

**BIOREMEDIASI LIMBAH CAIR MENGANDUNG MERKURI
MENGUNAKAN BIOREAKTOR SEDERHANA**

TESIS



Oleh:

**SAUNDRA ROSALLINA LUTFI
NIM. 156100300111002**

PROGRAM STUDI TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2017**

JUDUL TESIS:

Bioremediasi Limbah Cair Mengandung Merkuri Menggunakan Bioreaktor Sederhana

Nama Mahasiswa : Saundra Rosallina Lutfi

NIM : 156100300111002

Program Studi : Teknologi Industri Pertanian

Minat : Teknologi Industri Pertanian

KOMISI PEMBIMBING:

Ketua : Prof. Dr. Ir. Wignyanto, MS

Anggota : Dr. Eng. Evi Kurniati, STP, MT

KOMISI PENGUJI :

Dosen Penguji 1 : Dr. Ir. Nur Hidayat, MP

Dosen Penguji 2 : Sri Suhartini, STP., M.Env. Mgt., Ph.D

Tanggal Ujian : 20 Oktober 2017

SK Ujian :

RIWAYAT HIDUP

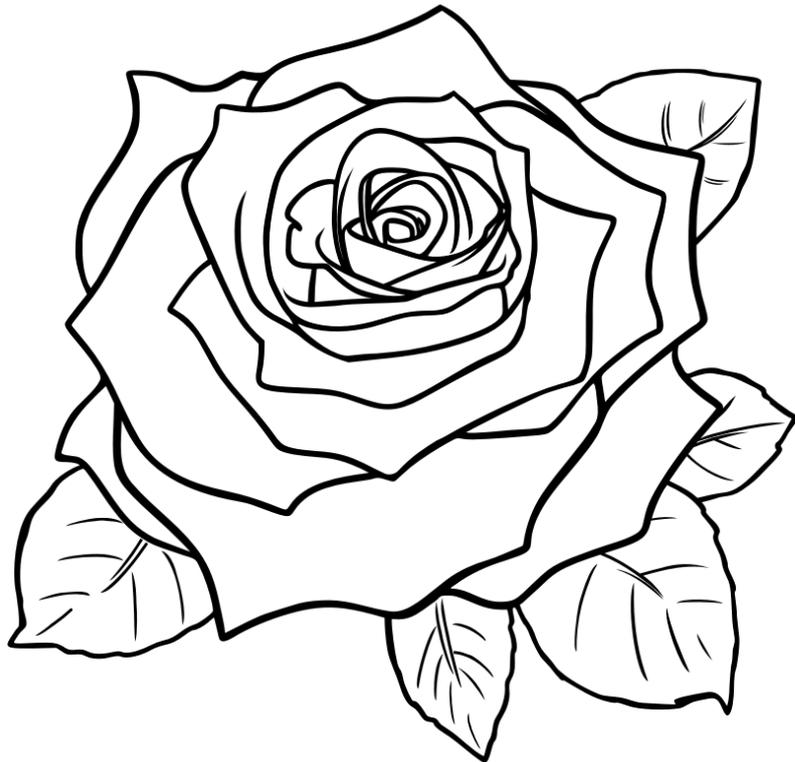


Penulis dilahirkan di Lamongan pada tanggal 24 Desember 1993. Penulis adalah anak pertama dari tiga bersaudara, dengan ayah yang bernama Mochamad Lutfi dan ibu yang bernama Widjiarti. Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SD Unggulan Jetis III Lamongan pada tahun 2005, kemudian melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 1 Lamongan dan lulus pada tahun 2008. Pendidikan selanjutnya yang dijalankan oleh penulis adalah Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 2 Lamongan dan lulus pada tahun 2011. Penulis kemudian melanjutkan pendidikan S1 di Universitas Brawijaya Jurusan Teknologi Industri Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian.

Selama pendidikan S1 yang dijalankan pada tahun 2011-2015, penulis aktif mengikuti beberapa kegiatan organisasi serta asisten praktikum. Adapun kegiatan organisasi yang dilakukan oleh penulis yaitu Staf bidang 2 HIMATITAN, Staf Bendahara HIMATITAN, Staf ESP, serta anggota basket tingkat fakultas. Kegiatan asisten praktikum yang pernah dijalankan oleh penulis yaitu asisten praktikum Biologi Dasar, asisten praktikum Pengetahuan Bahan Agroindustri (PBAI), asisten praktikum Perancangan Kerja dan Ergonomi (PKE), asisten praktikum *Production Planning and Inventory Control* (PPIC), asisten praktikum Satuan Operasi dan Proses (SATOPROS), asisten praktikum Statistika Industri I, dan asisten praktikum Bioindustri. Pada tahun 2015 penulis dinyatakan telah berhasil menyelesaikan pendidikannya di Universitas Brawijaya Malang di Jurusan Teknologi Industri Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian.

Pendidikan selanjutnya adalah S2 yang dijalankan pada tahun 2015-2017 di Universitas Brawijaya program Pascasarjana Jurusan Teknologi Industri Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian. Pada tahun 2017 penulis dinyatakan telah berhasil menyelesaikan pendidikannya di Universitas Brawijaya Malang di Jurusan Teknologi Industri Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Program Pascasarjana.

UCAPAN TERIMAKASIH



*Karya ini kupersembahkan untuk Mama, Papa,
Adik-adikku dan para Sahabat tersayang
Atas motivasi kalian yang sangat berarti...*

SAUNDRA ROSALLINA LUTFI. 156100300111002. Bioremediasi Limbah Cair Mengandung Merkuri Menggunakan Bioreaktor Sederhana. TA.
Pembimbing: 1. Prof. Dr. Ir. Wignyanto, MS
2. Dr. Eng. Evi Kurniati, STP, MT

RINGKASAN

Tumpang Pitu, Banyuwangi merupakan suatu wilayah di Indonesia sebagai penghasil tambang emas. Wilayah ini memiliki cadangan emas sebesar 1,7 gt/t emas. Namun dalam prosesnya penambang menggunakan logam berat berupa merkuri dalam ekstraksi emas sebagai proses amalgamasi dan merkuri tersebut langsung dibuang ke lingkungan. Hasil analisis kandungan merkuri pada tanah pembuangan limbah tambang emas yang ada di daerah Tumpang Pitu Banyuwangi adalah sebesar 38,01 ppm. Jumlah tersebut merupakan jumlah yang melebihi ambang batas limbah yang mengandung merkuri, yaitu sebesar 0,002 ppm hingga 0,005 ppm. Merkuri yang langsung dibuang ke lingkungan inilah yang menyebabkan dampak pencemaran. Salah satu teknik untuk menghilangkan merkuri adalah melalui proses bioremediasi. Bioremediasi merkuri dilakukan dengan merubah ion toksik dan bentuk merkuri anorganik menjadi rendah toksik seperti merkuri elemen, merkuri menguap atau merkuri sulfida menggunakan mikroorganisme khususnya bakteri. Pada penelitian ini, agar didapatkan hasil yang lebih baik maka ditingkatkan skalanya, yaitu setelah menggunakan skala laboratorium juga skala yang lebih besar (skala *pilot*) yaitu menggunakan bioreaktor. Bioreaktor adalah tempat berlangsungnya perubahan dalam proses tangki fermentasi yang dikendalikan oleh mikroba dalam lingkungan yang terkendali.

Tujuan penelitian adalah menentukan Jenis isolat bakteri dari pembuangan limbah tambang emas Tumpang Pitu Banyuwangi yang berpotensi untuk mengurangi konsentrasi merkuri pada limbah; Menentukan persentase kemampuan bakteri pereduksi limbah merkuri dari limbah tambang emas Tumpang Pitu, Banyuwangi; Menentukan kombinasi faktor jenis media dan kecepatan aerasi yang paling sesuai untuk isolat bakteri dalam mereduksi kandungan merkuri dari limbah; serta menguji kemampuan bioreaktor buatan dalam mereduksi konsentrasi merkuri pada limbah. Untuk menjawab tujuan tersebut perlu dilakukan suatu metode dalam penelitian.

Metode yang dilakukan dilakukan untuk menentukan jenis isolat bakteri yaitu dengan cara pengambilan sampel limbah dari penambangan emas Tumpang Pitu, Banyuwangi, isolasi, seleksi, dan identifikasi bakteri untuk mengetahui isolat yang berpotensi dalam proses bioremediasi, kemudian dilanjutkan dengan percobaan mengetahui media dan kecepatan aerasi yang terbaik, dengan menggunakan Rancangan Tersarang (*Nested Design*) yang dilanjutkan dengan uji DMRT 5% menggunakan program SPSS 20 untuk mengetahui apakah faktor yang digunakan dalam penelitian berpengaruh atau tidak dalam percobaan. Setelah diketahui media dan kecepatan aerasi terbaik, langkah selanjutnya adalah percobaan pada bioreaktor. Bioreaktor yang digunakan dalam penelitian ini merupakan bioreaktor sederhana hasil modifikasi dari penelitian sebelumnya.

Hasil dari penelitian ini adalah Isolat yang berpotensi yaitu bakteri dengan jenis kemampuan hingga 92,46% dengan kombinasi yang paling baik dalam melakukan bioremediasi adalah komposisi media berupa ekstrak ragi yang ditambahkan gula dan kecepatan aerasi sebesar 2 vvm yang mampu untuk menghasilkan efektivitas yang paling tinggi dibanding dengan faktor lain, yaitu sebesar 98,20% serta didapatkan hasil kemampuan bioreaktor buatan dalam mengurangi konsentrasi merkuri pada limbah adalah sebesar 99,98%.

SAUNDRA ROSALLINA LUTFI. 156100300111002. Bioremediation of Wastewater Contains Mercury Using Simple Bioreactors. THESIS.
Supervisor: 1. Prof. Dr. Ir. Wignyanto, MS
2. Dr. Eng. Evi Kurniati, STP, MT

SUMMARY

Tumpang Pitu, Banyuwangi is an area in Indonesia as a gold mining producer. This region has gold reserves of 1.7 gt / t gold. But in the process miners use heavy metals in the form of mercury in the extraction of gold as a process of amalgamation and mercury is immediately discharged into the environment. The result of mercury content analysis on gold mine waste disposal in Tumpang Pitu Banyuwangi area is 38,01 ppm. The amount represents the amount that exceeds the mercury-containing waste threshold, which is 0.002 ppm to 0.005 ppm. Mercury is directly discharged into the environment causing the impact of pollution. One technique for removing mercury is through bioremediation. Bioremediation of mercury is done by converting toxic ions and inorganic mercury forms into low toxic elements such as mercury, mercury vapor or mercury sulfide using microorganisms, especially bacteria. In this study, in order to obtain better results then scaled up, ie after using the scale of the laboratory is also a larger scale (pilot scale) that is using bioreactor. A bioreactor is a site for changes in the process of fermentation tanks that are controlled by microbes in a controlled environment. The objective of this research was to determine the type of bacterial isolate from the waste of Tumpang Pitu Banyuwangi gold mine waste that has the potential to reduce mercury concentration in the waste; Determining percentage of bacteria capability of mercury waste from Tumpang Pitu gold mine waste, Banyuwangi; Determine the most appropriate combination of media type and aeration rates for bacterial isolates in reducing mercury content from waste; and test the ability of artificial bioreactors in reducing mercury concentration in waste. To answer that goal needs to be done a method in research.

The method used to determine the type of bacterial isolate is by taking samples of waste from gold mining Tumpang Pitu, Banyuwangi, isolation, selection, and identification of bacteria to identify potential isolates in the bioremediation process, then continued with experiment knowing the media and the best aeration speed , using the Nested Design followed by a 5% DMRT test using SPSS 20 program to find out whether the factors used in the study were influential or not in the experiment. After the best media and aeration speed is known, the next step is experiments on the bioreactor. The bioreactor used in this study is a modified bioreactor from the previous study.

The result of this research is Isolate potency that is bacteria with type of ability up to 92,46% with best combination in doing bioremediasi is media composition in the form of yeast extract which added sugar and aeration velocity of 2 vvm which able to yield the highest effectivity with other factor, that is equal to 98,20% and got result of ability of artificial bioreactor to reduce mercury concentration in waste is equal to 99,98%.

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan kasih sayang-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis dengan judul “Bioremediasi Limbah Cair Mengandung Merkuri Menggunakan Bioreaktor Sederhana”. Penyusunan Tesis ini merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister Teknologi Pertanian. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Wignyanto, MS dan Ibu Dr. Eng. Evi Kurniati, STP, MT selaku dosen pembimbing atas kesabarannya dalam membimbing, memberi saran, serta memberi masukan kepada penulis.
2. Bapak Dr. Ir. Nur Hidayat, MP dan Ibu Sri Suhartini STP, M.Env. Mgt., Ph.D selaku dosen Penguji yang telah memberikan bimbingan, ilmu, arahan, dan pengetahuan yang tak ternilai harganya kepada penulis.
3. Ibu Irnia Nurika STP., MP., Ph.D selaku Ketua Program Studi Magister Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya atas bantuan dan motivasinya.
4. Ibu Dr. Ir. Maimunah Hindun Pulungan, MS yang telah memberikan bimbingan, ilmu, arahan, dan pengetahuan yang tak ternilai harganya kepada penulis.
5. Keluargaku mama, papa, dek Hero dan dek Prima yang selalu memberikan motivasi dan doa kepada penulis.
6. Novianti Adi selaku partner penulis dalam situasi suka maupun duka
7. Bu Yuli dan teman-teman Laboratorium Bioindustri (Reny, Zuliyani Agus, Anggi, Dwi, Himawan) yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, terimakasih untuk selalu membantu.
8. Teman-teman Program Pascasarjana TIP UB (Mas Hendrik, Mbak Agency, Ina, Randy, Arwani, Shinta, Yushi, Miftahus, Mbak Andania) yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu terimakasih atas dukungan, motivasi dan doa kepada penulis.
9. Kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian laporan Tesis ini.

Semoga Allah SWT selalu memberikan Rahmat dan Kasih Sayang-Nya kepada semua pihak yang telah membantu saya dalam menyelesaikan laporan tesis ini.

Terakhir, harapan penulis semoga Tesis ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkan dan penulis memohon maaf bila ada salah baik penulisan maupun sikap.

Malang, Desember 2017

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	ii
PENGESAHAN	iii
IDENTITAS PENGUJI	iv
ORISINALITAS	v
UCAPAN TERIMAKASIH	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	viii
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Penambangan Emas	5
2.1.1 Limbah Penambangan Emas	5
2.1.2 Penambangan Emas di Tumpang Pitu Banyuwangi.....	5
2.2 Merkuri.....	7
2.2.1 Karakteristik Merkuri	7
2.2.2 Toksisitas Merkuri	7
2.2.3 Siklus Merkuri di Dalam Lingkungan	8
2.2.4 Dampak Pencemaran Merkuri.....	9
2.3 Bioremediasi	9
2.3.1 <i>In situ</i>	10
2.3.2 <i>Ex situ</i>	11
2.4 Bioremediasi Merkuri	11
2.4.1 Bakteri Resisten Merkuri	13
2.4.2 Mekanisme Transformasi Merkuri oleh Bakteri.....	13
2.5 Isolasi Bakteri	15
2.6 Seleksi Bakteri	15
2.7 Identifikasi Bakteri.....	16
2.8 Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Bioremediasi oleh Bakteri	17
2.8.1 Jenis Media.....	17
2.8.2 Kecepatan Aerasi.....	18
2.9 Bioreaktor	18
BAB III KERANGKA KONSEP PENELITIAN	20
3.1 Kerangka Konsep	20
3.2 Penelitian Terdahulu	21
3.3. Hipotesis.....	21
BAB IV METODE PENELITIAN	23
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	23
4.2 Alat dan Bahan	23
4.2.2 Alat.....	23
4.2.3 Bahan.....	23
4.3 Batasan Masalah.....	23

4.4 Pelaksanaan Penelitian	24
4.4.1 Pengambilan Sampel Limbah Penambangan Emas.....	26
4.4.2 Isolasi Bakteri.....	28
4.4.3 Seleksi bakteri Pereduksi Merkuri	29
4.4.4 Karakterisasi dan Identifikasi Isolat Bakteri	31
4.4.5 Uji pada Beberapa Media dan Kecepatan Aerasi	33
4.4.6 Pelaksanaan Uji	34
4.4.7 Bioreaktor Limbah Merkuri	36
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	41
5.1 Karakteristik Sampel Limbah Penambangan Emas	41
5.2 Hasil Isolasi Bakteri Pereduksi Merkuri	43
5.3 Hasil Seleksi Bakteri Pereduksi Merkuri	44
5.4 Hasil Karakterisasi dan Identifikasi Isolat Bakteri	46
5.5 Uji pada Beberapa Media dan Kecepatan Aerasi.....	47
5.6 Bioreaktor Limbah Merkuri.....	50
5.6.1 Penentuan Kecepatan Aliran Limbah.....	50
5.6.2 Bioreaktor Limbah Merkuri	51
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	54
6.1 Kesimpulan.....	54
6.2 Saran.....	54
DAFTAR PUSTAKA.....	55

DAFTAR TABEL

No.	Judul	
Halaman		
2.1	Mekanisme Transformasi Merkuri	12
2.2	Kandungan media <i>Luria Bertani</i> (LB)	15
4.1	Rancangan Acak Tersarang	34
5.1	Karakteristik Limbah Penambangan Emas Tumpang Pitu	41
5.2	Tingkat Kekeruhan di Media <i>Luria Bertani</i> yang Diberi Merkuri	43
5.3	Efektivitas Bioremediasi Merkuri dari Tiga Sampel	45
5.4	Hasil Identifikasi Bakteri dengan Microbat Kit GNB 12 A/12 E	47
5.6	Rerata Efektivitas Bioremediasi dengan Perlakuan Kecepatan Aerasi dan Jenis Media.....	48
5.7	Hasil Reduksi Hg pada Perlakuan Waktu Kontak.....	50

DAFTAR GAMBAR

No.	Judul	Halaman
2.1	Siklus <i>Biogeochemical</i> Merkuri	8
2.2	Proses Detoksifikasi Merkuri oleh Mikroba Resisten Merkuri	14
2.3	Model Operon <i>mer</i>	14
2.4	<i>Microbact Kit</i> untuk Identifikasi Bakteri.....	17
2.5	Rancangan Bioreaktor Penghilang Merkuri.....	19
3.1	Kerangka Konsep Penelitian.....	20
4.1	Diagram Alir Pelaksanaan Penelitian	25
4.2	Diagram Alir Pengambilan Sampel	26
4.3	Diagram Alir Persiapan Persediaan Larutan Standar HgCl ₂ 1000 ppm ..	27
4.4	Preparasi Media Luria Bertani.....	28
4.5	Isolasi Kultur Bakteri	29
4.6	Diagram Alir Seleksi Bakteri.....	30
4.7	Pemurnian Isolat Bakteri.....	31
4.8	Diagram Alir Penggunaan <i>Microbact Kit</i>	33
4.9	Diagram Alir Uji pada Beberapa Media dan kecepatan Aerasi	36
4.10	Rancangan Bioreaktor Sederhana	37
4.11	Galon yang Digunakan dalam Penelitian	38
4.12	Penyangga Galon yang Digunakan.....	39
5.1	Isolat Bakteri.....	45
5.2	Bioreaktor Sederhana Limbah Merkuri.....	51
5.3	Grafik Efektivitas Bioremediasi	52

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Judul	Halaman
1.	Lokasi Penambangan Emas Tumpang Pitu, Banyuwangi	63
2.	Hasil Analisis Kadar Merkuri dan pH Sampel Penambangan Emas	64
3.	Hasil Uji Reduksi Hg pada Beberapa Media dan Kecepatan Aerasi.....	65
4.	Pengolahan Data Hasil Uji Reduksi Merkuri pada Beberapa Media dan Kecepatan Aerasi.....	68
5.	Bioremediasi Menggunakan Bioreaktor Sederhana	69
6.	Dokumentasi Penelitian	70
7.	Perhitungan Bioreaktor	72
8.	Batu Apung dan Arang Aktif yang Digunakan dalam Penelitian	73

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jumlah sumber daya emas primer di Indonesia dalam bentuk bijih sebesar 1.980.234.640 ton atau 1,98 gt emas sedangkan cadangannya sebesar 5.117.034.400 ton atau 5,117 gt emas (Karmanto dkk., 2013). Salah satu lokasi tambang emas yang memiliki cadangan besar terletak di wilayah Tumpang Pitu, Kabupaten Banyuwangi Provinsi Jawa Timur. Cadangan emas yang terdapat di Tumpang Pitu, Bayuwangi sebesar 1,7 gt emas atau 1.700.000.000 ton emas (Setiawan, 2014). Namun proses penambangan emas di Tumpang Pitu menggunakan metode ekstraksi dengan merkuri karena merkuri merupakan elemen yang dapat digunakan untuk proses amalgamasi dan biaya yang dikeluarkan relatif rendah (Davies, 2014).

Hasil analisis kandungan merkuri pada tanah pembuangan limbah tambang emas yang ada di daerah Tumpang Pitu Banyuwangi sebesar 38,01 ppm. Jumlah tersebut adalah jumlah yang cukup besar dan membahayakan lingkungan serta kehidupan makhluk hidup di sekitarnya (Siahaan dkk., 2014). Jumlah kandungan yang tinggi tersebut melebihi ambang batas limbah yang mengandung merkuri, karena berdasarkan peraturan menteri lingkungan hidup (2014), baku mutu limbah yang mengandung merkuri paling rendah sebesar 0,002 ppm dan paling tinggi sebesar 0,005 ppm.

Merkuri yang digunakan dalam proses amalgamasi tersebut akan tertinggal pada limbah cair dan menjadi suatu zat yang sangat beracun serta sulit untuk dihilangkan, terutama apabila pertambangan tersebut sudah berjalan beberapa tahun (Kocman *et al.*, 2009). Selain untuk penambangan emas, merkuri digunakan juga pada bidang pertanian, produksi baterai, pembakaran bahan bakar fosil, penambangan dan proses pembuatan logam, cat serta produksi pulp dari kayu (Vinod *et al.*, 2011). Melalui kegiatan tersebut merkuri akan dilepaskan ke udara, air, dan tanah (Pepi *et al.*, 2011). Logam ini adalah salah satu elemen yang beracun yang terdapat di biosfer ketika dilepaskan ke lingkungan, merkuri dapat masuk dan mengendap pada tanah dan air yang dapat masuk ke rantai makanan makhluk hidup (Sinha *et al.*, 2012).

Efek terbesar dari pencemaran yang disebabkan oleh logam berat merkuri menyebabkan keracunan pada sistem syaraf dan gangguan fungsi pernafasan pada manusia. Selain keracunan, juga dapat merusak ekosistem sungai, persediaan makanan tanaman, ikan, dan persediaan makanan manusia yang tinggal di sekitar lingkungan perairan yang telah tercemar merkuri. Sebagai bukti pada area sekitar pertambangan emas terdapat banyak pohon yang mati karena terkena dampak racun dari merkuri (Hasan, 2009).

Racun merkuri tersebut pada dasarnya dapat dikendalikan oleh lingkungan, namun karena kemampuannya terbatas disebabkan terlalu banyak bahan penyebab racun, maka diperlukan keikutsertaan dari manusia untuk menanggulangnya menggunakan suatu metode (Nasikhin dan Shovitri, 2013). Cara yang dapat dilakukan untuk menghilangkan merkuri adalah metode disposal, pembentukan solid dan stabilisasi, amalgamasi, pencucian tanah, ekstraksi asam, perlakuan panas, vitrifikasi (mengubah suspensi menjadi padatan seperti kristal), presipitasi, adsorpsi, dan membran filtrasi. Namun metode ini mahal, tidak ramah lingkungan sehingga perlu dilakukan metode bioremediasi (Mahbub *et al*, 2016).

Bioremediasi limbah adalah suatu metode untuk mendegradasi limbah yang murah dan ramah lingkungan (Broszeit *et al.*, 2015). Bioremediasi merkuri dilakukan dengan merubah ion toksik dan bentuk merkuri anorganik menjadi rendah toksik seperti merkuri elemen, merkuri menguap atau merkuri sulfida yang siap diserap dan diamobilkan (Mahbub *et al*, 2016). Menurut Hema *et al.* (2014), mikroorganisme seperti *Aspergillus* spp., *Bacillus* spp., *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Trichordema* spp., dan *Streptomyces* spp. dilaporkan sebagai mikroorganisme yang dapat hidup pada lingkungan dengan konsentrasi logam berat yang tinggi, dimana mikroorganisme ini sering digunakan sebagai agen biologi untuk mendegradasi limbah beracun yang ada di lingkungan.

