040>
- Kusuma, A. T., Effendi, N., Abidin, Z., & Awaliah, S. S. (2019). Analisis Kandungan Logam Berat Timbal (Pb) Dan Raksa (Hg) pada Cat Rambut Yang Beredar Di Kota Makassar Dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom (SSA). *Celebes Environmental Science*, 1(April), 6–12.
- Manuhutu, O. (2019). Penetapan Kadar Lidokain HCl dalam Sediaan Injeksi Secara Spektrofotometri Serapan Atom Tidak Langsung. *Skripsi*.
- Marzan, L. W., Hossain, M., Mina, S. A., Akter, Y., and Chowdhury, A. M. M. A. (2017). Isolation and Biochemical Characterization of Heavy-Metal Resistant Bacteria from Tannery Effluent in Chittagong City, Bangladesh Bioremediation Viewpoint. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 43(1), 65–74. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2016.11.002>
- Maulana, A., Supartono, dan Mursiti, s. (2017). Bioremediasi Logam Pb pada Limbah Tekstil dengan *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 6 (3). p-ISSN 2252-6951, e-ISSN 2502-6844.
- Ni, Yan & li, Chunxiu & Ma, Hongmin & Zhang, Jie & Xu, Jian-He. (2010). Biocatalytic properties of a recombinant aldo-keto reductase with broad substrate spectrum and excellent stereoselectivity. *Applied microbiology and biotechnology*. 89. 1111-8. [10.1007/s00253-010-2941-4](https://doi.org/10.1007/s00253-010-2941-4).
- Nurhayati, A., Ummah, Z. I., and Shobron, S. (2018). Kerusakan Lingkungan dalam Al-Qur'an. *Suhuf*, 30(2), pp. 194–220.
- Obahiagbon, K. O., Amenaghawon, A. N., and Agbonghae, E. O. (2014). Effect of Initial pH on the Bioremediation of Crude Oil Polluted Water Using a Consortium of Microbes. *The Pacific Journal of Science and Technology*. Volume 15. Number 1.
- Ohta, H. & Hattori, T. (1980). Bacteria Sensitive to Nutrient Broth Medium in Terrestrial Environment. *Soil Science and Plant Nutrition*, 26(1), 99-107.
- Ojuederie, Omena, B., dan Babalola, O. O. (2017). Microbial and Plant-Assisted Bioremediation of Heavy Metal Polluted Environments: A Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 14, 1504. [Doi:10.3390/ijerph14121504](https://doi.org/10.3390/ijerph14121504).
- Oziegbe, O., Oluduro, A. O., Ahuekwe, E. F., dan Olorunsola, S. J. (2021). Assessment Of Heavy Metal Bioremediation Potential of Bacterial Isolate from Landfill Soils. *Saudi Journal of Biological Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.03.072>.

- Philip, P., Kern, D., Goldmanns, J., Seiler, F., Schulte, A., Habicher, T., dan Buchs, J. (2018). Parallel substrate supply and pH stabilization for optimal screening of *E. coli* with the membrane-based fed-batch shake flask. *Microbial Cell Factories*. 17(69). <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0917-8>.
- Pulit, A. C., Bednarek, J. S., & Laba, W. (2018). Ecotoxicology and Environmental Safety Optimization of Copper Lead and Cadmium Biosorption into Newly Isolated Bacterium Using a Box-Behnken Design. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 149, 275–283.
- Rahadi, B., Dewi, S. L., dan Agustianingrum, R. (2015). Bioremediasi Logam Timbal (Pb) Menggunakan Bakteri Indigenous pada Tanah Tercemar Air Lindi (Leachate). *Jurnal Sumberdaya Alam dan Lingkungan*.
- Rakhmawati A. dan Yulianti E. (2015). Bioprospeksi Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Merapi untuk Bioremediasi Limbah Logam Berat. *Laporan Penelitian Unggulan UNY*.
- Rohmah, S. N. (2017). Isolasi dan Identifikasi Bakteri yang Berpotensi sebagai Agen Bioremediasi Timbal (Pb) dari Lumpur Lapindo. *Skripsi*.