Isolasi dan seleksi bakteri didapatkan melalui metode sampling di Tumpang Pitu, kemudian dilakukan uji pertumbuhan pada medium *Luria Bertani* yang mengandung merkuri hingga 58 ppm. Proses selanjutnya yaitu identifikasi untuk mengetahui jenis bakteri serta pengujian pada beberapa media dan kecepatan aerasi. Faktor dalam bioremediasi yang sangat berpengaruh adalah media (Neneng, 2007; Crisafi *et al.*, 2016). Dalam penelitian Neneng (2007), media ditambahkan untuk menstimulasi kemampuan degradasi bakteri *indigenous* di dalam tangki bioreaktor agar proses degradasi limbah dapat berjalan dengan baik karena diketahui kondisi optimum bagi pertumbuhan bakteri. Faktor selanjutnya yaitu kecepatan aerasi. Aerasi diperlukan untuk mempercepat proses bioremediasi. Hal ini dikarenakan mikroba yang bekerja dalam proses bioremediasi adalah mikroba yang aerob. Kecepatan aerasi harus diatur secara cukup karena kecepatan aerasi yang sangat rendah, akan menyebabkan kondisi anaerob sehingga aktivitas mikroba aerob tersebut menurun (Yu *et al.*, 2016). Setelah diketahui faktor jenis media dan kecepatan aerasi yang optimal, kemudian dilakukan aplikasi pada bioreaktor sederhana sebagai gambaran aplikasi di lapangan. Bioreaktor digunakan karena metode ini mudah digunakan, ramah lingkungan, serta tidak membutuhkan dana besar (Barus, 2007).

1.2 Rumusan Masalah

1. Jenis isolat bakteri dari pembuangan limbah tambang emas Tumpang Pitu Banyuwangi apayang berpotensi untuk mengurangi konsentrasimerkuri pada limbah?
2. Berapa persentase kemampuan bakteri pereduksi limbah merkuri dari limbah tambang emas Tumpang Pitu, Banyuwangi?
3. Berapa kombinasi faktor terbaik: a) jenismedia, b) kecepatan aerasi, serta interaksinya dan apakah berpengaruh terhadap efektivitas bioremediasi oleh isolat bakteri pereduksi merkuri dari limbah tambang emas Tumpang Pitu, Banyuwangi?
4. Bagaimana kemampuan bioreaktor buatan dalam mengurangi konsentrasi merkuri pada limbah?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menentukan jenis isolat bakteri yang berpotensi dari pembuangan limbah tambang emas Tumpang Pitu Banyuwangi untuk mengurangi konsentrasi merkuri padalimbah.
2. Menentukan persentase kemampuan bakteri pendegradasi limbah merkuri dari limbah tambang emas Tumpang Pitu, Banyuwangi.
3. Menentukan kombinasi faktor jenis media dan kecepatan aerasi yang paling sesuaiuntuk isolat bakteri dalam mereduksi kandungan merkuri dari limbah.
4. Menguji kemampuan bioreaktor buatan dalam mereduksi konsentrasi merkuri pada limbah.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan tambahan pengetahuan mengenai bioremediasi
2. Memberikan tambahan pengetahuan mengenai cara mendapatkan isolat bakteri yang digunakan dalam proses bioremediasi
3. Memberikan tambahan pengetahuan mengenai faktor yang berpengaruh dalam bioreaktor
4. Mendapat alternatif metode pengolahan limbah yang menggunakan bakteri sebagai agen bioremediasi.
5. Sebagai bahan pertimbangan pemerintah pusat maupun daerah di Banyuwangi

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penambangan Emas

Penambangan emas adalah contoh kekayaan alam suatu negara, dimana memiliki dampak yang baik terutama pada kegiatan ekonomi, diantaranya dalam meningkatkan nilai hidup warga yang tinggal di sekitarnya diluar sektor pertanian dan perkebunan (Balihristri, 2008). Penambangan emas memiliki sisi yang negatif maupun positif (Lihawa dan Mahmud, 2012).

Peningkatan nilai ekonomi dari penambangan emas merupakan sisi positif dari penambangan emas. Setiap tahunnya terjadi peningkatan taraf hidup masyarakat yang bekerja sebagai penambang emas, terlebih pada wilayah dengan cadangan emas yang besar. Hal ini dikarenakan harga jual dan kebutuhan emas yang semakin lama semakin meningkat (Seccatore and Theije, 2016). Peningkatan nilai ekonomi tersebut dapat dirasakan mulai dari penambang, hingga pemerintah (Ouba, 2017). Dampak negatifnya yaitu kualitas lingkungan yang menurun akibat penambangan emas yang dapat dicari solusinya agar tidak membahayakan bagi penduduk di sekitar penambangan emas. Hal ini disebabkan penduduk di sekitar lokasi penambangan emas yang paling sering terkena dampaknya (Pavilonis *et al.*, 2017).

2.1.1 Limbah Penambangan Emas

Limbah penambangan emas yang menggunakan zat berbahaya dapat menjadi sumber pencemaran air sungai, yang menyebabkan terjadi rusakankualitas air karena masih banyak penduduk yang berada didekat sungai masih menggunakan air sungai untuk keperluan mandi, mencuci serta kakus. Rusaknya lingkungan ini akan ditanggung penduduk disekitar sungai sehingga menyebabkan dampak negatif bagi penduduknya (Eriyati dan Iyan, 2011).

Dampak negatif tersebut disebabkan karena semakin banyak ditemukannya daerah yang memiliki potensi emas oleh perusahaan maupun oleh penambang yang tidak memiliki izin. Adapun yang menyebabkan bahaya dari penambangan emas dikarenakan kebanyakan penambangan menghasilkan limbah berbahaya, yaitu limbah Bahan Beracun Berbahaya (B3), salah satu contohnya adalah merkuri (Hg) yang digunakan dalam proses amalgamasi di tambang emas (Mirdat *dkk.*, 2013).

2.1.2 Penambangan Emas di Tumpang Pitu Banyuwangi

Salah satu contoh penambangan emas terdapat di Tumpang Pitu, Banyuwangi. Penambangan emas yang ada di Gunung Tumpang Pitu membuat resah warga Desa

Sumberagung, Kecamatan Pesanggaran karena mereka beranggapan bahwa perusahaan pertambangan akan merusak lingkungan, diantaranya hutan lindung, perairan laut, serta ekosistem laut yang menjadi dampak yang diakibatkan (Yuli dan Badriyanto, 2010). Dampak merkuri pada lingkungan perairan dan makhluk hidup yang tinggal di perairan sekitar tambang yang tinggi terdapat di lingkungan sekitar tambang. Salah satu contoh hewan yang hidup di dalam perairan yaitu ikan, dimana akan terjadi akumulasi di dalam jaringan ikan melalui insang, epitelium, serta melalui makanan (Susintowati dan Hadisusanto, 2014). Bahaya bagi lingkungan yaitu berpotensi menimbulkan banjir dan longsor serta kerusakan hutan jati, maupun tanaman pertanian/ perkebunan masyarakat sehingga harus dihentikan (Yunianto, 2009).

Dampak ini disebabkan karena dalam prosesnya, warga menggunakan merkuri sebagai amalgamasi. Amalgamasi merupakan suatu teknik tradisional yang bertujuan untuk mengekstrak emas. Hasil samping dari proses amalgamasi ini adalah limbah berupa lumpur yang memiliki kandungan merkuri serta beberapa campuran kandungan limbah lainnya. Pada daerah Tumpang Pitu Bayuwangi, setelah dilakukan analisis kandungan merkuri yang dilakukan di tanah pembuangan limbah tambang emas kandungannya adalah sebesar 38,01 ppm. Jumlah tersebut adalah jumlah yang cukup besar dan membahayakan lingkungan (Siahaan *dkk.*, 2014).

Proses penambangan emas dengan proses amalgamasi sebagai contohnya di Tumpang Pitu Bayuwangi yaitu: 1) yang pertama yaitu dilakukan penambangan batuan yang memiliki kandungan emas yang dinamakan *rep*. *Rep* tersebut kemudian diletakkan ke dalam karung goni lalu dipindahkan ke tempat pengolahan, 2) setelah itu batuan *rep* dilakukan penghancuran di tempat pengolahan menggunakan alat penghancur yang dioperasikan dengan mesin atau dilakukan penumbukan manual menggunakan martil, 3) Hasil dari hancuran tersebut kemudian diletakkan dalam tromol sebanyak kira-kira 40 kg dengan waktu 3 jam dan setiap di setiap tromol dimasukkan merkuri dengan jumlah 1 sampai 2 kg setiap tromol yang kemudian dilakukan pemutaran selama setengah jam sehingga dapat terjadi proses amalgamasi antara emas dengan merkuri, 4) setelah dilakukan proses pemutaran, kemudian isi yang ada di dalam tromol dikeluarkan serta dilakukan proses memisahkan antara batuan *rep* yang telah halus dari amalgam yang menggunakan aliran air (Rondonuwu, 2012).

Langkah selanjutnya yaitu dilakukan penyimpanan dalam karung sehingga menjadi limbah padat sedangkan amalgam dibakar yang bertujuan untuk memisahkan merkuri dengan emas. Proses pembakaran ini dapat dilakukan karena merkuri lebih dahulu menguap dan dapat terlepas dari emas, 5) Proses pembakaran dilakukan dengan cara sederhana menggunakan kompor gas dengan wadah untuk meletakkan emas secara langsung di udara yang menyebabkan uap merkuri yang memiliki warna kebiruan tersebar di lingkungan sekitar. Selain

itu juga digunakan retort untuk proses pengumpulan kembali merkuri namun dengan peralatan keselamatan penambang seperti sarung tangan serta tidak diperhatikannya arah angin, 6) Langkah selanjutnya adalah mengalirkan air ke dalam penampungan. Karena penampungan tersebut berupa kolam yang sempit sehingga air yang berisi limbah dan logam berbahaya akan meluber ke luar (Rondonuwu, 2012).

2.2 Merkuri

2.2.1 Karakteristik Merkuri

Merkuri *Hydragyrum* (cair), adalah logam dengan nomor atom 80 dan bobot atom 200,59 g/mol (Holidah, 2016). Merkuri (Hg), yang terdapat di air, atmosfer, tanah, sedimen dan pada organisme dalam bentuk elemen, anorganik, dan bentuk organik, adalah yang menjadi fokus utama pada kesehatan masyarakat. Merkuri bentuk ini berasal dari alam maupun sumber anorganik (Liu *et al.*, 2014). Pada kondisi bebas, merkuri adalah suatu ikatan antar elemen alam serta elemen yang dihasilkan karena aktivitas manusia, dengan kata lain jarang dalam kondisi terpisah. Merkuri ini terdapat di batuan, tanah, udara, air, serta makhluk hidup yang dihasilkan melalui aktivitas biologi, fisika, maupun kimia yang kompleks (Isa dan Retnowati, 2011).

Merkuri dapat dimanfaatkan dalam berbagai kegunaan, diantaranya pada pendidikan, pabrik, pertanian, dan lain-lain. Unsur ini dapat berubah sebagai senyawa anorganik dengan oksidasi menjadi unsur organik melalui reduksi dengan bantuan bakteri tertentu. (Isa dan Retnowati, 2011). Merkuri mempunyai sifat (Isa dan Retnowati, 2011):

- a. Hanya logam yang dapat berwujud cair pada temperatur kamar dan memiliki titik beku yang paling rendah dibanding semua logam.
- b. Vatalitas tinggi.
- c. Merupakan logam dengan konduktor terbaik karena mempunyai tahanan listrik rendah.
- d. Karena banyak logam lain yang bisa terlarut di dalamnya, maka disebut amalgam alloy.
- e. Menyebabkan racun pada semua makhluk hidup.

2.2.2 Toksisitas Merkuri

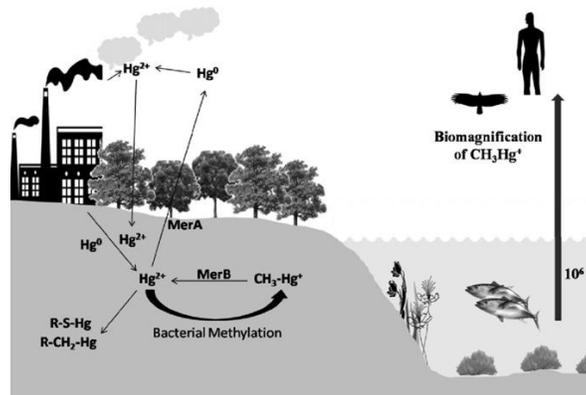
Merkuri (Hg) adalah suatu unsur beracun dan berbahaya. Merkuri dapat dengan mudah terakumulasi pada rantai makanan dan mencapai tubuh manusia melalui jalur pencernaan. Merkuri dapat juga dengan mudah masuk ke tubuh manusia melalui saluran pernafasan dan jalur lain yang menyebabkan efek berbahaya pada kesehatan manusia. Semua air murni di bumi dapat terkontaminasi dengan merkuri dari adanya batuan, tanah, air, dan material gunung berapi. Merkuri dilepaskan ke lingkungan baik secara alami dan aktivitas antropogenik (Riaz *et al.*, 2016).

Penelitian yang dilakukan oleh Riaz *et al.*, (2016) pada pekerja tambang emas di Pakistan Utara dimana yang diteliti adalah bagian darah dan urin serta hasilnya adalah merkuri sangat berbahaya bagi manusia tersebut.

Toksisitas merkuri juga berpengaruh terhadap ikan. Penelitian yang dilakukan oleh Taylor *et al.*, (2014), Ikan yang diteliti positif terdapat merkuri pada jaringan otot yang diperoleh melalui makanan dan merkuri adalah penyebab penurunan kesehatan di ikan. Beberapa penyebab yang merugikan tergantung pada sejarah hidup spesies dan konsentrasi serta lama waktu terpapar merkuri. Konsentrasi merkuri pada dapat dilihat pada ukuran tubuh dan umur ketika makanannya terkontaminasi yang levelnya lebih tinggi pada kondisi tropis.

2.2.3 Siklus Merkuri di Lingkungan

Siklus merkuri di alam terjadi dalam bentuk proses geologi dan biologi. Bentuk utama merkuri di atmosfer adalah uap merkuri (Hg^0) yang mudah menguap dan dioksidasi menjadi ion merkuri (Hg^{2+}) sebagai hasil dari interaksi terhadap ozon dengan adanya air. Kebanyakan merkuri yang masuk ke lingkungan perairan adalah Hg^{2+} . Organisme predator yang ada di tingkat paling atas dalam rantai makanan umumnya memiliki konsentrasi merkuri lebih tinggi, yang dikenal sebagai bentuk metil merkuri organik (Hellal *et al.*, 2015). Menurut Dash and Das (2012), siklus merkuri di lingkungan terjadi secara alami baik geologis maupun biologis yang dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Siklus *Biogeochemical* Merkuri (Dash and Das, 2012)

Merkuri memiliki tipe yang dapat berdampak langsung pada manusia yaitu uap merkuri serta metil merkuri, dimana dapat menyebabkan terjadinya keracunan selain bagi manusia juga bagi organisme lain, namun terdapat tanaman, jamur, serta bakteri yang mampu untuk bertahan dengan membentuk mekanisme pertahanan diri pada jenis zat kimia yang berbeda (Suryani, 2011). Pada lingkungan perairan, merkuri (Hg) mengisi ekosistem wilayah perairan dari endapan

atmosfer, pergerakan air dan keluarnya air tanah (*Hellal et al.*, 2015). Merkuri yang berada di sedimen perairan terjadi perubahan karena terdapat proses mekanisme oleh bakteri yang merubah dari Hg^{2+} menjadi Hg^0 , hal ini karena beberapa kondisi salah satunya kegiatan fisika yang mengakibatkan merkuri bisa menguap ke udara namun dapat kembali ke perairan melalui peristiwa hujan dimana akan merubah komponen-komponen yang membentuk merkuri tersebut, dan melalui aktivitas fisika dapat menjadi peristiwa peruraian kembali (*Isa dan Retnowati*, 2011).

2.2.4 Dampak Pencemaran Merkuri

Merkuri memiliki dampak negatif yang berbahaya bagi makhluk hidup berupa manusia dan ekosistem kehidupannya, dimana hal ini disebabkan oleh manusia yang menggunakan merkuri dalam kehidupannya (*Palar*, 2008). Adapun efek dari merkuri yaitu menyebabkan racun yang berdampak pada gangguan kepala, gangguan pencernaan, terjadi gangguan pada kaki dan tangan, terjadi pembengkakan pada gusi serta terjadi gangguan pada mulut. Merkuri dan turunannya yang beracun inilah yang menyebabkan dampak negatif yang disebabkan sifatnya yang mudah larut dan mudah untuk membentuk ikatan di dalam jaringan tubuh organisme air (*Subanri*, 2008).

Selain sifat merkuri yang mudah terikat dalam jaringan tubuh organisme air, stabilnya sifat merkuri yang stabil dalam sedimen inilah yang menyebabkan mudahnya tersebarnya racun merkuri dalam lingkungan perairan yang kemudian terserap dan terakumulasi dalam jaringan tubuh makhluk hidup perairan serta dalam rantai makanan (*Subanri*, 2008). Merkuri yang dilepas di lingkungan perairan secara jangka panjang dapat menyebabkan tercemarnya air, tanah, sedimen, serta atmosfer (*Fahrudin*, 2010).

2.3 Bioremediasi

Bioremediasi adalah suatu teknik mendegradasi limbah organik atau non organik yang diolah sedemikian rupa menjadi bahan yang awalnya tidak berbahaya bagi makhluk hidup menjadi tidak berbahaya yang menggunakan proses biologi (*Tuhuloula*, 2013). Bioremediasi adalah salah satu cabang dari bioteknologi lingkungan, yang mempelajari penggunaan mekanisme biologis untuk merusak, mengubah, atau mengimobilisasi kontaminasi lingkungan untuk melindungi lingkungan dari kerusakan. Penggunaan organisme hidup (utamanya mikroorganisme dan tumbuhan) adalah suatu teknik penggunaan teknologi alternatif untuk menghilangkan kontaminasi dari lingkungan, mengembalikan lahan yang tercemar, dan melindungi dari polusi (*Yu et al.*, 2014). Teknik bioremediasi ini perlu digunakan dengan tujuan

mengembalikan lahan yang terkontaminasi bisa dipakai lagi pada beberapa kegiatan sehingga didapat lahan yang aman (Herdiani dkk., 2011).

Pada prosesnya, bioremediasi merupakan metode yang menggunakan aktifitas biologi, salah satunya adalah bakteri yang mampu untuk melakukan adaptasi, berkembang biak dan tahan pada tempat hidupnya. Pada lingkungan perairan dan sedimen akan banyak terdapat kumpulan bakteri yang mampu untuk hidup dan dapat memanfaatkan logam berat dalam siklus hidupnya dalam bentuk mendegradasi dan mengikat logam berat tersebut. Hal inilah yang dapat dibuat sebagai bahan penelitian yang menggunakan kemampuan aktivitas metabolisme bakteri. Metode ini disebut sebagai metode ketika bahan yang mengkontaminasi dan terakumulasi di dalam tubuh makhluk biologi, dalam hal ini adalah bakteri dan bakteri tersebut mampu untuk melakukan degradasi sehingga bahan yang terkontaminasi tersebut dapat langsung dibuang dan ramah lingkungan. Metode ini lebih baik bila dibandingkan proses pertukaran ion atau osmosis balik Bioremediasi lebih efektif dibandingkan proses pertukaran ion serta proses osmosis terbalik yang berhubungan dengan sensitifitas kehadiran padatan terlarut zat organik dan logam berat lainnya, serta lebih baik dari proses pengendapan (*sedimentation*) apabila dihubungkan pada bisa tidaknya untuk melakukan stimulasi pH yang berubah serta kadar logam berat. Oleh karena itulah kajian mengenai bioremediasi perlu dikembangkan dalam upaya menangani permasalahan kontaminasi logam berat di lingkungan, terutama pada sistem perairan (Badjoeri dan Zarkasyi, 2010). Bioremediasi dibagi menjadi dua, yaitu bioremediasi *in situ* dan bioremediasi *ex situ*.

2.3.1 *In situ*

Bioremediasi *in situ* keberhasilannya ditentukan oleh teknologi yang digunakan dengan memenuhi keragaman kondisi lingkungan yang dibutuhkan oleh bakteri yang akan melakukan bioremediasi. Keragaman tersebut dapat berupa keragaman fisik dan kimia, dapat berupa mengatur ketersediaan media dan substrat dimana dapat mengendalikan proses yang dilakukan oleh bakteri. Bioremediasi memberikan potensi yang besar untuk membersihkan kontaminasi lingkungan karena dapat diperlakukan *in situ* dengan dampak yang kecil pada kondisi lingkungan yang tercemar dan kontaminasi tersebut dapat dirubah dari kondisi yang toksik menjadi non toksik. Hal tersebut diperlukan karena banyak penelitian yang dilakukan secara lapang maupun laboratorium menyatakan bahwa terdapat beberapa jenis polutan yang ada pada sistem lingkungan yang tidak dapat didegradasi oleh mikroba yang bukan berasal dari lingkungan sumber tercemarnya atau bukan mikroba *indigenous* (Song *et al.*, 2014).

Keuntungan menggunakan bioremediasi secara *in situ* adalah karena proses bioremediasi berlangsung pada tempat yang terdapat kontaminan, maka kondisi mikroba yang

akan melakukan bioremediasi lebih optimal dan mikroba tersebut tidak perlu melakukan adaptasi berlebihan, sehingga reaksi bioremediasi berlangsung pada pH mendekati netral (Setiyo dkk., 2011). Pada implementasi bioremediasi *in situ*, kesulitan terbesarnya adalah menghubungkan penerimaan elektron (misal oksigen), ketersediaan substrat (misal hidrokarbon), dan adanya kemampuan katabolik mikroba. Hal ini merupakan hal yang sulit karena pada proses bioremediasinya yang dilakukan di lokasi tersebut harus terdapat ketiga komponen tersebut. Proses dari bioremediasi *in situ* melibatkan hal yang kompleks dan hubungan antara biomassa, kontaminan, nutrisi, dan tergantung pada kontrol atau pengendalian (Hu and Chan, 2015).

2.3.2 Ex situ

Bioremediasi *ex situ* adalah proses bioremediasi yang memindahkan kontaminan ke suatu tempat untuk memberikan beberapa perlakuan (Tuhuloula, 2013). Bioremediasi ini memiliki beberapa metode, yaitu bahan yang tercemar dipindah ke wilayah tertentu sehingga dapat dilakukan penanganan lebih lanjut. Metode lanjutan tersebut yaitu memakai bioreaktor, mengolah lahan, serta membuat kompos sehingga didapatkan hasil yang lebih baik (Herdiani dkk., 2011). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Tomei *et al.* (2013), metode *ex situ* terdapat dua pendekatan utama, yaitu pencucian tanah untuk ekstraksi kontaminan diikuti dengan perlakuan atau disposal (seperti insinerasi) fase cair, dan bioreaktor. Bioreaktor endapan dapat juga menghasilkan penipisan biologis dan kandungan nutrisi tanah, dan juga cenderung untuk terjadi abrasi reaktor sehingga membutuhkan jumlah air yang banyak.

Penelitian yang dilakukan oleh Beskoski *et al.* (2011), aplikasi bioremediasi *ex situ* dalam skala lapang menunjukkan bahwa campuran polutan minyak pada tanah yang diberi perlakuan memiliki jalur yang kompleks, yaitu perbedaan tingkat degradasi dan waktu yang diamati untuk fraksi karakteristik campuran hidrokarbon dengan berat molekul dan struktur yang berbeda. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Firmino *et al.* (2015), bioreaktor dalam proses bioremediasi *ex situ* dilakukan evaluasi dalam dampak beberapa parameter seperti efisiensi, stabilitas, dan struktur koloni mikroba. Pengaruh dari waktu retensi, sirkulasi cairan, dan konsentrasi substrat (ethanol) diamati pada bioreaktor UASB (*Up-flow Anaerobic Sludge Blanket*) yang dijalankan dibawah kondisi metanogen (mampu menghasilkan metana). Perubahan bakteri dan koloni *archae* dievaluasi pada kondisi keberagaman, persamaan, dan banyaknya jenis.

2.4 Bioremediasi Merkuri

Bioremediasi adalah suatu teknik untuk melakukan reduksi atau degradasi kontaminan merkuri. Adapun yang menjadi pertimbangan metode ini yaitu aktivitas bakteri maupun tumbuhan

yang dapat berperan dalam proses remediasi secara alami sehingga dapat menjadi fokus utama pada *applied microbiology* (Barus, 2007). Transformasi merkuri di alam terjadi secara biologis dan bukan biologis, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Mekanisme Transformasi Merkuri (Barus, 2007)

	Reduksi Hg ²⁺	Dimetilasi	Metilasi
Biologis	Enzimatik- -Sistem <i>mer</i> -Merkuri reduktase	Enzimatik- Organomercurial reduktase	Transfer gugus metal oleh korinoid Ko-Enzim (bakteri)
	Tidak langsung- -Reduksi metabolit		Sintesa metionin (fungi)
Bukan biologis	Radikal bebas Berasosiasi dengan senyawa humik	Protonolitik pada ikatan C-Hg (reaksi sangat lambat)	Asam humik dan fulfik Fotolisis Metilasi (CH ₃) ₂ Hg ⁺ menjadi (CH ₃) ₂ Hg dengan adanya H ₂ S

Pada penelitian yang dilakukan oleh Suryanin (2011), terdapat percobaan hambatan yang beragam untuk menguji bakteri aerobik menggunakan media PTYG (Pepton Tripton Yeast Glukosa) menggunakan kertas cakram dimana bakteri yang diuji merupakan bakteri jenis Gram negatif dan positif. Hasilnya adalah terjadi perbedaan antara bakteri tersebut yang disebabkan karena perbedaan struktur dinding selnya, dimana Gram negatif mempunyai komponen dinding sel kompleks bila dibandingkan dengan Gram positif, dengan kata lain Gram negatif lebih tahan terhadap logam berat bila dibandingkan dengan Gram positif. Pada pengujian lain, terjadi penurunan viabilitas pada saat selesai diinkubasi 21 hari dengan media yang mengandung merkuri, atau bakteri tersebut tidak tahan hidup lama dengan kandungan merkuri tinggi pada waktu yang lama. Hal ini dikarenakan logam ini memiliki dampak toksik pada tubuh bakteri, selain itu juga pada hewan air yang apabila terkena merkuri secara terus menerus maka akan terjadi akumulasi pada tubuhnya sehingga terjadi gangguan metabolisme tubuh hingga kematian.

Logam berat seperti merkuri menyerap ke kelompok fungsional aktif-proton pada sel bakteri, menyebabkan spesiasi dan distribusi logam ini pada sistem lingkungan. Pada penelitian sebelumnya, menunjukkan bahwa beberapa sel bakteri terkandung aktif-proton grup fungsional sulfhidril. Karena Hg siap mengikat dan dengan kuat untuk komponen sulfur, bakteri menyerap Hg dapat menyebabkan distribusi, transportasi, dan kehadiran Hg pada sistem geologi (Dunham-Cheatham *et al.*, 2015).

Pada logam dengan konsentrasi tinggi, homeostatis dengan sel bakteri dilakukan untuk menjaga logam berat reaktif pada level subtosik optimal. Hal ini disebabkan karena bakteri

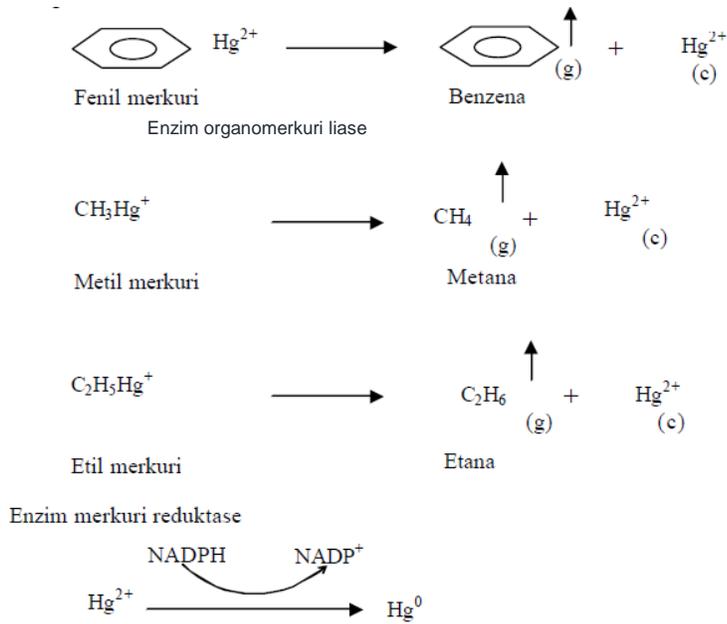
menggunakan mekanisme yang dipengaruhi oleh bantuan enzim seperti dismutase superoksida dan protein pengikat logam sebagai bentuk pertahanan hidup yang lain (Hema et al., 2014).

2.4.1 Bakteri Resisten Merkuri

Reduksi dari Hg (II) menjadi Hg (0) dapat dilakukan oleh bakteri resisten dengan enzim merkuri reduktase pada konsentrasi merkuri rendah (Imamuddin, 2010). Kebanyakan bakteri akan mati apabila terkena merkuri secara terus menerus, namun terdapat juga bakteri yang dapat bertahan hidup pada kondisi tinggi merkuri. Hal ini karena bakteri memiliki daya tahan yang baik dan mampu untuk menggunakan merkuri dalam mekanisme pertumbuhannya. Bakteri heterotrofik merupakan bakteri yang mampu untuk hidup pada lingkungan di logam berat, salah satunya adalah di kondisi tinggi merkuri. Bakteri tersebut menggunakan prinsip detoksifikasi dimulai dengan demetilasi menggunakan enzim organomerkuri liase serta merkuri reduktase dimana merkuri akan masuk dalam membrane sitoplasma lalu ke sel dan akan berkumpul di sel tersebut (Retnowati, 2011).

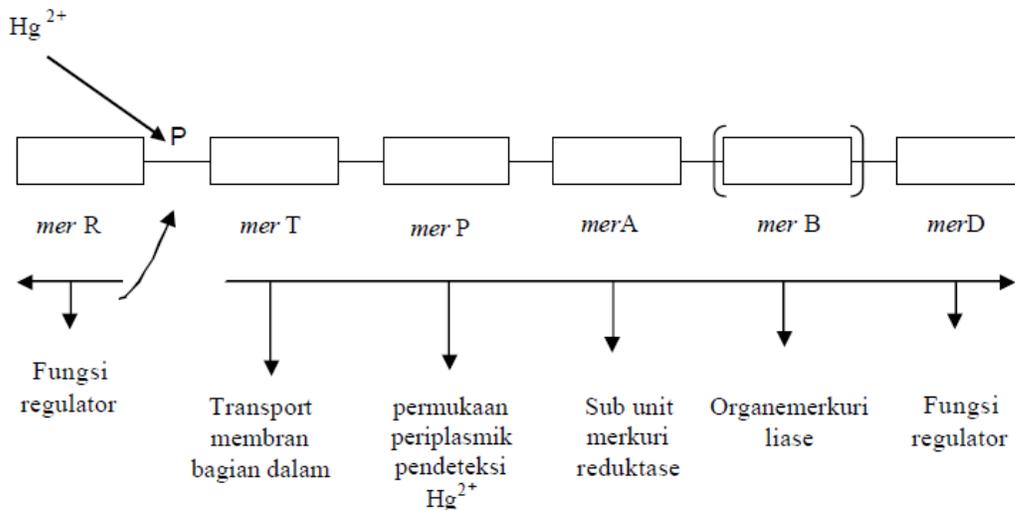
2.4.2 Mekanisme Transformasi Merkuri oleh Bakteri

Mekanisme transformasi merkuri oleh bakteri diawali dari mekanisme resistensi merkuri pada mikroba yang pada dasarnya merupakan reduksi enzimatik Hg^{2+} oleh merkuri reduktase di dalam sitoplasma menjadi logam Hg^0 yang bersifat kurang toksik dibanding Hg^{2+} . Hg^0 tersebut bersifat mudah menguap dan cepat hilang dari lingkungan. Selain merkuri reduktase, beberapa mikroba resisten merkuri juga menghasilkan enzim organomerkuri liase. Organomerkuri liase adalah enzim yang memotong ikatan karbon merkuri dalam senyawa seperti metil merkuri dan fenil merkuri, sehingga Hg^{2+} yang dilepas dan secara bertahap direduksi oleh merkuri reduktase. Proses detoksifikasi merkuri secara umum terdiri dari dua tahap. Tahap pertama, senyawa organomerkuri didegradasi melalui pemecahan secara katalis ikatan C-Hg oleh organomerkuri liase, yang merupakan produk dari gen *merB*. Pada tahap kedua, ion merkuri hasil tahap pertama direduksi secara enzimatik dengan menggunakan enzim merkuri reduktase (hasil dari *merA*) dan mengkonsumsi NADPH. Hasil akhir berupa logam merkuri (Barus, 2007). Proses tersebut terdapat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Proses Detoksifikasi Merkuri oleh Mikroba Resisten Merkuri (Barus, 2007)

Mikroba resisten merkuri merupakan mikroba prokariot dan gen resisten ditemukan pada plasmid dan tranposon. Operon terdiri dari 3 sampai 4 gen struktural dan 2 gen yang menyandikan fungsi regulator yaitu gen *merR* dan *merD*. Struktur dari operon gen *mer* terdiri dari gen *merA* yang menyandi protein pendeteksi Hg^{2+} yang terletak pada permukaan periplasmik dan gen *merB* yang menyandi subunit organomerkuria liase. Pada beberapa Gramnegatif terdapat tambahan fungsi transport yang disandi oleh gen *merC* (Barus, 2007). Model operon *mer* terdapat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Model Operon *mer* (Barus, 2007)

2.5 Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri didapatkan dari sampel yang diambil dari lingkungan tempat bakteri tinggal dan kemudian dipindahkan ke laboratorium dalam kondisi aseptik. Cara yang dilakukan adalah melakukan *streak* dan diinokulasikan dalam sebuah cawan yang berisi media dan kemudian diinkubasi dalam kondisi aerobik di dalam inkubator dengan suhu 55-60°C. Setelah proses inkubasi, akan terbentuk koloni yang berbeda-beda di media dan kemudian dilakukan pemurnian atau purifikasi agar didapatkan koloni bakteri tunggal (Adiguzel *et al.*, 2011).

Proses isolasi memerlukan media yang tepat untuk mendapatkan jenis bakteri yang diinginkan. Terdapat beberapa jenis media yang sering digunakan untuk proses isolasi bakteri resisten merkuri. Menurut Neneng (2007), metode isolasi bakteri resisten merkuri menggunakan media LB atau *Luria Bertani* yang ditambahkan dengan merkuri dalam bentuk $HgCl_2$ dengan beberapa tingkat konsentrasi merkuri. Perlakuan konsentrasi ini dimaksudkan agar dapat melakukan seleksi jenis-jenis bakteri yang dapat bertahan hingga beberapa kali lipat lebih tinggi dari tingkat yang mampu ditoleransi.

Himedia (2015), menyatakan *Luria Bertani* (LB) adalah media yang digunakan untuk pertumbuhan dan memelihara strain rekombinan *E. coli* dan bisa digunakan untuk pertumbuhan teratur mikroorganisme yang tidak terlalu pemilih atau dengan kata lain mikroba dapat digunakan secara luas. Adapun kandungan yang ada pada LB dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Kandungan media *Luria Bertani* (LB) (Himedia, 2015)

Komposisi	g/liter
Hidrolisat enzim kasein	10.000
Ekstrak khamir	5.000
Sodium klorida	10.000
pH akhir (pada 25°C)	7.4±0.2

Ke dalam media *Luria Bertani* kemudian ditambahkan merkuri dengan konsentrasi sesuai dengan kebutuhan pengujian. Tujuan penambahan merkuri adalah untuk menguji hingga konsentrasi berapa bakteri yang diujikan mampu untuk bertahan hidup.

2.6 Seleksi Bakteri

Seleksi bakteri dilakukan dengan cara memilih bakteri dengan aktivitas yang paling baik dalam kondisi tinggi kandungan logam berbahaya yang kemudian dipilih untuk dilanjutkan pada proses berikutnya pada penelitian. Strain yang terbaik adalah strain yang unggul dalam proses

bioremediasi karena strain tersebut mampu berkembang pada keadaan yang sangat panas atau sangat tinggi logam (Tian *et al.*, 2012). Penelitian yang dilakukan oleh Barus (2007), hasil seleksi mikroba pereduksi merkuri pada media LB padat dengan konsentrasi Hg 10 ppm dilanjutkan diseleksi pada media LB cair dengan penambahan konsentrasi Hg 25 ppm, sesudah tumbuh, diuji lagi kemurniannya pada LB padat dengan konsentrasi Hg 25 ppm.

Sesudah ada pertumbuhan diseleksi kembali pada LB cair dengan penambahan konsentrasi Hg 50 ppm. Mikroba yang tumbuh pada media LB cair dengan konsentrasi Hg 50 ppm, diuji lagi kemurniannya pada media LB padat dengan konsentrasi Hg 50 ppm. Hasil penelitian ini ternyata tetap mampu tumbuh mikroba pada media LB cair maupun padat yang sudah diberi konsentrasi Hg sampai 50 ppm. Dalam penelitian ini mikroba ditumbuhkan hanya pada konsentrasi Hg 50 ppm, karena sudah mempunyai kemampuan adaptasi yang optimal untuk mereduksi limbah cair merkuri pada bioreaktor (Barus, 2007).

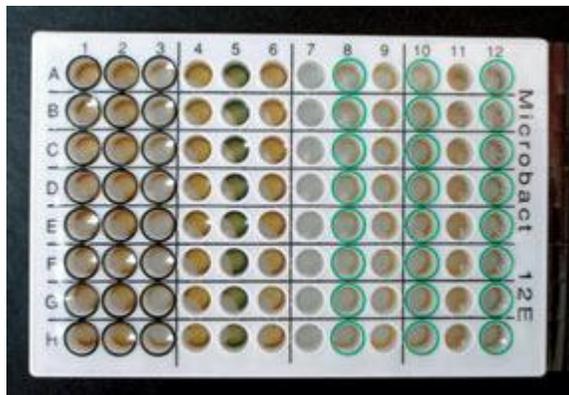
2.7 Identifikasi Bakteri

Proses identifikasi dilakukan dengan melakukan percobaan dalam hal morfologi bakteri berupa kondisi, pengecatan, dan struktur sel serta dilakukan uji fisiologi lain (Retnowati, 2011). Teknik tradisional dengan menggunakan pewarnaan Gram, proses biokimia melalui metode kultur mempunyai kekurangan, diantaranya hanya dapat untuk organisme yang ditumbuhkan *in vitro* dan menunjukkan sifat unik biokimia yang tidak sesuai untuk susunan yang telah digunakan sebagai ciri banyak kelompok mikroorganisme. Akhir-akhir ini, metode fenotip untuk identifikasi dan klasifikasi bakteri lebih banyak digunakan misalnya PCR *real time* dan *microarrays* yang juga metode molekular yang sering digunakan karena lebih sensitif (Mohamad *et al.*, 2014).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Pepi *et al.* (2011), setelah pertumbuhan isolat bakteri pada cawan Petri yang mengandung agar, morfologis koloni diamati dengan stereomikroskop (Optika, mod 620). Penentuan Gram menggunakan kit pewarnaan Gram, aktivitas katalase dan oksidase ditentukan melalui cara Smibert dan Krieg (1981). Morfologi sel dianalisis dengan mikroskop (Nikon, mod. Eclipse E200). Untuk *sequencing* 16S rDNA strain bakteri yang diisolasi, koloni tunggal disuspensi dalam 50 µl air suling dan diberi perlakuan selama 5 menit pada suhu 100°C. Kemudian dilakukan amplifikasi 16S rRNA menggunakan 10 ng DNA genom.

Teknik untuk identifikasi memiliki beberapa alternatif yang dapat digunakan. Selain cara di atas, cara lain yang dapat digunakan untuk proses identifikasi adalah menggunakan kit *microbact*. Penelitian yang dilakukan oleh Dagdag dan Sukoso (2015) yang menggunakan kit *microbact* dalam proses identifikasi bakteri yang berasal dari Lumpur Lapindo, menunjukkan

bahwa mikroba yang teridentifikasi adalah jenis *Pseudomonas pseudomallei* dengan ketepatan persentase sebesar 99,48% dan hasilnya adalah sama antara menggunakan kit *microbact* dengan menggunakan uji 16S-rDNA yang dilakukan di Universitas Kagoshima. Gambar 2.4 menunjukkan kit *microbact* untuk identifikasi bakteri.



Gambar 2.4 *Microbact Kit* untuk Identifikasi Bakteri
Sumber Gambar: (Oxoid, 2013)

2.8 Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Bioremediasi oleh Bakteri

Keefektifan bioremediasi didasarkan pada keadaan lingkungan, yaitu lingkungan di wilayah yang tercemar maupun di luar lokasi tercemar. Kondisi pertama yang mempengaruhi yaitu suhu, semakin tinggi suhu menyebabkan menurunnya viskositas, kemudian adalah oksigen karena adalah unsur penting untuk proses degradasi, kemudian adalah nutrient. Hal ini karena nutrisi adalah unsur penting untuk kelangsungan hidup mikroorganisme, dan yang terakhir adalah pH yang harus disesuaikan dengan kondisi pH yang diperlukan oleh mikroorganisme (Moenir, 2010).

2.8.1 Jenis Media

Jenis media merupakan faktor yang harus diperhatikan dalam proses bioremediasi. Hal ini dikarenakan apabila tanpa adanya media maka pertumbuhan mikroorganisme akan terhambat. Kecepatan pertumbuhan mikroorganisme sangat tergantung pada jenis nutrisi dan aktivitas kimia komponen yang ada pada tempat hidup mikroorganisme. Pada penelitian yang dilakukan oleh Rein *et al.* (2016), mengenai jenis dan komposisi media yang digunakan untuk keberhasilan proses bioremediasi diketahui bahwa jenis dan komposisi media sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Mikroorganisme yang ditumbuhkan pada jenis dan jenis media yang sesuai pertumbuhannya lebih cepat dan lebih baik bila dibandingkan dengan mikroorganisme dengan jenis dan jenis media yang tidak sesuai.

Pada percobaan yang dilakukan oleh Mena *et al.* (2016), media yang digunakan dalam proses bioremediasi adalah menggunakan media *Luria Bertani* (dengan komposisi NaCl 10 g,

ekstrak khamir 5 g, dan pepton kasein 10 g), agar bacteriological, dan glukosa sebagai sumber karbon. Pada dasarnya setiap mikroorganisme memiliki kebutuhan media yang berbeda-beda. Penelitian yang dilakukan oleh Santini *et al.* (2015), menunjukkan bahwa media makro utama yang diperlukan untuk aktivitas biologis makhluk hidup khususnya mikroorganisme adalah Nitrogen (N). Untuk media mikro yang diperlukan contohnya adalah Nitrat, Potasium, Magnesium, Mangan, dan Boron.

2.8.2 Kecepatan Aerasi

Kecepatan aerasi merupakan faktor kedua yang berpengaruh terhadap proses bioremediasi limbah merkuri. Dalam aplikasinya, aerasi diberikan untuk memberikan oksigen dalam proses bioremediasi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Yang *et al.* (2016), menunjukkan bahwa pertumbuhan mikroorganisme yang diberikan oksigen dengan jumlah tertentu secara injeksi dari udara atau melalui aerasi pertumbuhannya lebih baik dan lebih cepat dibandingkan dengan mikroorganisme yang kecepatan aerasinya tidak tepat atau bahkan tanpa penambahan aerasi. Pada penelitian yang dilakukan Kang *et al.* (2015), dalam proses bioremediasi membutuhkan adanya oksigen untuk pertumbuhan mikroorganisme dimana tanpa kehadiran oksigen maka proses bioremediasi tidak dapat berjalan.

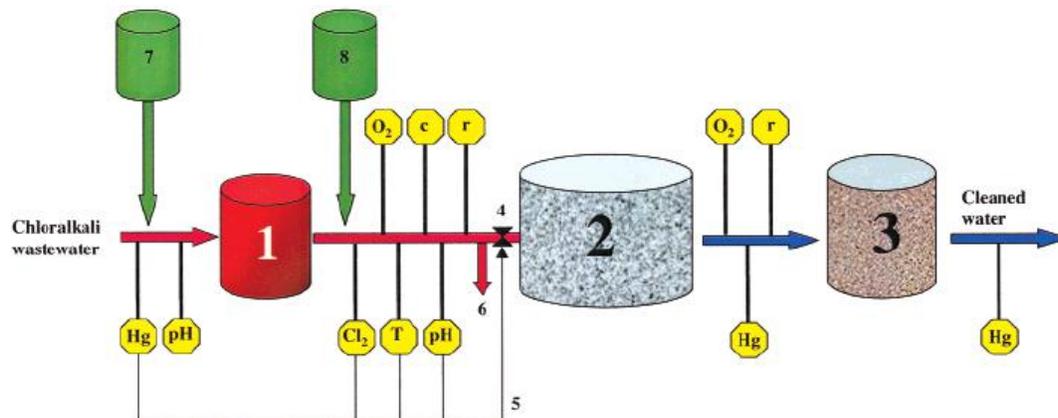
Kurangnya oksigen atau kecepatan aerasi yang diberikan tidak sesuai menyebabkan terganggunya pertumbuhan mikroorganisme, seperti penelitian yang dilakukan oleh Das and Kumar (2016), dimana kehadiran oksigen yang tidak sesuai menyebabkan terganggunya proses bioremediasi dikarenakan mikroorganisme yang berperan sebagai agen bioremediasi menjadi stres. Proses bioremediasi yang optimal adalah ketersediaan oksigen yang sesuai bagi pertumbuhan mikroorganisme. Selain itu pemberian aerasi yang terus menerus dan sesuai bagi kebutuhan mikroorganisme tersebut.

2.9 Bioreaktor

Bioreaktor atau reaktor biologis adalah tempat berlangsungnya perubahan suatu zat akibat adanya reaksi kimia dalam proses tangki fermentasi yang dikendalikan oleh mikroba atau enzim dalam lingkungan yang terkendali. Fermentasi mempunyai pengertian suatu proses terjadinya perubahan kimia pada suatu substrat organik melalui aktifitas enzim yang dihasilkan oleh mikroba. Pada dasarnya reaktor pengolahan secara biologis dapat dibedakan atas dua jenis (Barus, 2007). Mikroba tumbuh dan berkembang dalam keadaan tersuspensi, dan mikroba membentuk lapisan film atau biofilm untuk melekatkan dirinya. Pertumbuhan mikroba akan melekat bila mikroba tumbuh pada medium padat sebagai pendukung dan aliran limbah kontak

dengan organisme. Media pendukung dapat berupa batu-batu besar, karang, lembaranplastik bergelombang atau cakram yang berputar. Adapun contoh unit pertumbuhan melekat adalah filter menetes (*trickling filter*), cakram biologis berputar dan filter *anaerobik*. Gambar 2.4 merupakan desain rancangan bioeaktor yang digunakan dalam penghilangan merkuri dari limbah cair oleh mikroorganisme yang dilakukan oleh Wagner-Dobler (2000). Pada gambar tersebut cemaran merkuri yang berasal dari limbah penambangan dan limbah cair industri yang memiliki dampak pencemaran dalam skala luas pada tanah dan sedimen dilakukan penelitian untuk menghilangkan merkuri tersebut.

Gambar skala pilot tersebut tabung nomor 1 menunjukkan limbah cair yang masuk, dimana terlebih dahulu pH limbah cair harus dinetralkan terlebih dahulu menggunakan NaOH, kemudian dalam aliran limbah sebelum menuju ke tabung 2 perlu diberikan aliran oksigen dengan pengaturan kecepatan aerasi yang sesuai bagi pertumbuhan mikroorganisme. Dalam penelitiannya Wagner-Dobler menggunakan mikroorganisme dengan jenis *Pseudomonas putida* dan *Pseudomonas stutzeri*. Media yang digunakan, sebanyak 7 L media (sukrosa 200 g/L, ekstrak khamir 200 g/L, NaCl 30 g/L, Hg (II) 1 mg/L, dan pH netral atau pH 7).Konsentrasi merkuri diukur sebelum dan sesudah proses penghilangan menggunakan bioreaktor untuk mengetahui berapa banyak merkuri yang dapat dihilangkan menggunakan bioreaktor.