- Rossita, A. S., Munandar, K., & Komarayanti, S. (2017). Komparasi Media NA Pabrik dengan NA Modifikasi untuk Media Pertumbuhan Bakteri. *Seminar Nasional Biologi, IPA, dan Pembelajarannya I*, 1, 192–201.
- Sahoo, S. and Goli, D. (2020). Bioremediation of Lead by a Halophilic *Bacteria Bacillus pumilus* Isolatd from the Mangrove Regions of Karnataka. *International Journal of Science and Research (IJSR)*. Volume 9 Issue 1. Doi: 10.21275/ART20204172.
- Sales, D. S. I. G., Gomes, D. A. F. C., Padilha, D. R. S. N. M., Casazza, A. A. C. A., dan Sarubbo, L.A. (2020) Soil Bioremediation: Overview of Technologies and Trends. *Energies*. 13, 4664. Doi:10.3390/en13184664.
- Sardrood, B. P., Goltapeh, E. M., and Varma, A. (2015). An Introduction to Bioremediation. Fungi as Bioremediators, *Soil Biology* 32. Doi: 10.1007/978-3-642-33811-3_1.
- Saraswat, R., Saraswat, D., dan Yadav M. (2020). A Review on Bioremediation of Heavy Metals by Microbes. *International Journal of Advanced Research (IJAR)*. 8(07), 200-210. Article. <http://dx.doi.org/10.21474/IJAR01/11281>.
- Sharma, S., Tiwari, S., Hasan, A., Saxena, V., dan Pandey, L. M. (2018). Recent Advances in Conventional and Contemporary Methods for Remediation of Heavy Metal-Contaminated Soils. 3 *Biotech.* 8:216. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1237-8>.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati Press.

- Silhavy, T. J., Kahne, D., and Walker, s. (2010). The Bacterial Cell Envelope. *Cold Spring Harbor Perspective in Biology*. Doi: 10.1101/cshperspect.a000414
- Silva W. C., Souza I. D. F., Benassi V. M., Roa J. P. B., Graziotti P. H., Nelson D. L., and Reis A. B. D. (2020). Determination of The Biodegradability of Chitosan Utilizing The Most Probable Number Technique. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*. Doi: 10.4025/actascibiols.v42i1.52965
- Tarekegn M. M., Salilih F. Z., and Isetu A. I. (2020). Microbes Used as a Tool for Bioremediation of Heavy Metal from The Environment. *Cogent Food & Agriculture*. Vol. 6, No. 1. <https://doi.org/10.1080/23311932.2020.1783174>.
- Thohari, N. M., Pestariati, dan Istanto, W. (2019). Pemanfaatan Tepung Kacang Hijau (*Vigna radiata L.*) Sebagai Media Alternatif Na (Nutrient Agar) Untuk Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Analisis Kesehatan Sains*. Vol 8 No.2. ISSN: 2320 - 3635.
- Tyagi, B. dan Kumar, N. (2021). Bioremediation: Principles and Applications in Environmental Management. *Bioremediation for Environmental Sustainability*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820524-2.00001-8>.
- Verma, S. dan Kuila, A. (2019). Bioremediation of Heavy Metals by Microbial Process. *Environmental Technology and Innovation*. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100369>.
- Wierzba, S. (2015). Biosorption of Lead (II), Zinc (II) and Nickel (II) From Industrial Wastewater by *Stenotrophomonas maltophilia* and *Bacillus subtilis*. *Polish Journal of Chemical Technology*, 17(1).
- Wulandari, A. D., & Meitiniarti, V. I. (2021). Bioremediation of Pb and Cd contaminated soil using microorganism: A review. *Journal of Science and Science Education*, 5(1), 1–11. ISSN: 2598-3830.
- Zakaria, Z., Zulkafflee, N.S., Mohd Redzuan, N.A., Selamat, J., Ismail, M.R., Praveena, S.M., Tóth, G., Abdull Razis, A.F. (2021). Understanding Potential Heavy Metal Contamination, Absorption, Translocation and Accumulation in Rice and Human Health Risks. *Plants*. 10, 1070. <https://doi.org/10.3390/plants10061070>.
- Zubdatut Tafsir Min Fathil Qadir Syaikh Dr. Muhammad Sulaiman Al Asyqar. Mudarris tafsir Universitas Islam Madinah.