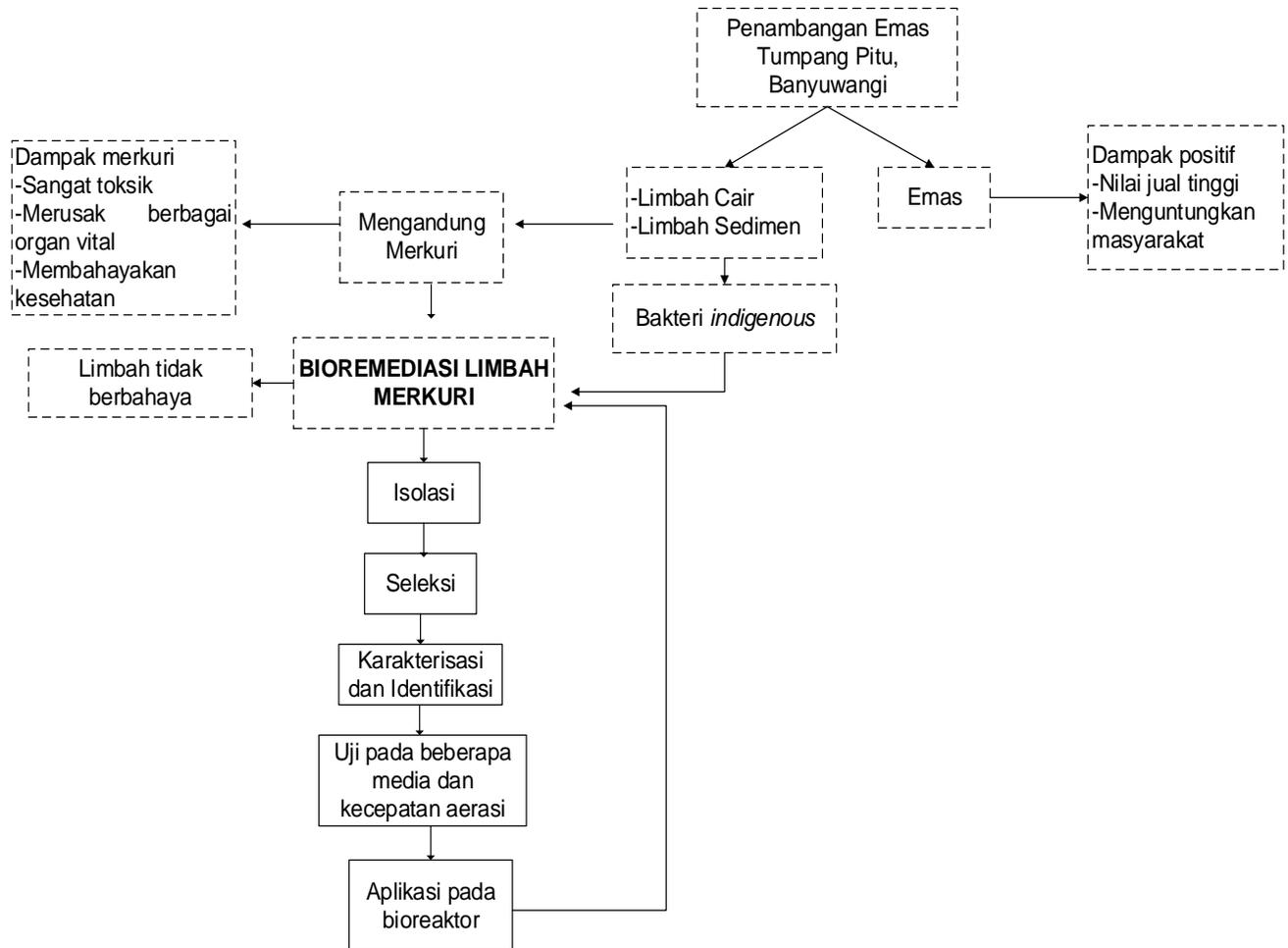


Gambar 2.4 Rancangan Bioreaktor Penghilang Merkuri (Wagner Dobler, 2000)

BAB III
KERANGKA KONSEP PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep

Kerangka konsep dari penelitian mengenai bioremediasi limbah merkuri dapat dilihat pada Gambar 3.1 berikut ini.



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

3.2 Penelitian Terdahulu

Pada penelitian bioremediasi limbah merkuri dari DAS Sungai Kahayan Kalimantan Tengah yang dilakukan oleh Neneng (2007), ditemukan 17 bakteri resisten merkuri dan mampu untuk menurunkan konsentrasi merkuri sebesar rata-rata 99,95%. Bakteri yang potensial untuk melakukan bioremediasi limbah merkuri adalah jenis *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumonia* dan kedua jenis bakteri tersebut melakukan bioremediasi limbah merkuri dari limbah penambangan emas di DAS Kahayan, Kalimantan Tengah secara bersama dan memiliki konsentrasi penurunan merkuri dalam bioreaktor sebesar 94,57%.

Sebelum diaplikasikan di dalam bioreaktor, terlebih dahulu bakteri tersebut diuji pada beberapa macam media dan kecepatan aerasi, media yang digunakan dalam penelitian oleh Neneng (2007) tersebut memiliki empat jenis media, yaitu *Luria Bertani*, modifikasi LB, modifikasi yeast + sukrosa, dan media alami yang berupa air kelapa tua dengan perbandingan 50%:50%, dan hasilnya adalah media yang paling baik yaitu media air kelapa dengan perbandingan 50%:50% dibandingkan dengan media yang lainnya. Kecepatan aerasi yang dilakukan percobaan yaitu sebesar 0, 1, dan 2 vvm dan hasil yang terbaik adalah dengan kecepatan aerasi sebesar 2 vvm.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Barus (2007), dengan menggunakan sampel limbah dari penambangan emas di wilayah Pongkor, Jawa Barat dapat diisolasi bakteri dengan jenis *P. psedomallei* yang dapat menurunkan konsentrasi merkuri dalam bioreaktor sebesar 80% dengan menggunakan media *Luria Bertani* sebagai media yang diberikan secara terus menerus di dalam bioreaktor.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, maka penelitian yang akan dilakukan yaitu bioremediasi limbah merkuri dari limbah penambangan emas Tumpang Pitu, Banyuwangi mengambil perlakuan yang terbaik yang dilakukan oleh Neneng (2007) yaitu menggunakan perlakuan media berupa air kelapa:gula 50%:50%, media *Luria Bertani*, serta modifikasi media *Luria Bertani* yaitu media ekstrak ragi dengan gula. Serta perlakuan kecepatan aerasi 2 vvm dan dilakukan kombinasi dengan kecepatan aerasi yang lebih tinggi yaitu 3 vvm dan 4 vvm.

3.3 Hipotesis

1. Diduga terdapat bakteri dari pembuangan limbah tambang emas Tumpang Pitu Banyuwangi yang berpotensi untuk mengurangi konsentrasi merkuri pada limbah.
2. Diduga kemampuan bakteri pereduksi limbah merkuri dari limbah tambang emas Tumpang Pitu, Banyuwangi memiliki persentase yang mampu menurunkan kadar merkuri.

3. Diduga terdapat faktor a) jenis media, b) kecepatan aerasi, serta interaksinya yang terbaik dan berpengaruh terhadap efektivitas bioremediasi oleh isolat bakteri pereduksi merkuri dari limbah tambang emas Tumpang Pitu, Banyuwangi.
4. Diduga sistem bioreaktor buatan mampu untuk mengurangi konsentrasi merkuri pada limbah.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2016 sampai dengan Juni 2017 di Laboratorium Bioindustri Jurusan Teknologi Industri Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, UPT Layanan Analisa dan Pengukuran Laboratorium jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, dan Laboratorium Kualitas Air Perum Jasa Tirta I Malang.

4.2 Alat dan bahan

4.2.1 Alat

Peralatan dan instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Laminar Air Flow* dengan merk Lokal, autoklaf dengan merk Hirayama HVE-50, oven dengan merk Memmert, cawan Petri dengan merek pyrex, tabung reaksi dengan merek pyrex, inkubator dengan merk Memmert Churt, pipet ukur dengan merk pyrex, lemari es dengan merk LG, jarum ose, neraca digital dengan merk sartorius, Beaker glass dengan merk pyrex, spatula, Erlenmeyer dengan merk pyrex, gelas ukur dengan merk pyrex, labu ukur dengan merek pyrex, mikropipet dengan merk Accumax pro, dan aerator.

Alat yang digunakan untuk analisis yaitu Mikroskop cahaya dengan merk Yazumi, pH meter dengan merk Eutech, satu set alat AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*) merk Shimadzu AA-6200, kaca preparat merk sail brand, Bunsen, serta kit *microbact*.

4.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah sampel air limbah yang diperoleh dari Tailing Tambang Emas Banyuwangi Jawa Timur, tisu, kertas payung, karet, kapas, plastik *wrap*, *aluminium foil*, masker, sarung tangan, spidol marker, larutan standar merkuri, aquades, spiritus, alkohol 70%, plastik tebal berperekat, HCl, NaOH, HNO₃ media: *Luria Bertani* (LB), Agar; glukosa, sukrosa, pepton, NaCl, HgCl₂ produksi Merck Jerman, reagen untuk uji Gram.

4.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini yaitu:

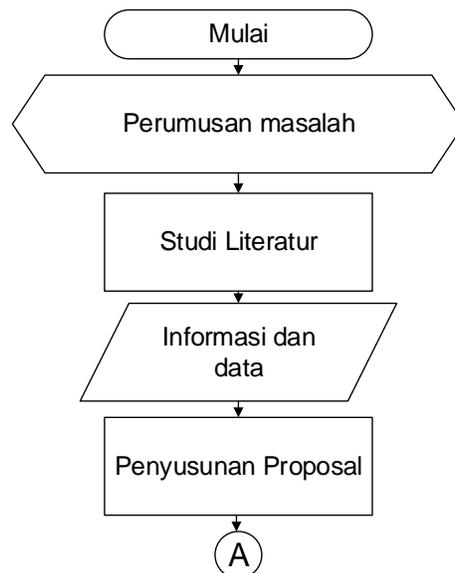
1. Sampel yang diambil dari penambangan di daerah Tumpang Pitu yang berasal dari aliran pembuangan limbah dari penambangan emas dengan tiga titik berdasarkan 3 pemilik

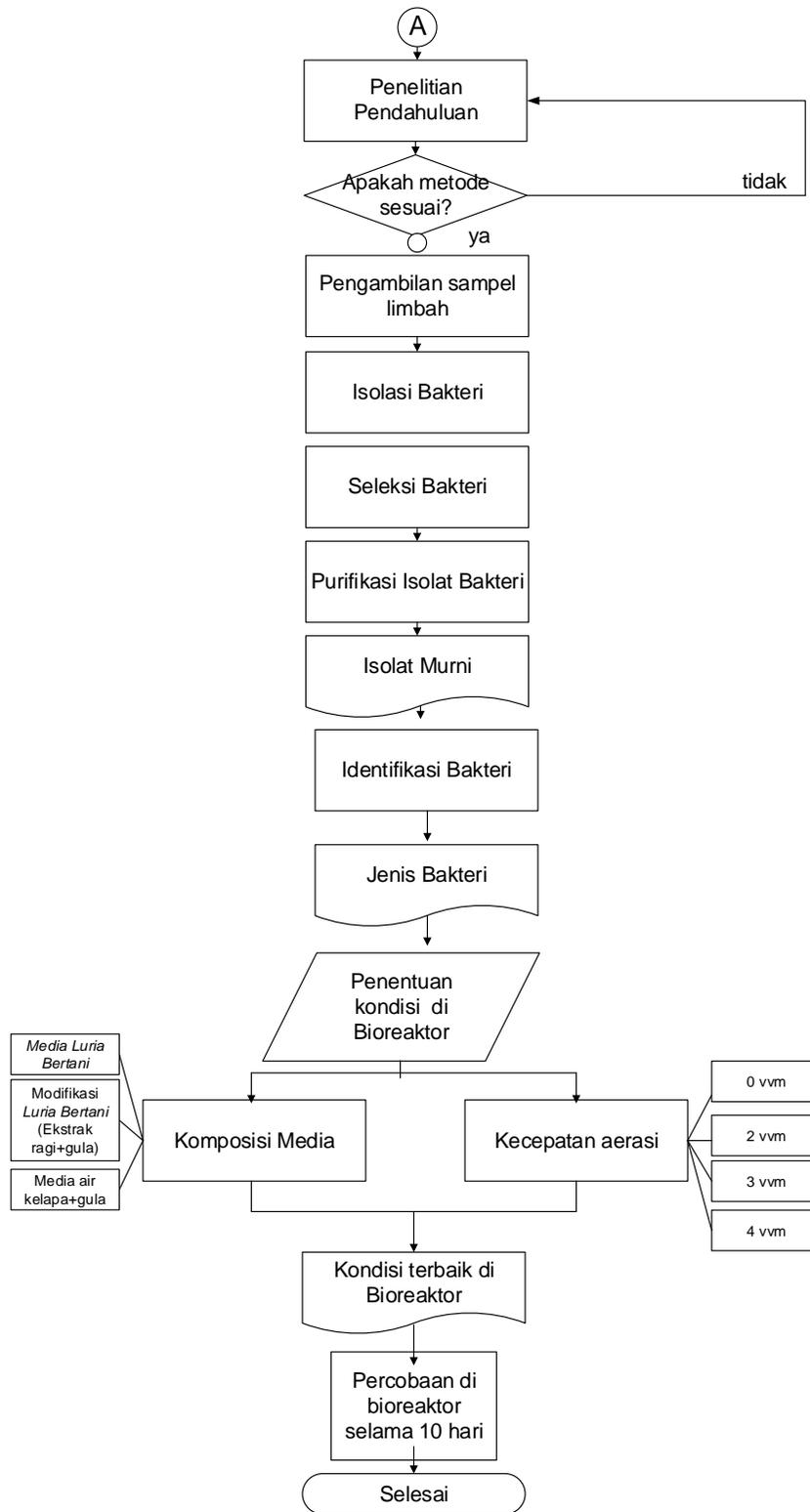
penambangan emas berbeda yang berjarak masing-masing titik pengambilan sampel adalah sekitar 100 meter.

2. Pengujian bioremediasi merkuri pada limbah terkontaminasi merkuri, limbah berasal dari Sungai Brantas, Malang, Jawa Timur yang telah ditambahkan merkuri dan dilakukan menggunakan bioreaktor sederhana.
3. Selama berlangsungnya penelitian, sampel cair dan sedimen diletakkan di lemari es dengan suhu 15°C untuk menghindari rusaknya sampel.
4. Pada penelitian ini tidak dilakukan penelitian mengenai mekanisme pemecahan merkuri oleh bakteri.
5. Aplikasi dari bioreaktor dilakukan dalam skala laboratorium, sehingga belum bisa dilakukan pada skala lapang.
6. Bioreaktor sederhana dirancang secara fungsional sehingga tidak memperhatikan kriteria rancang bangun secara struktural yang mendetail dan terperinci.

4.4 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian yang dilakukan yang pertama adalah pengambilan sampel, kemudian dilakukan isolasi bakteri, seleksi bakteri, identifikasi bakteri, melakukan uji bakteri terpilih pada beberapa media dan kecepatan aerasi, serta yang terakhir adalah aplikasi pada bioreaktor. Adapun diagram alir penelitian dapat dilihat pada Gambar 4.1.





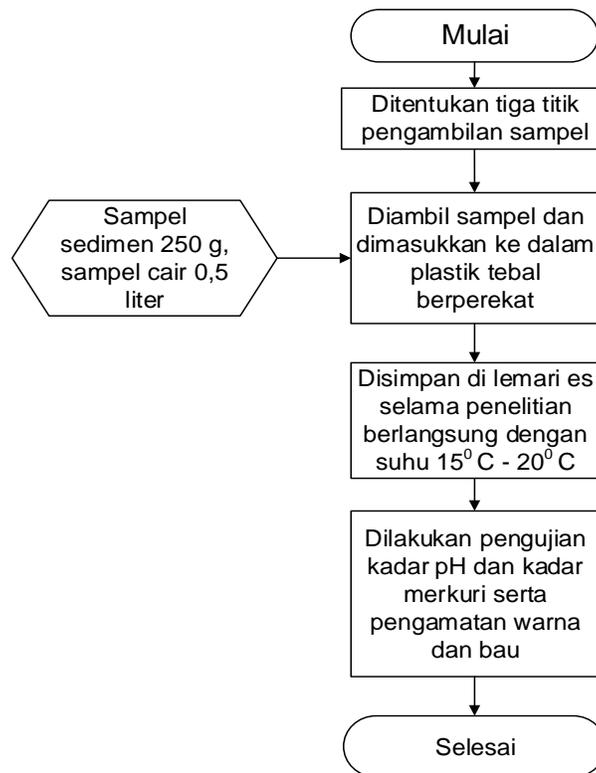
Gambar 4.1 Diagram Alir Pelaksanaan Penelitian

4.4.1 Pengambilan Sampel Limbah Penambangan Emas

Pengambilan sampel limbah penambangan emas terletak di Tumpang Pitu, Banyuwangi. Didapatkan tiga sampel limbah cair dan tiga sampel limbah sedimen dari masing-masing tiga titik yang telah ditentukan. Pengambilan sampel menggunakan cara sampling. Prosedur dan teknik pengambilan sampel adalah (Mahbub *et al.*, 2016):

1. Ditentukan tiga lokasi yang akan diambil sampelnya. Adapun peta lokasi terdapat di Lampiran 1.
2. Diambil sampel cair yang diambil berjumlah masing-masing 0,5 liter dan sampel sedimen 250 gram dan dimasukkan ke dalam plastik tebal berperekat.
3. Dilakukan analisis konsentrasi pH, konsentrasi merkuri, serta pengamatan warna dan bau
4. Dimasukkan ke dalam lemari pendingin selama penelitian berlangsung.

Diagram alir pengambilan sampel dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Diagram Alir Pengambilan dan Penanganan Sampel

4.4.2 Isolasi Bakteri

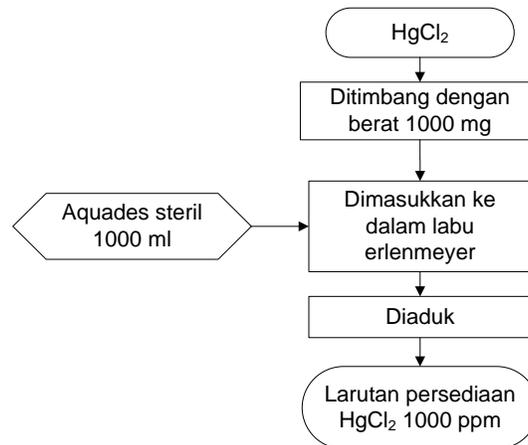
Tahapan selanjutnya adalah isolasi bakteri yang bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri yang resisten terhadap merkuri. Cara yang dapat dilakukan adalah dengan mencampur media LB dalam bentuk cair (*Luria Bertani Broth*) dengan merkuri dalam bentuk $HgCl_2$ yang diberikan dalam beberapa tingkat konsentrasi. Hal ini dimaksudkan untuk menyeleksi jenis-jenis

bakteri yang dapat bertahan hingga beberapa kali lipat lebih tinggi dari tingkat yang mampu ditoleransi. Pada penelitian tahap II terdapat tiga tahapan, yaitu pembuatan larutan stok merkuri, pembuatan media *Luria Bertani*, dan isolasi isolat bakteri. Adapun masing-masing tahapannya yaitu:

Pembuatan larutan stok merkuri 1000 ppm (Modifikasi dari Ahmet *et al.*, 2014)

1. Bahan-bahan disiapkan terlebih dahulu, yaitu HgCl_2 dan aquades steril.
2. Bahan tersebut kemudian ditimbang sebanyak 1 gram HgCl_2 atau bentuk dasar merkuri yang kemudian dicampur dengan aquades steril sebanyak 1000 ml atau 1 liter.
3. Kedua bahan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer maka akan menjadi larutan persediaan atau stok HgCl_2 sebesar 1000 ppm.

Diagram alir seperti pada Gambar 4.3.

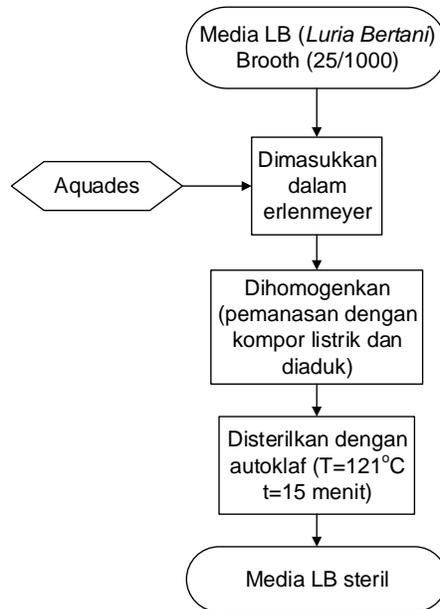


Gambar 4.3 Diagram Alir Persiapan Persediaan Larutan Standar HgCl_2 1000 ppm

Pembuatan Media LB (*Luria Bertani*) Brooth (Modifikasi dari Himedia, 2011)

1. Media *LB Broth*, disiapkan dengan komposisi 10 g tripton, 5 g yeast ekstrak, 10g Nacl per liter aquades (Himedia, 2011). Proporsi dari media LB adalah 25/1000, atau dengan maksud setiap 1000 ml aquades membutuhkan media LB seberat 25 gram.
2. Kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang dicampur dengan aquades.
3. Campuran antara aquades dengan media LB kemudian diaduk menggunakan spatula
4. Agar lebih bercampur, kemudian dilakukan penghomogenan dengan cara dipanaskan dengan kompor listrik dan diaduk.
5. Kemudian dilakukan sterilisasi dengan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit maka akan didapatkan media LB steril.

Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 4.4.

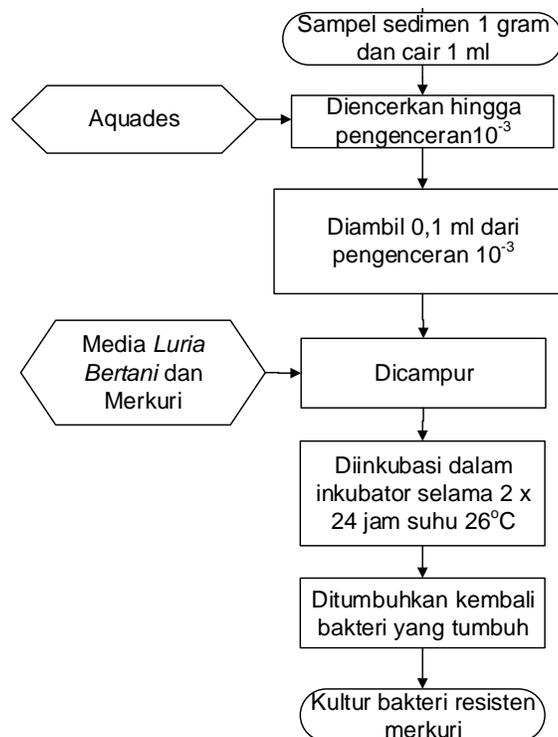


Gambar 4.4 Preparasi Media Luria Bertani

4.4.2 Isolasi Isolat Bakteri (Modifikasi dari Pepi *et al.*, 2011)

1. Langkah pertama yang dilakukan yaitu menyiapkan sampel sedimen dan sampel cair dari limbah tambang emas. Kedua jenis sampel tersebut kemudian ditimbang dengan berat sampel sedimen 1 gram dan sampel cair 1 ml.
2. Kemudian dilakukan pengenceran menggunakan aquades hingga pengenceran 10^{-3} .
3. Diambil sebanyak 0,1 ml dari pengenceran 10^{-3} .
4. Kemudian sebanyak 0,1 ml yang diambil dari pengenceran tersebut dimasukkan dalam media *Luria Bertani* yang telah ditambahkan merkuri dimana merkuri diambil dari persediaan merkuri yang telah dibuat sebelumnya. Adapun konsentrasi merkuri awal yang digunakan untuk proses isolasi adalah merkuri tertinggi di sedimen pembuangan tambang emas Tumpang Pitu sebesar 0,063 ppm.
5. Kemudian dilakukan inkubasi selama 2 x 24 jam dengan suhu 26° - 28° C.
6. Bakteri yang tumbuh pada konsentrasi tersebut, maka dilakukan pengujian kemampuan tumbuh pada konsentrasi merkuri ditingkatkan terus hingga konsentrasi tertinggi merkuri yang dapat ditumbuhi bakteri, yaitu dengan cara mengambil kultur pada langkah 5 sebanyak 1 ml kemudian dimasukkan pada media LB dengan kandungan merkuri sebesar 0, 5, 10, 15, 20, 50, 100, 120, 130, 140, dan 150 ppm.

Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 4. 5.



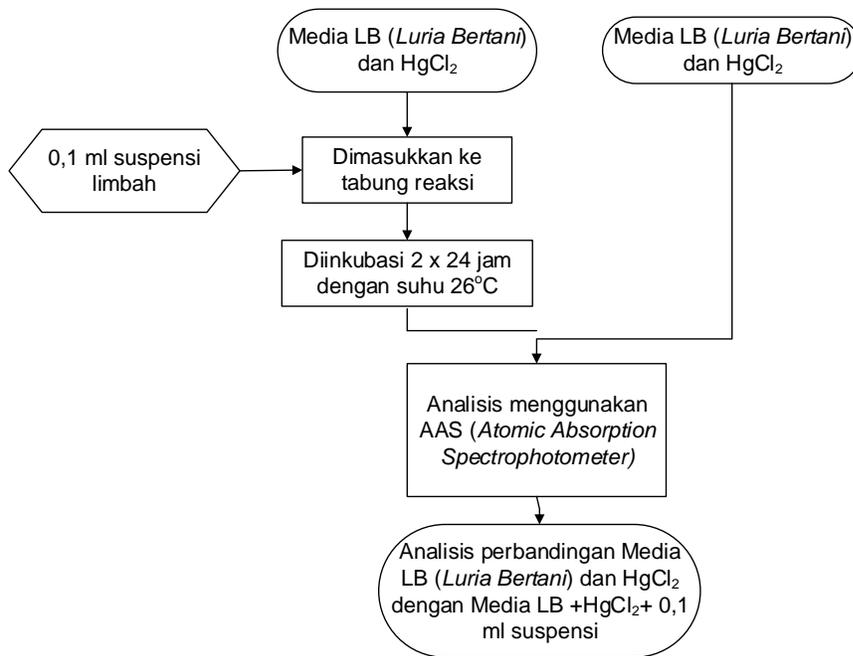
Gambar 4.5 Isolasi Kultur Bakteri

4.4.3 Seleksi bakteri Pereduksi Merkuri

Setelah dilakukan proses isolasi, kemudian bakteri resisten merkuri diuji kemampuannya dalam melakukan reduksi merkuri. Tahapan yang dilakukan yaitu:

1. Tahap pertama yang dilakukan dalam seleksi bakteri pereduksi merkuri yaitu menyiapkan media LB yang dicampur dengan HgCl_2 dalam 2 tabung yang berbeda.
2. Kemudian salah satu dari 2 tabung tersebut dicampur dengan 0,1 ml suspensi limbah yang mengandung bakteri resisten merkuri yaitu pada kultur dengan konsentrasi merkuri tertinggi dimana bakteri masih bisa hidup.
3. Campuran dari media LB, HgCl_2 dan suspensi limbah tersebut kemudian diinkubasi selama 2 x 24 jam dengan suhu 26°C
4. Kemudian kedua tabung tersebut dianalisis menggunakan alat AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*)
5. Hasil akhirnya adalah diketahui perbandingan antara media LB dan HgCl_2 dengan media LB + HgCl_2 + 0,1 ml suspensi atau mengetahui perbandingan media LB dan HgCl_2 sebelum dan sesudah dilakukan inokulasi dengan 0,1 ml suspensi limbah.

Prosedur yang dilakukan seperti pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Diagram Alir Seleksi Bakteri

Pengukuran daya reduksi merkuri dengan menggunakan perbandingan konsentrasi merkuri di media yang mengandung HgCl_2 sebelum dan sesudah diinokulasikan dengan isolat bakteri yang resisten terhadap merkuri menggunakan AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*) dengan prosedur yaitu:

1. Diambil sampel sebanyak 100 ml
2. Ditambahkan 5 ml HNO_3 pekat dan beberapa batu didih, kemudian dipanaskan perlahan hingga volume sampel mencapai $\pm 15\text{-}20$ ml
3. Ditambahkan lagi 5 ml HNO_3 pekat, kemudian dipanaskan hingga warna endapan dalam sampel menjadi agak putih atau warna sampel menjadi jernih.
4. Dituang ke dalam labu uku 100 ml, wadah pemanas dibilas dengan air suling dan air bilasan dimasukkan ke dalam labu ukur tersebut sampai tanda.
5. Ditambahkan bahan penunjang uji (HCl 5M, NaBH_4)
6. Konsentrasi Hg diukur dengan AAS

Adapun indikator daya reduksi merkuri adalah adanya penurunan sebelum dan sesudah masa inkubasi. Bakteri yang mampu untuk mereduksi merkuri ini disebut dengan bakteri pereduksi merkuri. Melakukan pemurnian dengan media LB apabila telah didapatkan bakteri yang terbukti mampu mereduksi merkuri. Pemurnian dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan bakteri sehingga diperoleh jenis bakteri yang tidak bercampur dengan jenis yang lain sehingga

akan mempermudah untuk melakukan proses selanjutnya. Tahapan yang dilakukan dalam proses pemurnian adalah:

1. Langkah pertama yang dilakukan adalah menyiapkan suspensi yang diambil dari media LB, dimana suspensi yang dimaksud adalah media LB yang telah berisi dengan campuran berbagai macam bakteri dari limbah penambangan emas.
2. Kemudian suspensi tersebut disebar di media LA (*Luria Agar*) dengan konsentrasi merkuri yang sama.
3. Setelah disebar, kemudian diinkubasi dengan suhu 26°C selama 2 x 24 jam.
4. Apabila terdapat bentukan koloni bakteri, maka dilakukan penggoresan kembali hingga didapatkan isolat bakteri yang murni, sehingga hasil akhirnya adalah isolat bakteri murni.

Cara untuk melakukan pemurnian dapat dilihat pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Pemurnian Isolat Bakteri

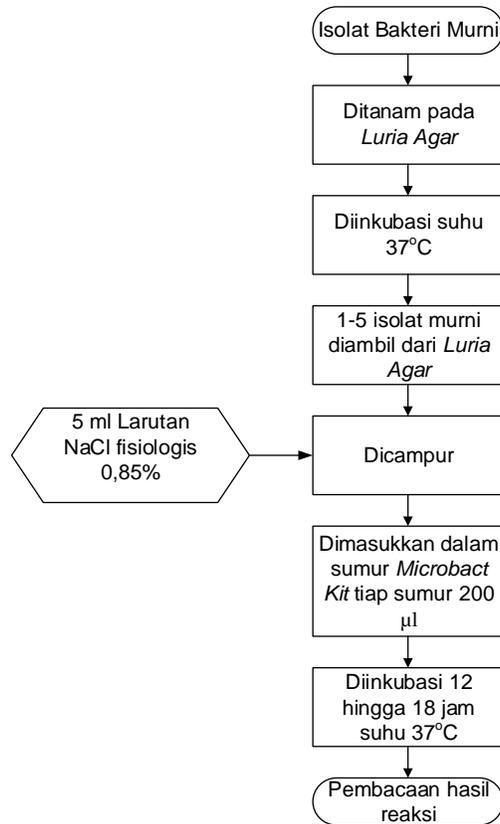
4.4.4 Karakterisasi dan Identifikasi Isolat Bakteri

Langkah selanjutnya adalah melakukan karakterisasi dan identifikasi isolat bakteri. Pada penelitian ini, proses identifikasi menggunakan alat *Microbact* Kit dengan tipe GNB 12A/ 12E, yaitu suatu alat yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri dengan melihat hasil parameter-parameter yang ada dan dimasukkan dalam sistem untuk mengetahui jenis bakteri yang diidentifikasi.

Tahapan dalam penggunaan *Microbact Kit* adalah:

1. Isolat murni yang telah didapat disiapkan
2. Isolat tersebut kemudian ditumbuhkan pada media *Luria Agar* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
3. Setelah diinkubasi, sebanyak 1-5 koloni murni diambil dari media agar menggunakan jarum ose.
4. Kemudian dimasukkan dalam larutan 5 ml NaCl fisiologis 0,85%.
5. Larutan NaCl yang berisi sel bakteri tersebut kemudian dimasukkan dalam sumur *Microbact Kit* dimana setiap sumuran diisi 200 µl.
6. Lalu lempeng *Microbact Kit* selanjutnya diinkubasi dalam waktu 12 hingga 18 jam dengan suhu 37°C.
7. Setelah dilakukan inkubasi, dilakukan pembacaan hasil reaksi yang tampak pada lempeng *Microbact Kit*.

Parameter yang diuji adalah semua uji reaksi terhadap gula, seperti glukosa, mannitol, sukrosa, laktosa, arabinose, dan sejenisnya dimana akan menampakkan warna kuning untuk reaksi positif (+) dan warna biru untuk reaksi negatif (-). Pada parameter uji indol, V-P, dan TDA, terlebih dahulu ditambahkan reagen sebelum membaca hasilnya. Apabila terjadi perubahan warna setelah penambahan reagen maka reaksi positif (+). Begitu pula sebaliknya. Berdasarkan reaksi negatif dan positif tersebut, diperoleh hasil penjumlahan angka *octal* pada lembar data. Kemudian angka tersebut dimasukkan ke dalam database pada program *Microbact system*, untuk mendapatkan informasi mengenai spesies dan tingkat kemiripan dengan ciri-ciri spesies yang sudah ada di database. Diagram alir penggunaan kit *microbact* terdapat pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9 Diagram Alir Penggunaan *Microbact Kit* (Oxoid, 2013)

4.4.5 Uji pada Beberapa Media dan Kecepatan Aerasi

a. Rancangan Penelitian

Penelitian dirancang dengan menggunakan Rancangan Acak Tersarang, yang terdiri dari 2 faktor, dimana faktor 1 adalah jenis media dengan tiga jenis, yaitu jenis A, jenis B, dan jenis C sedangkan faktor kedua adalah faktor kecepatan aerasi dengan empat level, yaitu aerasi 0 vvm, aerasi 2 vvm, aerasi 3 vvm, dan aerasi 4 vvm. Masing-masing perlakuan kemudian diulang 3 kali, sehingga terdapat 36 kali percobaan.

Faktor I (M) adalah jenis media yang terdiri dari:

M_1 = Media Jenis A (Media *Luria Bertani*)

M_2 = Media Jenis B (Modifikasi media *Luria Bertani* (Ekstrak ragi dan gula pasir))

M_3 = Media Jenis C (media Air kelapa dan gula)

Faktor II (A) adalah kecepatan aerasi dengan 4 level perlakuan

A_0 = Aerasi 0 vvm

A_1 = Aerasi 2 vvm

A_2 = Aerasi 3 vvm

A₃ = Aerasi 4 vvm

Kombinasi perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Rancangan Acak Tersarang

Jenis Media (M)	Jenis A (M ₁)				Jenis B (M ₂)				Jenis C (M ₃)			
Kecepatan Aerasi (vvm) (A)	0 A _{1a}	2 A _{1b}	3 A _{1c}	4 A _{1d}	0 A _{2a}	2 A _{2b}	3 A _{2c}	4 A _{2d}	0 A _{3a}	2 A _{3b}	3 A _{3d}	4 A _{4d}
Perlakuan	M ₁ A _{1a}	M ₁ A _{1b}	M ₁ A _{1c}	M ₁ A _{1d}	M ₂ A _{2a}	M ₂ A _{2b}	M ₂ A _{2c}	M ₂ A _{2d}	M ₃ A _{3a}	M ₃ A _{3b}	M ₃ A _{3d}	M ₃ A _{4d}

Keterangan:

M₁A_{1a} : Media jenis A kecepatan aerasi 0 vvm

M₁A_{1b} : Media jenis A kecepatan aerasi 2 vvm

M₁A_{1c} : Media jenis A kecepatan aerasi 3 vvm

M₁A_{1d} : Media jenis A kecepatan aerasi 4 vvm

M₂A_{2a} : Media jenis B kecepatan aerasi 0 vvm

M₂A_{2b} : Media jenis B kecepatan aerasi 2 vvm

M₂A_{2c} : Media jenis B kecepatan aerasi 3 vvm

M₂A_{2d} : Media jenis B kecepatan aerasi 4 vvm

M₃A_{3a} : Media jenis C kecepatan aerasi 0 vvm

M₃A_{3b} : Media jenis C kecepatan aerasi 2 vvm

M₃A_{3c} : Media jenis C kecepatan aerasi 3 vvm

M₃A_{3d} : Media jenis C kecepatan aerasi 4 vvm

4.4.6 Pelaksanaan Uji

Pengujian pada beberapa jenis media dan kecepatan aerasi prosedurnya adalah:

1. Pada perlakuan dengan penambahan media dipersiapkan media steril sebanyak 200 ml setiap unit yang berupa:

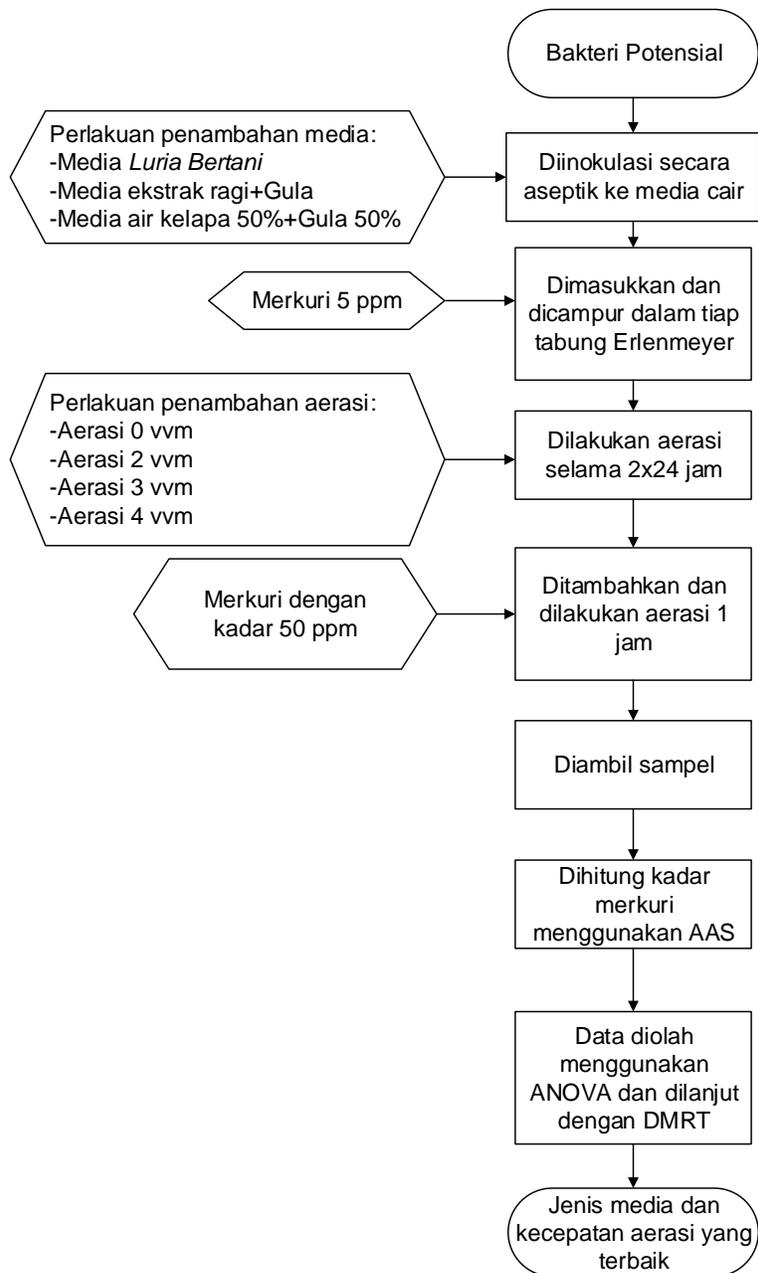
-Media jenis A: Media *Luria Bertani* (perbandingannya 25/1000 dengan aquades)

-Media jenis B: Modifikasi *Luria Bertani* (Media ekstrak ragi dan gula) (perbandingan ekstrak ragi 5/1000 dengan aquades, sedangkan perbandingan gula 20/1000 dengan aquades)

-Media Jenis C: Media Air kelapa 50%+gula 50%

2. Disiapkan suspensi bakteri dengan cara memasukkan 1 ose bakteri ke dalam jenis media sesuai dengan perlakuan sebanyak 40 ml, lalu dilakukan inkubasi selama 24 jam dengan suhu 26°C.
3. Dilakukan inokulasi bakteri yang potensial secara aseptik ke media cair dengan komposisi 20% bakteri: 80% media dengan penambahan merkuri sebesar 5 ppm.
4. Campuran antara suspensi dengan media tersebut kemudian dimasukkan ke dalam tabung Erlenmeyer dan didapatkan total larutan sebanyak 200 ml.
5. Pada perlakuan penambahan aerasi dengan kecepatan 2 vvm dan 4 vvm ditambahkan aerasi melalui selang yang dihubungkan dengan aerator dan dilakukan aerasi selama 2x24 jam.
6. Setelah dilakukan aerasi, kemudian ditambahkan merkuri dengan konsentrasi tertinggi yang dapat ditoleransi bakteri dan dilanjutkan proses aerasi selama 1 jam.
7. Setelah itu dilakukan analisis konsentrasi merkuri menggunakan AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*)
8. Setelah mengetahui hasil analisis konsentrasi merkuri menggunakan AAS, langkah selanjutnya yaitu dilakukan pengolahan data menggunakan ANOVA dan apabila ada beda nyata dilanjutkan menggunakan uji DMRT sehingga akan diketahui jenis media dan kecepatan aerasi terbaik.

Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 4.9



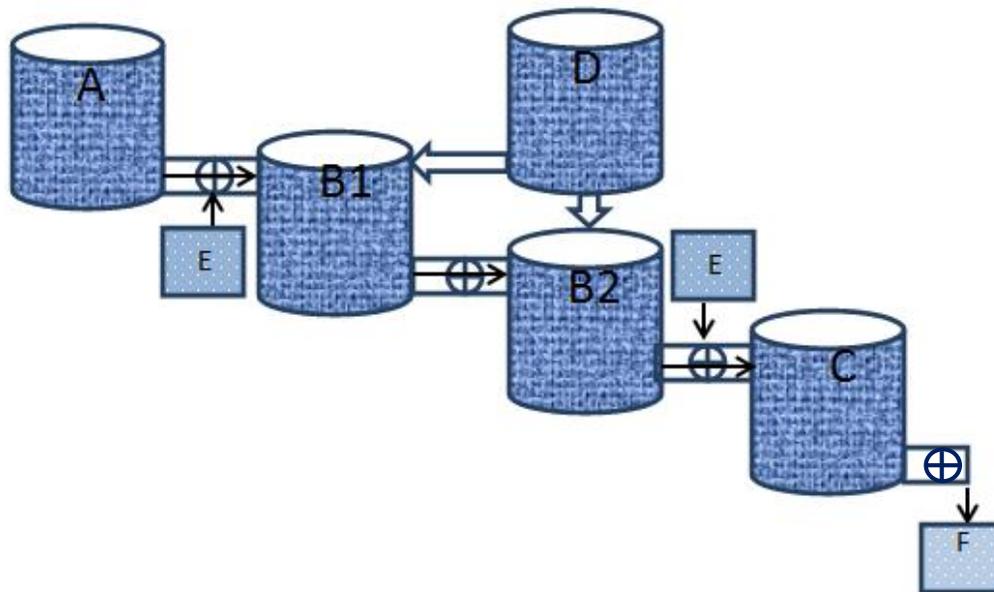
Gambar 4.9 Diagram Alir Uji pada Beberapa Media dan kecepatan Aerasi

4.4.7 Bioreaktor Limbah Merkuri

Setelah diketahui kondisi lingkungan yang sesuai, langkah selanjutnya adalah pembuatan bioreaktor limbah merkuri. Penelitian ini dimaksudkan untuk menguji efektivitas bioremediasi merkuri pada kondisi tidak steril dalam bioreaktor sederhana.

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian skala pilot atau dalam bioreaktor sederhana adalah aerator, pH meter, dan termometer. Untuk tempat bioreaktornya adalah tabung dengan kapasitas volume 11 liter yang memiliki komponen plastik tebal dan tiang penyangga yang terbuat dari kayu serta alat penghubung antar tabung menggunakan pipa paralon. Bahan-bahan yang diperlukan adalah media pertumbuhan, isolat bakteri potensial, merkuri, NaOH 1N, dan HCl. Adapun desain alatnya seperti tampak pada Gambar 4.11



Gambar 4.11 Rancangan Bioreaktor Sederhana (Modifikasi dari Neneng,

Keterangan:

A=Tabung penampung air limbah

B=Bioreaktor tempat inokulasi bakteri pereduksi merkuri (B1 dan B2)

C=Tabung berisi karbon filer aktif

D=Tabung berisi media

E=Kran Pengatur kecepatan aliran air

F=Kran pengeluaran air limbah yang sudah dibioremediasi

2. Prosedur Bioremediasi dalam Bioreaktor Sederhana

Prosedur bioremediasi dalam bioreaktor sederhana adalah:

- pH air limbah pada tabung A dinetralkan sehingga pH sebesar 7. Temperaturnya mengikuti kondisi lingkungan, yaitu 26°-28°C.
- Isolat bakteri dimasukkan ke dalam tabung B1 dan B2 dan sebelumnya tabung tersebut diisi dengan batu apung.

- Media yang telah terpilih dimasukkan dari tabung D ke dalam tabung B1 dan B2 secara terus menerus melalui sebuah selang. Air limbah yang berasal dari tabung A dialirkan melalui kran dan pipa yang menghubungkannya dengan tabung B1. Pipa yang akan mengalir ke dalam tabung B1 dilengkapi dengan saringan untuk menyaring partikel yang berasal dari air limbah.
- Kecepatan aliran air diatur dengan cara mengatur bukaan kran air melalui kran pengatur kecepatan aliran (E), sehingga memungkinkan air limbah berada di tabung B1 selama beberapa saat. Setelah beberapa saat di tabung B1, limbah dialirkan ke tabung B2 agar merkuri yang kemungkinan masih tersisa dari tabung B1, diremediasi oleh isolat bakteri pada tabung B2.
- Kemudian air limbah dilewatkan ke tabung C yang berisi karbon filter aktif, dengan tujuan untuk menjernihkan air yang akan keluar dari bioreaktor.

Komponen Bioreaktor

Setelah ditentukan kecepatan aliran limbah dalam bioreaktor, langkah selanjutnya adalah melakukan bioremediasi pada skala pilot, dimana pada penelitian ini adalah menggunakan bioreaktor sederhana. Bioreaktor tersebut merupakan rangkaian dari galon yang dihubungkan dengan pipa serta dibagian bawahnya diberikan penyangga galon. Adapun galon yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 4.11.



Gambar 4.11 Galon yang Digunakan dalam Penelitian

Pada Gambar 4.11, galon yang digunakan merupakan galon yang biasanya digunakan untuk air mineral. volume dari galon ini adalah 11 liter dan terbuat dari plastik tebal yang transparan serta dilengkapi dengan tutup. Di dalam galon juga sudah dilengkapi dengan lubang dan keran, namun dalam penelitian ini keran dimodifikasi dengan mengubahnya menjadi keran yang digunakan untuk air rumah tangga dan dihubungkan dengan pipa.

Spesifikasi Galon yang Digunakan:

-Tinggi 33 cm

- Diameter lubang galon 13 cm
- Diameter bagian bawah dari galon adalah 26 cm.
- Diameter lubang dari galon 2 cm
- Tinggi lubang dengan bagian bawah galon adalah 1 cm.

Selain menggunakan galon plastik, komponen lain yang digunakan dalam rancangan bioreaktor adalah penyangga galon yang dapat dilihat pada Gambar 4.12.



Gambar 4.12 Penyangga Galon yang Digunakan

Keterangan: 1. Penyangga Galon Limbah; 2. Penyangga Galon Nutrisi; 3. Penyangga Galon Biakan Bakteri 1; 4. Penyangga Galon Biakan Bakteri 2; 5. Penyangga Galon Berisi Arang Aktif

Dari Gambar 4.12, dapat dilihat bahwa penyangga galon yang digunakan terbuat dari kayu yang dirangkai sehingga bisa berdiri dan dapat menyangga galon. Karena galon yang digunakan adalah lima, maka penyangga tersebut juga terdiri dari lima penyangga.

Spesifikasi Penyangga Galon:

- Diameter bagian dalam penyangga adalah 30 cm
- Tinggi penyangga galon limbah=tinggi penyangga galon media=150 cm
- Tinggi penyangga galon biakan bakteri 1=120 cm
- Tinggi penyangga galon biakan bakteri 2=90 cm
- Tinggi penyangga galon berisi karbon aktif=60 cm.

Alasan masing-masing penyangga memiliki selisih ketinggian sebesar 30 cm kecuali bagi penyangga bagi galon berisi limbah dan galon berisi nutrisi adalah untuk menyesuaikan dengan ketinggian galon yang memiliki tinggi 30 cm sehingga aliran limbah menjadi lancar antara 1 galon

dengan galon lain dengan adanya gaya gravitasi sehingga aliran limbah dapat turun dengan sendirinya dengan membuka keran.

Selain menggunakan galon dan penyangga, komponen yang digunakan dalam pembuatan bioreaktor adalah pipa. Pipa yang digunakan merupakan pipa Paralon tebal berwarna abu-abu dan tidak tembus pandang.

Spesifikasi:

-Diameter pipa=3 cm

-Panjang pipa yang digunakan untuk penghubung antara tabung Limbah dengan tabung bakteri 1, 2, dan tabung penampung limbah= 26 cm

-Panjang pipa antara tabung nutrisi dengan tabung bakteri 1 adalah 40 cm sedangkan antara tabung nutrisi dengan tabung bakteri 2 memiliki panjang 50 cm.

Komponen lainnya yaitu keran. Keran yang digunakan merupakan keran yang biasanya digunakan untuk keperluan rumah tangga dan merupakan keran yang sederhana.

Spesifikasi:

-Diameter dalam= 1 cm

-Panjang Keran=5,5 cm

Dari komponen-komponen tersebut kemudian dirangkai sehingga menjadi suatu rangkaian bioreaktor sederhana untuk proses bioremediasi limbah merkuri menggunakan bakteri yang telah ditemukan sebelumnya. Adapun rangkaian bioreaktor sederhana tersebut dapat dilihat pada Gambar 5.8. Pada Gambar 5.8 dapat dilihat rangkaian bioreaktor sederhana yang terdiri dari 5 buah galon yang dihubungkan menggunakan pipa dan dilengkapi dengan keran untuk pengatur kecepatannya. Tiang-tiang penyangga dari bioreaktor ini menggunakan kayu serta diberikan aerator untuk memberikan udara ke dalam tabung bioreaktor.

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Karakteristik Sampel Limbah Penambangan Emas

Pengujian karakteristik sampel limbah tersebut dilakukan untuk mengetahui kondisi awal dari limbah yang akan digunakan dalam penelitian. Hasil karakteristik sampel limbah penambangan emas Tumpang Pitu dapat dilihat pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Karakteristik Limbah Penambangan Emas Tumpang Pitu

No.	Jenis Sampel	Parameter					
		Konsentrasi Merkuri (ppm)		pH		Warna	Bau
		Hasil Analisis	Standar Mutu	Hasil Analisis	Standar Mutu		
1.	Sedimen 1	0,054		7,58		Coklat	Bau lumpur agak menyengat
2.	Sedimen 2	0,063	0,001 *)	7,47		Coklat	Bau lumpur agak menyengat
3.	Sedimen 3	0,033		7,64		Coklat	Bau lumpur
4.	Cair 1	0,031		8,13	6-9 *)	Agak Coklat	Tak Berbau
5.	Cair 2	0,043	0,002-0,005 **)	8,05		Agak Coklat	Bau agak menyengat
6.	Cair 3	0,034		8,32		Agak Coklat	Tak Berbau

*) Kementerian Lingkungan Hidup, 2014

**) C CME, 2002

Berdasarkan Tabel 5.1, pada parameter hasil analisis konsentrasi merkuri yang ada pada limbah penambangan emas Tumpang pitu, Banyuwangi konsentrasinya melebihi ambang batas standar mutu yang telah ditetapkan oleh pemerintah dimana konsentrasi terendah adalah 0,031 ppm pada limbah cair 1 dan yang tertinggi adalah 0,063 ppm pada limbah sedimen 2. Limbah sedimen memiliki konsentrasi merkuri yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan limbah cair karena sifat logam berat yang cenderung terdapat pada endapan atau sedimen. Faktor lainnya yaitu kemampuan mikroorganisme khususnya bakteri yang ada di dalam sedimen dalam

mendegradasi logam merkuri yang mempengaruhi tinggi rendahnya konsentrasi merkuri (Neneng, 2007). Semakin baik kemampuan bakteri dalam melakukan degradasi merkuri, maka akan semakin sedikit merkuri yang tertinggal di dalam sedimen.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Rondonuwu (2012), bakteri yang teridentifikasi adalah jenis *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Eschericia coli*, *Bacillus* sp., *Morganella morganii*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus* sp., *Bacillus* sp., *Brevibacillus* sp., dan *Brevibacillus* sp., dimana konsentrasi merkuri dari sedimen limbah penambangan emas tempat bakteri diisolasi sebesar 2,59 ppm. Konsentrasi yang tinggi dan melebihi ambang batas buangan limbah yang mengandung merkuri oleh Kementerian Lingkungan Hidup (2014) ini sangatlah berbahaya bagi lingkungan. Menurut Mieiro *et al.* (2011), merkuri merupakan salah satu penyebab masalah lingkungan secara global, karena konsentrasi racunnya yang tinggi menyebabkan dampak yang berbahaya bagi kesehatan manusia, hewan, serta lingkungan.

Parameter pH menunjukkan hasil yang berbeda-beda di setiap sampel. Namun pH dari keenam sampel tersebut memiliki pH basa yang sesuai dengan standar dari Kementerian Lingkungan Hidup (2014). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Garcia (2012), dimana pH di sampel sedimen lebih rendah dibandingkan dengan sampel cair namun tetap memiliki pH yang basa dikarenakan tingginya konsentrasi elemen berupa adanya karbonat dan bikarbonat serta kemungkinan karena adanya kalsium oksida dengan kata lain zat-zat yang ada di dalam limbah yang menentukan kondisi pH tersebut.

Zulfikah dkk., (2014) menyatakan bahwa nilai pH sedimen menggambarkan tingkat kemasaman sedimen. Menurut Rembuluwani *et al.* (2014), pH sedimen yang ada di sekitar tambang akan cenderung rendah dibanding dengan sampel cair yang menyebabkan kondisi yang kurang baik bagi tanaman sehingga menyebabkan ketidaksuburan tanah di wilayah pertambangan emas. Menurut Selayar dkk. (2015), semakin kecilnya nilai pH disebabkan semakin besar konsentrasi senyawa yang bersifat asam. Meningkatnya nilai pH di suatu wilayah ditunjukkan dengan semakin kecilnya kelarutan dari merkuri, sedangkan pH yang menurun menyebabkan peningkatan kelarutan merkuri yang ada di suatu lingkungan yang menjadikan merkuri akan berubah bentuk menjadi metil merkuri yang memiliki tingkat racun yang lebih tinggi.

Pada parameter warna menunjukkan hasil sedimen berwarna coklat sedangkan sampel cair berwarna agak coklat. Warna coklat pada sampel sedimen disebabkan karena bahan baku limbah sudah bercampur dengan bahan lainnya. Hal ini disebabkan pada proses pengolahan emas yang terdiri dari proses penghancuran batuan, pemutaran hasil hancuran batuan yang telah ditambah merkuri, pemisahan, pembakaran, hingga pengaliran limbah ke kolam penampungan limbah (Rondonuwu, 2012). Rangkaian dari proses tersebut yang menyebabkan limbah dari

penambangan emas berwarna coklat. Pada parameter bau menunjukkan bau lumpur agak menyengat pada sedimen 1, 2 serta pada sampel cair 2. Hal ini disebabkan karena di dalam limbah tersebut terdapat bakteri yang menyebabkan bau menyengat, salah satunya merupakan *sulfuric* bakteri yang menyebabkan bau seperti “telur busuk” (Jones 2011).

5.2 Hasil Isolasi Bakteri Pereduksi Merkuri

Langkah awal dalam melakukan bioremediasi merkuri adalah melakukan isolasi bakteri yang bertujuan untuk mendapatkan isolat yang mampu tumbuh di konsentrasi merkuri tinggi. Dalam penelitian ini, isolasi dilakukan dengan memberikan perlakuan berupa penambahan merkuri dengan konsentrasi yang semakin meningkat konsentrasinya, sehingga akan didapatkan bakteri yang tahan terhadap konsentrasi merkuri tinggi. Tingkat kekeruhan sampel dalam media *Luria Bertani* setelah diinkubasi 2 x 24 jam dengan suhu 26°C menunjukkan kemampuan mikroba untuk tumbuh. Tingkat kekeruhan sampel dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Tingkat Kekeruhan di Media *Luria Bertani* yang Diberi Merkuri

No.	Sampel	Konsentrasi Merkuri pada Media LB (ppm)										
		0	5	10	15	20	50	100	120	130	140	150
1	Sedimen 1	++	++	++	++	++	++	+	+	+	-	-
2	Sedimen 2	++	++	++	++	++	++	+	+	+	-	-
3	Sedimen 3	+++	+++	++	++	++	++	++	+	-	-	-
4	Cair 1	+++	+++	+++	++	++	++	++	+	-	-	-
5	Cair 2	++	++	++	++	++	++	+	+	+	-	-
6	Cair 3	+++	+++	++	++	++	++	++	+	-	-	-

Keterangan:

+++ = Sangat keruh sekali ++ = Sangat keruh
 + = Keruh - = Jernih

Berdasarkan Tabel 5.2 dapat diketahui bahwa pada media *Luria Bertani* yang telah ditambahkan merkuri dengan konsentrasi 0 ppm menunjukkan hasil sangat keruh pada sedimen 1, 2 serta cair 2. Hal ini disebabkan karena pada ketiga sampel tersebut masih terdapat banyak mikroorganisme yang tumbuh. Ketika konsentrasi merkuri dinaikkan hingga konsentrasi 50 ppm

hasilnya menjadi sangat keruh pada semua sampel. Perubahan tersebut karena bakteri yang berada di dalam konsentrasi LB sudah mulai berkurang kemampuannya untuk hidup di lingkungan dengan konsentrasi merkuri yang lebih tinggi karena pada lingkungan tempat hidupnya konsentrasi merkurnya tidak setinggi konsentrasi merkuri yang ditambahkan pada percobaan.

Ketika konsentrasi merkuri dinaikkan menjadi 100 ppm, pada sedimen 1, 2, serta cair 2 menunjukkan hasil yang sangat keruh namun ketika konsentrasi merkuri ditingkatkan menjadi 130 ppm, hanya ketiga sampel yaitu sedimen 1, 2 serta cair 2 yang menunjukkan hasil yang keruh. Hal ini menunjukkan pada konsentrasi ini masih terdapat bakteri *indigenous* atau bakteri yang berasal dan tinggal dari lingkungan tersebut yang mampu hidup di lingkungan dengan konsentrasi merkuri tinggi. Setelah ditingkatkan menjadi 130 ppm kesemua sampel menjadi jernih kecuali pada sampel sedimen 1, 2 serta cair 2. Perbedaan ini disebabkan karena bakteri yang ada pada sampel sedimen 1, 2 dan cair 2 memiliki mikroba yang mampu hidup lebih baik dibandingkan dengan sampel lainnya. Ketika ditingkatkan lagi menjadi 140 hingga 150 ppm maka media LB nya menjadi jernih, dengan kata lain sudah tidak ada lagi bakteri yang mampu untuk bertahan hidup di media dengan konsentrasi merkuri sebesar 140 ppm. Hal ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Neneng (2007), bakteri yang diisolasi dapat bertahan hingga konsentrasi 30 ppm. Penelitian yang dilakukan oleh Barus (2007), bakteri yang digunakan pada penelitian mampu untuk tumbuh pada merkuri dengan konsentrasi 50 ppm. Perbedaan konsentrasi merkuri maksimal yang dapat ditolerir oleh bakteri tersebut dapat disebabkan karena beberapa faktor, diantaranya karena perbedaan jenis bakteri dari masing-masing lokasi sehingga berbeda pula kemampuannya untuk hidup di lingkungan yang telah terkontaminasi oleh merkuri.

5.3 Hasil Seleksi Bakteri Pereduksi Merkuri

Seleksi bakteri bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri terpilih yang mampu untuk hidup di media dengan konsentrasi merkuri tertinggi dan mampu untuk melakukan bioremediasi merkuri. Proses seleksi bakteri pereduksi merkuri dilakukan pada media LB yang telah ditambahkan dengan merkuri konsentrasi merkuri tertinggi yang dapat ditolerir bakteri yaitu sebesar 130 ppm. Uji dilakukan pada bakteri yang hidup di konsentrasi merkuri 130 ppm adalah untuk mendapatkan bakteri yang benar-benar resisten merkuri dan mampu untuk melakukan bioremediasi limbah yang mengandung merkuri. Pengujian dilakukan terhadap tiga sampel yaitu sedimen 1, 2 serta sampel cair 2. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3 Efektivitas Bioremediasi Merkuri dari Tiga Sampel

No.	Sampel	Hg Awal (ppm)	Hg Akhir (ppm)	Efektivitas	Efektivitas Bioremediasi (%)
1	Sedimen 1		20.5	109.5	84.23
2	Sedimen 2	130	9.8	120.2	92.46
3	Cair 2		30.1	99.9	76.85

Pada Tabel 5.3 dapat dilihat efektivitas bioremediasi merkuri dari ketiga sampel, dimana efektivitas bioremediasi paling tinggi sebesar 92,46% adalah pada sampel sedimen 2 sedangkan yang terendah adalah sampel cair 2. Hal ini disebabkan karena pada sampel sedimen 2 memiliki kandungan merkuri yang paling tinggi dibanding dengan sampel yang lain dapat dilihat pada Tabel 5.1, sehingga bakteri yang hidup pada sampel sedimen 2 ini merupakan bakteri yang paling resisten. Hal ini sesuai dengan Dash and Das (2015), yang menyatakan bahwa penggunaan bakteri *indigenus* lebih efektif dan lebih murah karena bakteri tersebut mampu untuk melakukan bioremediasi merkuri dengan tingkat efektivitas yang tinggi dibanding bakteri dari luar lingkungan.

Setelah dilakukan proses seleksi dan didapatkan bahwa sampel yang memiliki bakteri yang resisten dengan konsentrasi merkuri tinggi serta mampu untuk melakukan degradasi merkuri adalah sampel sedimen 2. Sampel tersebut kemudian dilakukan penuangan di media *Luria Agar* untuk melakukan proses pemurnian bakteri yang ada di dalamnya apabila terdapat bakteri yang beragam. Dari proses pemurnian ternyata hanya terdapat satu koloni bakteri sejenis (Gambar 5.1).



Gambar 5.1 Isolat Bakteri

5.4 Hasil Karakterisasi dan Identifikasi Isolat Bakteri

Setelah mendapatkan isolat murni, kemudian langkah selanjutnya adalah melakukan proses karakterisasi dan identifikasi isolat bakteri. Langkah awal yang yaitu melakukan beberapa macam uji, yang pertama yaitu uji Gram. Uji Gram dilakukan dengan proses pewarnaan (*stain*). Tahap ini adalah tahap awal identifikasi bakteri yang bertujuan untuk mengetahui warna dan jenis sel bakteri tersebut (Sardiani dkk., 2015). Setelah dilakukan pengujian, didapatkan hasil bahwa bakteri yang berasal dari limbah penambangan emas Tumpang Pitu yang telah dilakukan isolasi, seleksi, dan pemurnian memiliki hasil akhir warna merah.

Warna merah pada hasil pengujian menunjukkan bahwa bakteri memiliki Gram negatif. Menurut Dewi (2013), bakteri yang termasuk bakteri Gram positif apabila selnya berwarna keunguan sedangkan bakteri termasuk jenis Gram negatif apabila selnya berwarna merah. Warna merah didapatkan karena bakteri tersebut tidak mampu mempertahankan zat warna kristal violet. Hal ini dipengaruhi oleh perbedaan struktur dinding sel dari bakteri itu sendiri. Adapun bakteri Gram negatif memiliki sistem membran ganda dimana membran plasmanya diselimuti oleh membrane luar permeabel yang memiliki dinding sel tebal berupa peptidoglikan, yang terletak di antara membran dalam dan membran luar.

Langkah selanjutnya sebelum dilakukan uji menggunakan kit *microbact* adalah dilakukan uji oksidase. Uji ini dilakukan untuk menentukan kit *microbact* yang akan digunakan. Apabila oksidasenya adalah negatif, maka *microbact* yang digunakan adalah 12 A. Setelah dilakukan uji oksidase, kertas oksidase yang digunakan tidak menunjukkan perubahan warna, atau menunjukkan oksidase negatif. Apabila oksidase yang negatif maka bakteri tersebut tidak memiliki enzim oksidase atau merupakan bakteri enterik, dimana bakteri dengan jenis bakteri enterik merupakan bakteri yang berasal dari sumber air panas, danau, bendungan, air tanah dan merupakan bakteri yang memiliki aktivitas katalase, yang memfermentasi gula menjadi berbagai produk akhir (Marlina, 2009).

Setelah diketahui warna sel bakteri dan telah dilakukan uji oksidase, maka langkah selanjutnya adalah proses identifikasi menggunakan *microbact* kit. *Microbact* kit merupakan suatu kit tambahan untuk identifikasi bakteri berdasarkan perubahan pH dan penggunaan substrat. Setelah didapatkan jumlah, kemudian dilakukan proses pengecekan menggunakan software *microbact* (Abakpa *et al.*, 2015). Hasil uji menggunakan *microbact* dapat dilihat pada Tabel 5.4 dan diketahui bahwa 94,44% bakteri yang teridentifikasi merupakan bakteri jenis *Morganella morganii*.

Tabel 5.4 Hasil Identifikasi Bakteri dengan Microbat Kit GNB 12 A/12 E

	Lysine	Ornithine	H ₂ S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V-P	Citrate	TDA
Hasil	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+
	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Jumlah	6			5			3			3		
Identifikasi	<i>Morganella morganii</i> (94,44%)											

Morganella morganii merupakan bakteri berbentuk batang dan termasuk dalam Gram negatif (Shaaban *et.al*, 2012) yang pertama kali diisolasi oleh Morgan tahun 1906 dari kultur *pediatric fecal*. Bakteri ini diklasifikasikan sebagai *Proteus morganii* dan merupakan Genus *Morganella*. Bakteri ini biasanya banyak ditemukan tersebar di lingkungan dan berada di dalam tubuh manusia maupun hewan khususnya di usus (Liu *et al.*, 2016). Bakteri jenis ini termasuk dalam *family Enterobacteriaceae* dan dapat menyebabkan infeksi bagi manusia (Seija *et al.*, 2015). Sehingga menurut Vinogradof *et al.* (2015), bakteri ini termasuk pathogen bagi manusia.

Ciri dari bakteri *Morganella morganii* adalah diameter koloni 1-2 mm, berwarna putih keabu-abuan, *opaque* (tidak tembus cahaya), bentuk lingkaran, *convex* (cembung), dan lembut dengan tepian yang rata. Masa inkubasi dari bakteri ini adalah 24 jam dengan suhu optimal 22-35°C. Bakteri ini bersifat motil (dapat bergerak) dengan alat gerak berupa flagella, namun beberapa strain tidak dapat membentuk flagella pada suhu di atas 30°C. Untuk uji urease dan indole adalah positif sedangkan oksidasenya negatif. Asam dan gas juga diproduksi dari pembentukan glukosa. Asam juga diproduksi dari manosa, galaktosa, dan trehalose (Public Health England, 2015).

5.5 Uji pada Beberapa Media dan Kecepatan Aerasi

Media yang digunakan pada penelitian ini menggunakan media *Luria Bertani*, modifikasi *Luria Bertani* berupa ekstrak khamir dan gula, serta media alami berupa media air kelapa dan gula. Hasil analisis sidik ragam atau ANOVA dapat dilihat pada Lampiran 3. Berdasarkan ANOVA atau sidik ragam pada Lampiran 3, dapat dilihat bahwa faktor percobaan berupa media, kecepatan aerasi memiliki hasil yang lebih besar bila dibandingkan dengan F tabel ($F > F$ tabel). Hal ini menunjukkan faktor media, kecepatan aerasi, serta interaksi keduanya berpengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap hasil efektivitas bioremediasi.

Tabel 5.6 Rerata Efektivitas Bioremediasi dengan Perlakuan Kecepatan Aerasi dan Jenis Media

Jenis Media	Kecepatan Aerasi (vvm)	Efektivitas Bioremediasi (%)	Notasi
Jenis 1	0	78,33	cd
	2	90,87	b
	3	91,17	ab
	4	88,63	b
Jenis 2	0	78,60	cd
	2	98,20	a
	3	90,80	b
	4	84,00	bc
Jenis 3	0	72,40	d
	2	90,67	b
	3	80,57	c
	4	71,57	d

Pada Tabel 5.5 dapat dilihat bahwa nilai yang tertinggi adalah pada perlakuan M₂A₂, yaitu kecepatan aerasi 2 vvm dan jenis media berupa campuran antara ekstrak ragi dan gula pasir sebesar 98,20% sedangkan nilai terendah adalah pada perlakuan M₃A₄, yaitu media air kelapa dengan gula. Penambahan ekstrak ragi memiliki hasil efektivitas bioremediasi yang paling tinggi karena di dalam ekstrak ragi terdapat kandungan zat gizi yang diperlukan bakteri dalam pertumbuhannya. Gula berperan sebagai sumber karbon dalam pertumbuhan bakteri. Adapun alasan penggunaan ekstrak ragi dan gula yang merupakan modifikasi dari media *Luria Bertani* namun memiliki kandungan yang lebih sederhana bila dibandingkan media *Luria Bertani* sehingga didapatkan proses pengolahan limbah cair yang lebih efektif dan efisien karena dengan harga yang lebih murah bila dibandingkan dengan media *Luria Bertani* namun memiliki tingkat efektivitas yang lebih tinggi dalam melakukan bioremediasi limbah merkuri. Penggunaan gula dalam media yang digunakan adalah sebagai sumber ketersediaannya karbon. Menurut Raj *et al* (2014), pada fase awal pertumbuhan bakteri, di dalam media harus terdapat sumber karbon salah

satunya bisa berasal dari gula yang digunakan bakteri sebagai nutrisi yang digunakan pada media pertumbuhan. Hal ini sesuai dengan percobaan yang dilakukan oleh Barus (2007) dimana pada percobaan tersebut media yang digunakan adalah media yang terbaik yaitu ekstrak ragi yang ditambahkan dengan gula.

Menurut Balaji *et al.* (2014), ekstrak ragi dapat menjadi tambahan untuk meningkatkan sumber produksi energi yang digunakan untuk meningkatkan kemampuan bakteri pada pengolahan limbah. Selama melakukan degradasi, ekstrak ragi memainkan peranan penting dalam penambahan substrat, dimana bisa mempercepat bakteri dalam melakukan degradasi. Ekstrak ragi yang digunakan juga merupakan sumber karbon yang berupa bahan karbon organik. Karbon merupakan elemen paling dasar untuk seluruh bentuk kehidupan dan karbon dibutuhkan dalam jumlah yang lebih besar dari pada elemen-elemen lain serta di dalam ekstrak ragi juga terdapat asam amino lengkap serta vitamin B kompleks yang sangat membantu pertumbuhan bakteri (Nasikhin dan Shovitri, 2013).

Menurut Brzeszcz (2016), bakteri dapat tumbuh dengan cepat apabila berada di media dengan nutrisi yang sesuai. Adapun faktor pendukung pertumbuhan bakteri tersebut yaitu ketersediaan nutrisi, adanya oksigen, dan tekanan osmotik yang sesuai. Apabila ketiga faktor tersebut terpenuhi maka dapat meningkatkan kemampuan dinding sel bakteri untuk hidup di lingkungan dengan kondisi ekstrim, dalam hal ini adalah dalam konsentrasi merkuri tinggi sehingga dapat meningkatkan kemampuan bakteri tersebut dalam melakukan bioremediasi. Begitu juga menurut Zhang (2012), kemampuan bioremediasi yang rendah disebabkan karena ketidaksesuaian nutrisi yang diberikan dalam media pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan faktor kecepatan aerasi, nilai efektivitas bioremediasi yang paling tinggi adalah pada kecepatan aerasi 2 vvm. Nilai efektivitas bioremediasi yang paling baik adalah 2 vvm disebabkan karena bakteri jenis *Morganella morganii* adalah jenis bakteri fakultatif anaerobik, dimana organisme jenis anaerobik fakultatif merupakan organisme yang biasanya jenis bakteri yang menghasilkan ATP secara respirasi aerobik jika terdapat oksigen tetapi juga mampu melakukan fermentasi.

Nilai efektivitas yang paling tinggi adalah pada 2 vvm karena apabila kecepatan aerasi pada 0 vvm maka konsentrasi oksigen yang didapat bakteri sangat minimal sehingga menghambat bakteri dalam melakukan perombakan, sedangkan bila kecepatan aerasi ditingkatkan menjadi 3 vvm dan 4 vvm akan terlalu tinggi konsentrasi oksigen yang diterima oleh bakteri. Adapun faktor yang berpengaruh dalam perpindahan metabolisme dalam anaerobik fakultatif yaitu konsentrasi oksigen dan materi fermentasi di lingkungan (Liu *et al.*, 2014). Hal ini sesuai dengan pernyataan Damodaran *et. al.* (2011), dimana kecepatan aerasi harus sesuai

dengan kebutuhan bakteri yang ada di dalamnya. Apabila tanpa adanya aerasi maka bakteri tidak dapat melakukan perombakan namun bila aerasinya terlalu besar maka kurang baik kinerja bakteri dalam melakukan perombakan sehingga harus dicari berapa kecepatan aerasi terbaik.

Hal ini sama dengan percobaan yang dilakukan oleh Neneng (2007), efektivitas bioremediasi pada media yang telah diberi tambahan aerasi sebesar 2 vvm adalah 90,19% atau merupakan hasil yang paling tinggi dibanding yang lain. Begitu juga dengan percobaan yang dilakukan oleh Wignyanto dkk. (2009), bahwa hasil yang paling tinggi adalah ketika diberi penambahan aerasi sebesar 2 vvm.

5.6 Bioreaktor Limbah Merkuri

5.6.1 Penentuan Kecepatan Aliran Limbah

Sebelum bioreaktor dioperasikan, maka langkah yang pertama yaitu menentukan kecepatan aliran limbah dengan cara menentukan waktu kontak antara bakteri *Morganella morganii* dengan merkuri yang telah ditambahkan pada konsentrasi 50 ppm. Langkah ini dilakukan untuk mengetahui pada waktu berapa menit *Morganella morganii* dapat mereduksi Hg dengan konsentrasi pengurangan merkuri yang paling tinggi.

Tabel 5.7 Hasil Reduksi Hg pada Perlakuan Waktu Kontak

Waktu Kontak (menit)	Kosentrasi Hg (ppm)		Reduksi Hg (ppm)	Reduksi Hg (%)
	Awal	Akhir		
60		1,5	48,5	97
120	50	5,3	44,7	89,4
180		2,8	47,2	94,4

Hasil reduksi atau penurunan Hg pada perlakuan waktu kontak dapat dilihat pada Tabel 5.7, dapat dilihat bahwa waktu kontak yang memiliki tingkat reduksi paling tinggi adalah 60 menit. Menurut Barus (2007), Waktu kontak merupakan salah satu faktor penting dalam proses pengolahan limbah cair. Waktu kontak yang terlalu singkat menyebabkan kontak antara mikroba dan merkuri pada limbah cair kurang efektif, juga berkurangnya adaptasi mikroba dengan merkuri.

Hasil yang ditunjukkan pada Tabel 5.7 ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Barus (2007), yang mengatakan bahwa waktu kontak terbaik adalah 30 menit, sedangkan pada penelitian Neneng (2007), waktu kontak adalah selama 180 menit. Perbedaan ini

disebabkan karena penggunaan bakteri yang berbeda-beda. Pada penelitian yang dilakukan oleh Barus (2007), bakteri yang digunakan adalah jenis *Pseudomonas pseudomallei* mampu untuk mendegradasi merkuri sebesar 79,49% sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Neneng (2007), bakteri yang digunakan adalah jenis *Pseudomonas aeruginosa* mampu untuk mendegradasi merkuri sebesar 87%. Waktu kontak yang tepat akan menjadikan tingkat efektivitas yang baik, dimana bakteri *Morganella morganii* mampu mereduksi Hg dengan konsentrasi sebesar 97%.

5.6.2 Bioreaktor Limbah Merkuri



Keterangan:

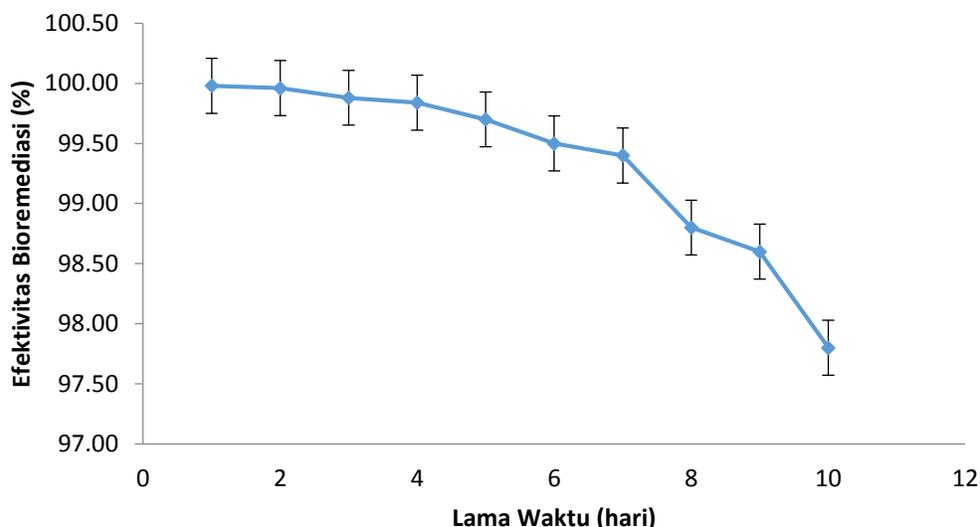
1. Tabung Limbah;
2. Tabung Nutrisi;
3. Tabung Biakan Bakteri 1;
4. Tabung Biakan Bakteri 2;
5. Tabung Berisi Arang Aktif

Gambar 5.2 Bioreaktor Sederhana Limbah Merkuri

Pada Gambar 5.2, aliran dari bioreaktor yaitu air limbah yang terletak pada tabung 1, kemudian dialirkan menuju tabung 2 dan tabung 3 yang berisi biakan bakteri. Pada tabung 2 dan 3 berisi batu apung. Menurut Neneng (2007) dan Barus (2007), fungsi dari batu adalah sebagai tempat melekatnya bakteri sehingga bakteri tersebut tidak ikut mengalir ke tabung berikutnya.

Pada tabung 2 dan 3 juga diberi aliran udara yang berasal dari dua buah aerator dengan kecepatan aerasi sebesar 2 vvm sesuai dengan percobaan mengenai penentuan kondisi lingkungan yang terbaik. Di dalam tabung 2 dan 3 juga diberikan aliran media, dimana media yang diberikan sesuai dengan kondisi lingkungan yang terbaik, yaitu berupa ekstrak ragi yang ditambahkan dengan gula. Pengambilan sampel yang akan diuji konsentrasinya menggunakan AAS dilakukan setiap 24 jam sekali, dan percobaan ini dilakukan selama 10 hari. Untuk langkah selanjutnya adalah melakukan perhitungan yang digunakan untuk menguji bioreaktor yang digunakan dalam penelitian yang dapat dilihat pada Lampiran 6. Dari perhitungan

pada Lampiran 6, diketahui bahwa debit di setiap bukaan keran adalah sebesar 60 ml/jam. Setelah diambil sampel untuk diuji konsentrasi merkurnya setelah melalui proses tersebut, kemudian diketahui hasil efektivitas bioremediasi yang dapat dilihat pada Gambar 5.3.



Gambar 5.3 Grafik Efektivitas Bioremediasi

Gambar 5.3 menunjukkan efektivitas bioremediasi yang semakin hari semakin menurun. Pada hari pertama, efektivitasnya adalah sangat tinggi yaitu sebesar 99,98%. Pada pengamatan hari selanjutnya, terjadi penurunan secara bertahap hingga pada hari kesepuluh efektivitas bioremediasinya sebesar 97,80%. Hal ini disebabkan karena pada hari pertama percobaan, bakteri *Morganella morganii* dapat bekerja dengan sangat baik untuk melakukan bioremediasi limbah merkuri. Namun di hari berikutnya bakteri ini berkurang secara bertahap kemampuannya untuk melakukan bioremediasi limbah merkuri.

Pada penelitian ini bakteri berkurang secara bertahap kemampuannya sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Sholikah dkk. (2012), bakteri *Bacillus* yang diberikan merkuri sebesar 10-25 ppm dalam jangka waktu tertentu menunjukkan suatu pola. Pada 0-2 jam merupakan Fase adaptasi dimana bakteri tersebut beradaptasi dengan lingkungan yang terdapat merkuri. Pada jam ke 5-15 merupakan fase eksponensial yang merupakan fase pembiakan bakteri berlangsung paling cepat. pada jam 15-20 merupakan fase stasioner dimana jumlah bakteri yang berkembang biak sama dengan jumlah yang mati. Di atas 20 jam, bakteri mengalami fase kematian karena bakteri tidak resisten terhadap merkuri. Namun pola tersebut tergantung dari jenis bakterinya.

Menurut Zarkasyi (2008), resistensi mikroorganisme terhadap logam Hg berbeda-beda yang berkaitan dengan mekanisme respon terhadap stress merkuri, diantaranya yang pertama dengan cara menghambat metabolisme sel sehingga pertumbuhan sel lambat atau sel mati. Kedua dengan cara menginduksi sistem operon resisten merkuri untuk bekerja sehingga sel tetap hidup dalam kondisi stres, dan yang ketiga adanya plasmid yang mengandung gen resisten merkuri yang masuk ke dalam sel. Model mekanisme resisten merkuri oleh bakteri Gram negatif yaitu Hg^{2+} yang masuk periplasma terikat ke pasangan residu *merP*, kemudian *merP* mentransfer Hg^{2+} ke residu sistein *merT* atau *merC*. selanjutnya ion Hg pindah ke membran sitoplasma melalui proses reaksi pertukaran ligan menuju sisi aktif flavin disulfide oksidoreduktase, merkuri reduktase (*merA*) mengkatalisis reduksi Hg^{2+} menjadi Hg^0 volatil dan sedikit reaktif. kemudian Hg^0 berdifusi di lingkungan sel untuk selanjutnya dikeluarkan dari sel.

Bila dibandingkan pada penelitian menggunakan bakteri *Morgnella morganii* yang dilakukan oleh Rondonuwu (2012), kemampuan bakteri dalam melakukan bioremediasi limbah merkuri adalah sebesar 98,73%. Perbedaan ini disebabkan karena metode yang digunakan berbeda, dimana kadar merkuri awal yang digunakan dalam percobaan di bioreaktor adalah sebesar 6,72 ppm. Kadar tersebut adalah kadar yang rendah.

Sehingga, pada penelitian ini kemungkinan semakin hari efektivitas bioremediasi semakin menurun dapat disebabkan karena kemampuan bakteri yang semakin menurun, terdapat beberapa bakteri yang mati, maupun karena kadar awal merkuri yang digunakan sangat tinggi. Solusi yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya yaitu dilakukan penggantian bakteri setiap harinya, karena kemampuan bakteri paling baik adalah pada hari pertama. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Yan *et al.* (2011), yang menunjukkan konsentrasi Hg yang justru meningkat di setiap harinya disebabkan karena kemampuan bakteri yang semakin lama semakin turun di setiap harinya. Selain itu konsentrasi merkuri awal yang digunakan juga tidak terlalu tinggi agar bakteri mampu untuk melakukan bioremediasi hingga kadar dibawah standar baku mutu limbah merkuri.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini yaitu:

1. Isolat yang berpotensi untuk mengurangi konsentrasi merkuri pada limbah penambangan emas yaitu bakteri dengan jenis *Morganella morganii*
2. Bakteri pendegradasi limbah merkuri dari limbah penambangan emas Tumpang Pitu Banyuwangi mampu untuk melakukan degradasi merkuri dengan kemampuan hingga 92,46%.
3. Kombinasi yang paling baik dalam melakukan bioremediasi adalah media berupa ekstrak ragi yang ditambahkan gula dan kecepatan aerasi sebesar 2 vvm dengan hasil yang paling tinggi yaitu sebesar 98,20% dan faktor tersebut berpengaruh terhadap efektivitas bioremediasi.
4. Kemampuan bioreaktor buatan dalam mengurangi konsentrasi merkuri pada limbah adalah sebesar 97,80% - 99,98%.

6.2 Saran

Saran yang dapat diberikan untuk penelitian berikut adalah perlu dilakukan perhitungan rancangan bioreaktor yang lebih terperinci untuk memudahkan proses kontrol dan evaluasi selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abakpa, G.O., Umoh, V.J., Ameh, J.B., Yakubu, S.E., Kwaga, J.K.P., and Kamaruzaman, S. 2015. Diversity and Antimicrobial Resistance of Salmonella Enterica Isolated from Fresh Produce and Environmental Samples. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*. 3 (1): 38–46.
- Adiguzel, A., Inan, K., Sahin, F., Arasoglu, T., Gulluce, M., Belduz, A. O., and Baris, O. 2011. Molecular Diversity of Thermophilic Bacteria isolated from Pasinler Hot Spring (Erzurum, Turkey). *Turk J Biol*. 35 (1): 267-274.
- Adinata, D.Y., Vie, A.R., dan Kusdarini, E. 2015. Identifikasi Limbah Pengolahan Emas dan Kualitas Air di Sekitar Penambangan Emas Rakyat Jampang Kulon, Desa Kertajaya, Kabupaten Sukabumi, Jawa Barat. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Terapan III 2015. Institut Teknologi Adhi Tama Surabaya.
- Ahmet, M. A., Hasan, N., and Mohiuddin, S. 2014. Silver Nanoparticles: Green Synthesis, Characterization, and Their Usage in Determination of Mercury Contamination in Seafoods. *ISRN Nanotechnology*. 24 (1): 1-5.
- APHA. 1998. Standard Method for the Examination of Water and Wastewater. Ed.20.3111 B. USA: American Public Health Association. APHA Washington DC.
- Badjoeri, M dan Zarkasyi, H. 2010. Isolasi dan Seleksi Bakteri Bioremoval Logam Berat Merkuri. Prosiding Seminar Nasional Limnologi V tahun 2010. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.
- Balaji, V., Arulazhagan, P., and Ebenezer, P. 2014. Enzymatic Bioremediation of Polyaromatic Hydrocarbons by Fungal Consortia Enriched from Petroleum Contaminated Soil and Oil Seeds. *Journal of Environmental Biology (JEB)*. 35 (1): 1-9.
- Barus, L. 2007. Kajian Bioreaktor untuk Detoksifikasi Limbah yang Mengandung Merkuri. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Broszeit, S., Hattam, C., and Beaumont, N. 2015. Bioremediation of Waste Under Ocean Acidification: Reviewing the Role of *Mytilus edulis*. *Marine Pollution Bulletin*. 92 (1): 1-10.
- Beskoski, V. P., Cvijovic, G. G., Milic, J., Ilic, M., Miletic, S., Solevic, T., and Vrvic, M. M. 2011. Ex Situ Bioremediation of a Soil Contaminated by Mazut (Heavy Residual Fuel Oil) – a Field Experiment. *Chemosphere*. 83 (1): 34-40.
- Brzeszcz, J., Steliga, T., Kapusta, P., Turkiewicz, A., and Kaszycki, P. 2016. r-strategist versus K-strategist for the Application in Bioremediation of Hydrocarbon-Contaminated Soils. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 106 (1): 41-52.
- [CCME] Canadian Council of Ministers of the Environment, 2002. Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life. Diakses pada 23 Oktober 2017. http://www.ccme.ca/en/resources/canadian_environmental_quality_guidelines/index.html

- Crisofi, F., Genovese, M., Smedile, F., Russo, D., Catalfamo, M., Yakimov, M., Giuliano, L., and Denaro, R. 2016. Bioremediation Technologies for Polluted Seawater Sampled After an Oil-Spill in Taranto Gulf (Italy): a Comparison of Biostimulation, Bioaugmentation and Use of a Washing Agent in Microcosm Studies. *Marine Pollution Bulletin*. 1 (1): 1-8.
- Dagdag, E. E. dan Sukoso. 2015. Isolation and Characterization of A3 and S3 Isolate Thermophilic Bacteria from Lapindo Sidoarjo Mud, East Java. *Journal of ChemTech Research*. 8 (2): 541-548.
- Damodaran, D., Suresh, G., and Mohan, R.B. 2011. Bioremediation of Soil by Removing Heavy Metals Using *Saccharomyces cerevisiae*. 2011 2nd International Conference on Environmental Science and Technology IPCBEE vol.6 IACSIT Press, Singapore.
- Das, A. J. and Kumar, R. 2016. Bioremediation of Petroleum Contaminated Soil to Combat Toxicity on *Withania Somnifera* Through Seed Priming with Biosurfactant Producing Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *Journal of Environmental Management*. 174 (1): 79-86.
- Dash, H. R and Das, S. 2012. Bioremediation of Mercury and the Importance of bacterial *mer* genes. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 1 (75): 207-213.
- Dash, H. R and Das, S. 2015. Bioremediation of Inorganic Mercury Through Volatilization and Biosorption by Transgenic *Bacillus cereus* BW-03(pPW-05). *International Biodeterioration and Biodegradation*. 103 (1): 179-185.
- Davies, G.R. 2014. A Toxic Free Future: Is There a Role for Alternatives to Mercury in Small-Scale Gold Mining?. *Journal Futures*. 1 (62): 113-119.
- Dewi, A. K. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap *Amoxicillin* dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *JSV*. 31 (2): 138-150.
- Dunham-Cheatham, S., Mishra, B., Myneni, S, and Fein, J.B. 2015. The Effect of Natural Organic Matter on the Adsorption of Mercury to Bacterial Cells. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 2 (150): 1-10.
- Eriyati dan Iyan, R.Y. 2011. Dampak Ekonomi dan Lingkungan Penambangan Emas Liar di Desa Kebun Lado Kecamatan Singingi Kabupaten Kuantan Singingi. *Jurnal Ekonomi*. 3 (9): 135-143.
- Firmino, P. I. M., Farias, R. S., Barros, A. N., Buarque, P. M. C., Rodriguez, E., Lopes, A. C., and Santos, A. B. 2015. Understanding the Anaerobic BTEX Removal in Continuous-Flow Bioreactors for Ex Situ Bioremediation Purposes. *Journal Chemical Engineering* 281 (1): 272-280.
- Fonti, V., Beolchini, F., Rocchetti, L., and Dell'Anno, A. 2015. Bioremediation of contaminated marine sediments can enhance metal mobility due to changes of bacterial diversity. *Water Research*. 68 (1): 637-650.
- Garcia, M. E., Betancourt, O., Cueva, E., and Gimaraes, J. R. D. 2012. Mining and Seasonal Variation of the Metals Concentration in the Puyango River Basin—Ecuador. *Journal of Environmental Protection*. 3 (1): 1542-1550.

- Hardiani, H., Kardiansyah, T., dan Sugesty, S. 2011. Bioremediasi Logam Timbal (Pb) dalam Tanah Terkontaminasi Limbah *Sludge* Industri Kertas Proses *Deinking*. Balai Besar Pulp dan Kertas. Jakarta.
- Hasan, P.A.R. 2009. Development, Power, and the Mining Industry in Papua: A Study of Freeport Indonesia. *Journal of Business Ethics* 89 (1): 129-143.
- Hashim, M.A., Mukhopadhyay, S., Sahu, J.N., and Sengupta, B. 2011. Remediation Technologies for Heavy Metal Contaminated Groundwater. *Journal of Environmental Management* 1 (92): 2355-2388.
- Hellal, J., Guedron, S., Huguet, L., Schafer, J., Laperche, V., Joulian, C., Lancelleur, L., Burnol, A., Ghestem, J.P., Garrido, F., and Battaglia-Brunet, F. 2015. Mercury Mobilization and Speciation Linked to Bacterial Iron Oxide and Sulfate Reduction: A Column Study to Mimic Reactive Transfer in an Anoxic Aquifer. *Journal of Contaminant Hydrology* 1 (180): 56-68.
- Hema, T.G., Getha, K., Tan, G.Y.A., Sahira, H.L., Syamil, A.M. and Fairuz, M.Y.N. 2014. Actinobacteria Isolates from Tin Tailings and Forest Soil for Bioremediation of Heavy Metals. *Journal of Tropical Forest Science*. 1 (26): 153-162.
- Himedia. 2015. *Luria Bertani Broth*. Diakses pada 21 Juni 2017. <http://www.himedialabs.com/intl/en/products/Molecular-Biology/Molecular-Biology-Growth-Media-Escherichia-coli/Luria-Bertani-Broth-Miller-Miller-Luria-Bertani-M1245>
- Holidah, I. 2016. Analisis Logam Merkuri dan Arsen dalam Krim Pemutih Kulit secara *Microwave Plasma Atomic Emission Spectroscopy* (MP-AES). Tesis. Universitas Lampung.
- Hu, Z. and Chan, W. 2015. In-Situ Bioremediation for Petroleum Contamination: a Fuzzy Rule-Based Model Predictive Control System. *Engineering Applications of Artificial Intelligence* 38 (1):70-78.
- Imamuddin, H. 2010. Pola Pertumbuhan dan Toksisitas Bakteri Resisten HgCl₂ *Ochrobactrum* sp. S79 dari Cikotok, Banten. *Jurnal Ekosains*. 2 (1): 26-32.
- Indriyati, 2005. Pengolahan Limbah Cair Organik secara Biologi Menggunakan Reaktor Anaerobik Lekat Diam. 2005. *Jurnal Agroindustri* 1 (3): 340-343.
- Isa, I dan Retnowati, Y. 2014. Pemanfaatan Berbagai Jenis Bakteri dalam Proses Bioleaching Limbah Logam Berat. Universitas Negeri Gorontalo. Gorontalo.
- Kang, C-H., Oh, S. J., Han, S-H., Nam, I-H., and So, J-S. 2015. Bioremediation of Lead by Ureolytic Bacteria Isolated From Soil at Abandoned Metal Mines in South Korea. *Ecological Engineering* 74 (1): 402-407.
- Karmanto, Kencanawati, D., dan Adlan, M. 2013. Menimbang Masa Depan Bisnis Tambang. Media Penilai. Jakarta.
- Kocman, D., Kanduc, T., and Ogrinc, N. 2009. Distribution and Partitioning of Mercury in a River Catchment Impacted by Former Mercury Mining Activity. *Biogeochemistry* 104 (1): 183-201.
- Lihawa, F dan Mahmud, M. 2012. Sebaran Spasial dan Temporal Kandungan Merkuri pada Lokasi Pertambangan Emas Tradisional di Kabupaten Bone Bolango. Universitas Negeri Gorontalo. Gorontalo.

- Liu, J., Xu, X., Yu, S., Cheng, H., Peng, J., Hong, Y., Feng, X. 2014. Mercury Contamination in Fish and Human Hair from Hainan Island, South China Sea: Implication for Human Exposure. *Environmental Research* 1 (135): 42-47.
- Liu, H., Zhu, J., Hu, Q., and Rao, X. 2016. *Morganella Morganii*, A Non-Negligent Opportunistic Pathogen. *International Journal of Infectious Diseases*. 50 (1): 10-17.
- Mahbub, K.R., Krishnan, K. and Megharaj, M. 2016. Bioremediation Potential of a Highly Mercury Resistant Bacterial Strain *Sphingobium* SA2 Isolated from Contaminated Soil. *Chemosphere* 1 (144): 330-337.
- Marlina. 2009. Identifikasi Bakteri *Vibrio Parahaemolyticus* dengan Metode *Biolog* dan Deteksi Gen *toxR* nya Secara PCR. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 13 (1): 1-7.
- Mena, E., Villasenor, J., Canizares, P., Rodrigo, M.A. 2016. Effect of Electric Field on The Performance of Soil Electrobioremediation with a Periodic Polarity Reversal Strategy. *Chemosphere* 146 (1): 300-307.
- Mieiro, C.L., Pacheco, M., Duarte, A.C., dan Pereira, M.E. 2011. Fish consumption and risk of contamination by mercury – Considerations on the definition of edible parts based on the case study of European sea bass. *Marine Pollution Bulletin*. 62 (1): 2850-2853.
- Mirdat, Patadungan, Y. S., dan Isrun. 2013. Status Logam Berat Merkuri (Hg) dalam Tanah pada Kawasan Pengolahan Tambang Emas di Kelurahan Poboya, Kota Palu. *Jurnal Agrotekbis*. 2 (1): 127-134.
- Moenir, M. 2010. Kajian Fitoremediasi sebagai Alternatif Pemulihan Tanah Tercemar Logam Berat. *Jurnal Riset Teknologi Pencegahan dan Pencemaran Industri*. 1 (2): 115-123.
- Mohamad, N. A., Jusoh, N. A., Htike, Z. Z., and Win, L. 2014. Bacteria Identification From Microscopic Morphology: a Survey. *International Journal on Soft Computing, Artificial Intelligence and Applications (IJSCAI)*. 3 (2): 1-12.
- Nasikhin, R. dan Shovitri, M. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Solar dan Bensin dari Pelabuhan Gresik. *Jurnal Sains dan Seni POMITS*. 2 (2): 2337-3520.
- Neneng, L. 2007. Pengaruh Kondisi Lingkungan terhadap Efektivitas Bioremediasi Merkuri oleh Isolat Bakteri dan Sosialisasi Aplikasinya dalam Bioreaktor Sederhana Kepada Penambang Emas di DAS Kahayan Kalimantan Tengah. Universitas Negeri Malang. Malang. Disertasi.
- Oxoid. 2013. *Microbact Identification Kit*. Diakses pada 21 Januari 2017. <http://www.oxoid.com>.
- Pavilonis, B., Grassman, J., Johnson, G., Diaz, Y., and Caravanos, J. 2017. Characterization and risk of exposure to elements from artisanal gold mining operations in the Bolivian Andes. *Environmental Research* 154 (1): 1-9.
- Pepi, M., Gaggi, C., Bernardini, E., Focardi, S., Lobianco, A., Ruta, M., Nicolardi, V., Volterrani, M., Gasperini, S., Trinchera, G., Renzi, P., Gabellini, M., and Focardi, S.E. 2011. Mercury-resistant Bacterial Strains *Pseudomonas* and *Psychrobacter* spp. Isolated from Sediments of Orbetello Lagoon (Italy) and their Possible Use in Bioremediation Processes. *International Biodeterioration & Biodegradation* 1 (65): 85-91.

- Public Health England. 2015. UK Standards for Microbiology Investigations Identification of Enterobacteriaceae. National Health Service (NHS). UK.
- Purnomo, S., dan Sasmito, I. Studi Pengolahan Limbah Cair Bahan Berbahaya dan Beracun. BATAN. Jakarta. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pengolahan Limbah VIII. Pusat Teknologi Limbah Radioaktif-BATAN.
- Raj, A., Kumar, S., Haq, I., And Singh, S.K. 2014. Bioremediation and Toxicity Reduction in Pulp and Paper Mill Effluent by Newly Isolated Ligninolytic *Paenibacillus* sp. *Ecological Engineering*. 71 (1): 355-362.
- Rein, A., Adam, I. K. U., Miltner, A., Brumme, K., Kastner, M., and Trapp, S. 2016. Impact of Bacterial Activity on Turnover of Insoluble Hydrophobic Substrates (Phenanthrene and Pyrene)—Model Simulations For Prediction of Bioremediation Success. *Journal of Hazardous Materials* 306 (1): 105-114.
- Rembuluwani, N., Dacosta, F.A., and Gumbo, J.R. 2014. Environmental Risk Assessment and Risk Management Strategies for Abandoned New Union Gold Mine in Malamulele, Limpopo, South Africa. An Interdisciplinary Response to Mine Water Challenges - Sui, Sun & Wang (eds). China University of Mining and Technology Press, Xuzhou.
- Retnowati, Y. 2011. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pengguna Merkuri dari Sedimen Sungai yang Terkontaminasi Limbah Tambang Emas. *Jurnal Saintek*. 6 (1): 1-9.
- Riaz, A., Khan, S., Shah, M.T., Li, G., Gul, N., and Shamshad, I. 2016. Mercury Contamination in the Blood, Urine, Hair and Nails of the Gold Washers and its Human Health Risk during Extraction of Placer Gold along Gilgit, Hunza and Indus Rivers in Gilgit-Baltistan, Pakistan. *Environmental Technology & Innovation* 1 (5): 22-29.
- Rodrigues, E. M., Kalks, K. H. M., Fernandes, P. L., and Totola, M. R. 2015. Bioremediation Strategies of Hydrocarbons and Microbial Diversity in the Trindade Island Shoreline-Brazil. *Marine Pollution Bulletin*. 101 (1): 517-525.
- Rondonuwu, S. B. 2012. Bioremediasi Limbah Mengandung Merkuri Menggunakan Bakteri Tempatan Dengan Sistem Bioreaktor dan Lahan Basah Buatan. Institut Pertanian Bogor. Disertasi.
- Sardiani, N., Litaay, M., Budji, R.G., Priosambodo, D., Syahribulan, dan Dwyana, Z. 2015. Potensi Tunikata *Rhopalaea* sp Sebagai Sumber Inokulum Bakteri Endosimbion Penghasil Antibakteri; 1. Karakterisasi Isolat. *Jurnal Alam dan Lingkungan*. 6 (11): 1-10.
- Santini, T. C., Kerr, J. L., and Warren, L. A. 2015. Microbially-Driven Strategies for Bioremediation of Bauxite Residue. *Journal of Hazardous Materials* 293 (1): 131-157.
- Seccatore, J. and Theije, M. 2016. Socio-Technical Study of Small-Scale Gold Mining in Suriname. *Journal of Cleaner Productin* 144 (1): 107-119.
- Selayar, N.A., Tumembouw, S., Mondoringin, L.J.J. 2015. Telaah Kandungan Logam Berat Merkuri (Hg) Di Sekitar Teluk Manado. *Jurnal Budidaya Perairan*. 3 (1): 124-130.
- Setiawan, C. 2014. Menyingkap Harta Tersembunyi di Pantai Prigi, Kabupaten Trenggalek. Diakses pada 21 Februari 2017. <http://suarageologi.blogspot.co.id>

- Setiyo, Y., Utama, M. S., Tika, W., dan Gunadnya, I. 2011. Optimalisasi Proses Bioremediasi Secara *In Situ* pada Lahan Tercemar Pestisida Kelompok Mankozebe. *Jurnal Teknik Industri*. 12 (1): 51-56.
- Shaaban, M.T., Ghozlan, H.A., and Maghraby, M.M.E. 2012. Susceptibility of Bacteria Infecting Urinary Tract to Some Antibiotics and Essential Oils. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2 (4): 90-98.
- Sholikah, U., Kuswytasari, N.D., dan Zulaika, E. 2012. Adaptasi Genera *Bacillus* pada Media yang Mengandung Logam Merkuri. Scientific Conference of Environmental Technology IX. Surabaya, 2012.
- Siahaan, B. C., Utami, S. R., dan Handayanto, E. 2014. Fitoremediasi Tanah Tercemar Merkuri (Hg) Limbah Tailing Tambang Emas Menggunakan *Lindernia Crustacea*, *Digitaria Radicosa*, dan *Cyperus Rotundus* serta Pengaruhnya Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Jagung. *Jurnal Tanah dan Sumberdaya Lahan*. 1 (2): 38-48.
- Sinha, A., Pant, K.K., and Khare, S.K. 2012. Studies on Mercury Bioremediation by Alginate Immobilized Mercury Tolerant *Bacillus cereus* Cells. *International Biodeterioration & Biodegradation* 1 (71): 1-8.
- Song, X., Hong, E., and Seagren, E. A. 2014. Laboratory-scale In Situ Bioremediation in Heterogenous Porous Media: Biokinetics-Limited Scenario. *Contaminant Hydrology* 158 (1): 78-92.
- Suryani, Y. 2011. Bioremediasi Limbah Merkuri dengan Menggunakan Mikroba pada Lingkungan Yang Tercemar. *Jurnal ISTEK*. 5 (1): 139-148.
- Susana, E dan Suyaningsih, T. 2014. Teknologi Pengolahan Limbah Cair Industri Rambut Palsu dengan Cara Kimia dan Biologi Aerob. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Susintowati, dan Hadisusanto, S. 2014. Bioakumulasi Merkuri dan Struktur Hepatopankreas pada *Terebralia Sulcata* dan *Nerita Argus* (Moluska: Gastropoda) di Kawasan Bekas Penggelondongan Emas, Muara Sungai Lampon, Banyuwangi, Jawa Timur. *Jurnal Manusia dan Lingkungan*. 21 (1): 34-40.
- Taylor, D. L., Kutil, N. J., Malek, A. J. and Collie, J.S. 2014. Mercury Bioaccumulation in Cartilaginous Fishes from Southern New England Coastal Waters: Contamination from a Trophic Ecology and Human Health Perspective. *Marine Environmental Research* 1 (99): 20-33.
- Tomei, M. C., Angelucci, D. M., and Annesini, M. C. 2013. Ex Situ Remediation of Polluted Soils by Absorptive Polymers, and Acomparison of Slurry and Two-Phase Partitioning Bioreactors for Ultimate Contaminant Degradation. *Journal of Hazardous Materials* 262 (1): 31-37.
- Tian, C., Liu, X., Tan, J., Lin, S., Li, D., and Yang, H. 2012. Isolation, identification and Characterization of an Algicidal Bacterium from Lake Taihu and Preliminary Studies on its Algicidal Compounds. *Environment Sciences*. 24 (1): 1823-1831.
- Tu, Q., Chen, J., and Guo, J. 2013. Screening and Identification of Antagonistic Bacteria with Potential for Biological Control of *Penicillium italicum* of Citrus Fruits. *Scientia Horticulturae*. 150 (1): 125-129.

- Tuhuloula, A. 2013. Bioremediasi Lahan Terkontaminasi Minyak Bumi dengan Menggunakan Bakteri *Bacillus Cereus* pada *Slurry Bioreactor*. Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya. Tesis.
- Vinod, V.T.P., Sashidhar, R.B., Sivaprasad, N., Sarma, V.U.M., Satyanarayana, N., Kumaresan, R., Rao, T.N., and Raviprasad, P. 2011. Bioremediation of Mercury (II) from Aqueous Solution by Gum Karaya (*Sterculia urens*): A Natural Hydrocolloid. *Journal Desalination*. 1 (272): 270-277.
- Vinogradof, E., Nash, J.H.E., Foote, S., and Young, N.,M. 2015. The Structure Of The *Morganella Morganii* Lipopolysaccharide Core Region and Identification of its Genomic Loci. *Carbohydrate Research*. 402 (1): 232-235.
- Wagner-Dobler, I., Canstein, H. V., Li, Y., Timmis, K. N., and Deckwer, W. D. 2000. Removal of Mercury from Chemical Wastewater by Microorganisms in Technical Scale. *Environmental Science Technology*. 34 (21):4628-4634.
- Wu, H., Huo, Y., Zu, M., Wei, Z., And He, P. 2015. Eutrophication Assessment and Bioremediation Strategy Using Seaweeds Co-Cultured with Aquatic Animals in an Enclosed Bay in China. *Marine Pollution Bulletin*. 95 (1): 342-349.
- Xu, J., Bravo, A.G., Lagerkvist, A, and Bertilsson, S. 2015. Sources and Remediation Techniques for Mercury Contaminated Soil. *Environment International* 1 (74): 42-53.
- Yan, R., Yang, F., Wu, Y., Hu, Z., Nath, B., Yang, L., and Fang, Y. 2011. Cadmium and Mercury Removal From Non-Point Source Wastewater by a Hybrid Bioreactor. *Bioresource Technology*. 102 (1): 9927-9932.
- Yang, G. C. C., Huang, S-C., Jen, Y-S., and Tsai, P-S. 2016. Remediation of Phthalates in River Sediment by Integrated Enhanced Bioremediation and Electrokinetic Process. *Chemosphere*. 150 (1): 576-585.
- Yu, C. W., Horng, W. J., Chiang, L. S., and En, C. J. 2016. Bioremediation of Polychlorinated-*p*-Dioxins/Dibenzofurans Contaminated Soil using Simulated Compost-Amended Landfill Reactors under Hypoxic Conditions. *Hazard Materials* 60 (1): 1-24.
- Yu, Z., Zhu, X., Jiang, Y., Luo, P., and Hu, C. 2014. Bioremediation and Fodder Potentials of Two *Sargassum* spp. In Coastal Waters of Shenzhen, South China. *Marine Pollution Bulletin*. 85 (1): 797-802.
- Yuli, D. F., dan Badrianto, B. S. 2010. Konflik Pertambangan Emas di Gunung Tumpang Pitu Desa Sumberagung Kecamatan Pesanggaran Kabupaten Banyuwangi Tahun 2007-2009. Artikel Hasil Penelitian Mahasiswa 2013.
- Yunianto, B. 2009. Permasalahan Pengelolaan Potensi Emas di Gunung Tumpang Pitu Kecamatan Pesanggaran, Kabupaten Banyuwangi, Jawa Timur. Prosiding Kolokium Pertambangan. Bandung, 15 Juli 2009.
- Zhang, J., Lin, X., Liu, W., Wang, Y., Zeng, J., and Cen, H. 2012. Effect of Organic Wastes on the Plant-Microbe Remediation for Removal of Aged Pahs in Soils. *Environmental Sciences*. 24 (8): 1476–1482.

- Zhang, Y., Zhao, L., Guo, R., Song, N., Wang, J., Cao, Y., Orndorff, W. and Pan, W. 2015. Mercury Adsorption Characteristics of HBr-Modified Fly Ash in an Entrained-Flow Reactor. *Environmental Sciences*. 1 (33): 156-162.
- Zulfikah, Basir, M., dan Isrun. 2014. Konsentrasi Merkuri (Hg) dalam Tanah dan Jaringan Tanaman Kangkung (*Ipomoea Reptans*) Yang Diberi Bokashi Kirinyu (*Chromolaena Odorata* L.) pada Limbah Tailing Penambangan Emas Poboya Kota Palu. *e-Journal Agrotekbis*. 2 (6): 587-595.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Lokasi Penambangan Emas Tumpang Pitu, Banyuwangi



Gambar 1. Peta Lokasi Penambangan Emas Tumpang Pitu, Kabupaten Banyuwangi
 Sumber Gambar: mahamerujayatourorganizer.wordpress.com

Keterangan:

- a. Penambangan milik pak Budi
- b. Penambangan milik pak Priyo
- c. penambangan milik pak Suroso

Lampiran 2. Hasil Analisis Konsentrasi Merkuri dan pH Sampel Penambangan Emas

Tabel 1. Rerata Konsentrasi Merkuri dan pH Sampel Cair dan Sedimen

No.	Jenis Sampel	Parameter							
		Konsentrasi Merkuri (ppm)				pH			
		U1	U2	Rata-Rata	Standar Deviasi	U1	U2	Rata-Rata	Standar Deviasi
1	Sedimen 1	0.052	0.055	0.054		7.62	7.65	7.64	
2	Sedimen 2	0.065	0.060	0.063	0.016	7.49	7.45	7.47	0.084
3	Sedimen 3	0.035	0.031	0.033		7.56	7.59	7.58	
4	Cair 1	0.029	0.033	0.031		8.29	8.35	8.32	
5	Cair 2	0.045	0.041	0.043	0.006	8.01	8.09	8.05	0.139
6	Cair 3	0.032	0.036	0.034		8.11	8.15	8.13	

Lampiran 3. Hasil Uji Reduksi Hg pada Beberapa Media dan Kecepatan Aerasi

Tabel 1. Hasil Uji Reduksi Hg pada Beberapa Media dan Kecepatan Aerasi

No	Perlakuan (Hg Awal 50 ppm)		Hg Akhir (ppm)			Rata-Rata	Efektivitas (ppm)			Rata-Rata	Efektivitas Bioremediasi Merkuri (%)			Rata-Rata
	Media	Aerasi	UI.1	UI.2	UI.3		UI.1	UI.2	UI.3		UI.1	UI.2	UI.3	
1	A	0 vvm	10.3	11.5	10.7	10.83	39.7	38.5	39.3	39.17	79.4	77	78.6	78.33
2		2 vvm	4.15	3.65	5.9	4.57	45.85	46.35	44.1	45.43	91.7	92.7	88.2	90.87
3		3 vvm	2.95	3.8	6.5	4.42	47.05	46.2	43.5	45.58	94.1	92.4	87	91.17
4		4 vvm	6.2	5.55	5.3	5.68	43.8	44.45	44.7	44.32	87.6	88.9	89.4	88.63
5	B	0 vvm	11.5	10.8	9.8	10.70	38.5	39.2	40.2	39.30	77	78.4	80.4	78.60
6		2 vvm	1.2	0.55	0.95	0.90	48.8	49.45	49.05	49.10	97.6	98.9	98.1	98.20
7		3 vvm	2.2	3.5	8.1	4.60	47.8	46.5	41.9	45.40	95.6	93	83.8	90.80
8		4 vvm	7.75	8.5	7.75	8.00	42.25	41.5	42.25	42.00	84.5	83	84.5	84.00
9	C	0 vvm	14.7	13.9	12.8	13.80	35.3	36.1	37.2	36.20	70.6	72.2	74.4	72.40
10		2 vvm	4.65	4.8	4.55	4.67	45.35	45.2	45.45	45.33	90.7	90.4	90.9	90.67
11		3 vvm	10.25	8.9	10	9.72	39.75	41.1	40	40.28	79.5	82.2	80	80.57
12		4 vvm	14.1	13.65	14.9	14.22	35.9	36.35	35.1	35.78	71.8	72.7	70.2	71.57

Tabel 2. Hasil Efektivitas Bioremediasi

Jenis Media	Perlakuan		Ulangan			Total	Rata-Rata
	Kecepatan Aerasi (vvm)		1	2	3		
A	0		79.4	77	78.6	235	78.33
	2		91.7	92.7	88.2	272.6	90.87
	3		94.1	92.4	87	273.5	91.17
	4		87.6	88.9	89.4	265.9	88.63
B	0		77	78.4	80.4	235.8	78.60
	2		97.6	98.9	98.1	294.6	98.20
	3		95.6	93	83.8	272.4	90.80
	4		84.5	83	84.5	252	84.00
C	0		70.6	72.2	74.4	217.2	72.40
	2		90.7	90.4	90.9	272	90.67
	3		79.5	82.2	80	241.7	80.57
	4		71.8	72.7	70.2	214.7	71.57

Lampiran 4. Pengolahan Data Hasil Uji Reduksi Merkuri pada Jenis Media dan Kecepatan Aerasi

Tabel 4.1 Tabel Sidik Ragam (ANOVA) Menggunakan program SPSS 20.0

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Bioremediasi

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2308.323 ^a	11	209.848	35.173	.000
Intercept	257962.410	1	257962.410	43237.949	.000
Media	618.540	2	309.270	51.838	.000
Aerasi(Media)	1689.783	9	187.754	31.470	.000
Error	143.187	24	5.966		
Total	260413.920	36			
Corrected Total	2451.510	35			

a. R Squared = .942 (Adjusted R Squared = .915)

Tabel 4.2 Uji Lanjutan DMRT

Post Hoc Tests

Media

Homogeneous Subsets

Bioremediasi

Duncan

Media	N	Subset	
		1	2
3	12	78.800	
1	12		87.250
2	12		87.900
Sig.		1.000	.521

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 5.966.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = 0.05.

Aerasi

Homogeneous Subsets

Bioremediasi

Duncan

Aerasi	N	Subset			
		1	2	3	4
0	9	76.444			
4	9		81.400		
3	9			87.511	
2	9				93.244
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

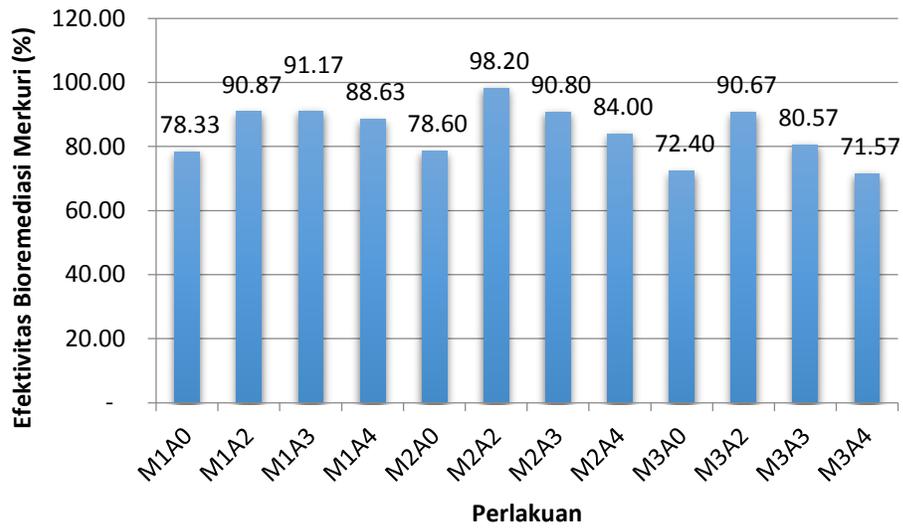
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 13.116.

- Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.
- Alpha = 0.05.

Lampiran 4. Pengolahan Data Hasil Uji Reduksi Hg pada Beberapa Media dan Kecepatan Aerasi (Lanjutan)



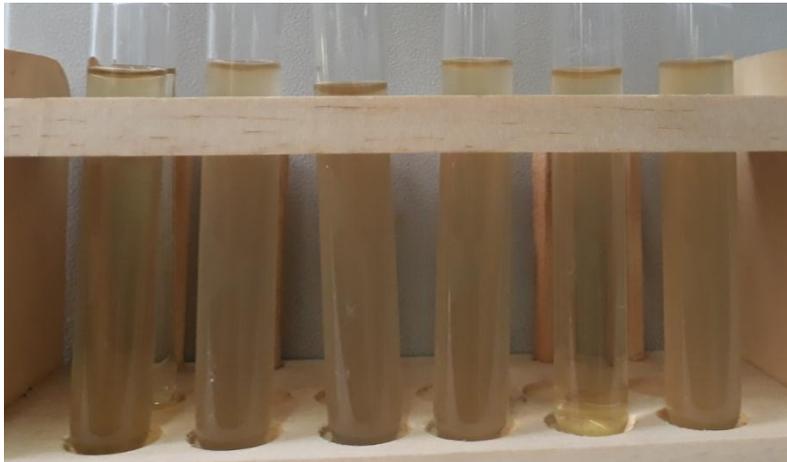
Gambar 1. Diagram Efektivitas Bioremediasi Berdasarkan Perlakuan Jenis Media dan Kecepatan Aerasi

Lampiran 5. Bioremediasi Menggunakan Bioreaktor Sederhana

Tabel 1. Efektivitas Merkuri Menggunakan Bioreaktor Sederhana

No.	Jumlah Hari	Hg Awal (ppm)	Hg Akhir (ppm)			Efektivitas (ppm)	Efektivitas (%)
			Ul. 1	Ul. 2	Rata-Rata		
1	1 Hari	50	0.01	0.01	0.01	49.99	99.98
2	2 Hari		0.02	0.02	0.02	49.98	99.96
3	3 Hari		0.07	0.05	0.06	49.94	99.88
4	4 Hari		0.08	0.08	0.08	49.92	99.84
5	5 Hari		0.2	0.1	0.15	49.85	99.70
6	6 Hari		0.2	0.3	0.25	49.75	99.50
7	7 Hari		0.3	0.3	0.3	49.7	99.40
8	8 Hari		0.5	0.7	0.6	49.4	98.80
9	9 Hari		0.7	0.7	0.7	49.3	98.60
10	10 Hari		1	1.2	1.1	48.9	97.80

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian



Gambar 1. Tingkat Kekeruhan dengan Pemberian Kosentrasi Merkuri 130 ppm



Gambar 2. Proses Pewarnaan Gram Bakteri



Gambar 3. Penentuan Jenis Media dan Kecepatan Aerasi

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian (Lanjutan)



Gambar 1. Penentuan Waktu Kontak di Bioreaktor



Gambar 2. Biakan Bakteri yang Digunakan dalam Bioreaktor

Lampiran 7. Perhitungan Bioreaktor

Diketahui:

- diameter lubang keran (D)=1 cm
- jari-jari (r)= 0,5 cm
- Panjang keran=5,5 cm
- Panjang pipa=26 cm
- Bukaan keran=1/4
- Waktu habisnya aliran limbah = 3 jam

1. Menghitung luas penampang (A)

$$A = \pi \times r^2 = 3,14 \times 0,5^2 = 0,785 \text{ cm}^2$$

2. Menghitung kecepatan (v)

$$\begin{aligned} V &= A \times \text{panjang keran} + \text{panjang pipa} = 0,785 \text{ cm} \times (26 \text{ cm} + 5,5 \text{ cm}) \\ &= 0,785 \text{ cm}^2 \times 31,5 \text{ cm} \\ &= 24,72 \text{ cm}^3 \\ &= 0,02 \text{ dm}^3 = 0,02 \text{ l} \end{aligned}$$

3. Menghitung debit

$$\begin{aligned} Q &= \frac{V}{t} \\ &= \frac{0,02 \text{ l}}{3 \text{ jam}} \\ &= 0,008 \\ &= 8 \text{ ml/jam} \\ &= 480 \text{ ml/jam (apabila bukaan keran penuh)} \end{aligned}$$

Bila bukaannya 1/4, maka:

$$480 \text{ ml/jam} \times \frac{1}{8} = 60 \text{ ml/jam}$$

Lampiran 8. Batu Apung dan Arang Aktif yang Digunakan dalam Penelitian



Gambar 1. Batu Apung



Gambar 2. Arang Aktif