

Uji Kemampuan Bakteri *Azotobacter S8* dan *Bacillus subtilis* untuk Menyisihkan *Trivalent Chromium* (Cr^{3+}) pada Limbah Cair

Muhammad Fauzul Imron dan Ipung Fitri Purwanti

Jurusan Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Haki, Surabaya 60111 Indonesia

email: purwanti@enviro.its.ac.id

Abstrak — Penggunaan kromium dalam berbagai industri telah menyebabkan pencemaran pada lingkungan. Limbah kromium yang sering ditemukan pada badan air dalam bentuk Cr^{3+} dan Cr^{6+} . Bakteri diketahui mampu menyisihkan logam berat kromium sehingga dapat digunakan sebagai agen bioremediasi. *Azotobacter S8* dan *Bacillus subtilis* merupakan bakteri yang mampu menyisihkan logam berat kromium. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan komposisi optimum dan persentase penyisihan logam berat kromium oleh bakteri *Azotobacter S8* dan *Bacillus subtilis* baik secara tunggal ataupun konsortium. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa persentase penyisihan tertinggi dilakukan oleh bakteri tunggal *Azotobacter S8* yaitu 10,53% pada konsentrasi 50 mg/L dengan waktu 4 jam dan pH 8,35 serta jumlah koloni akhir yang terukur adalah 4×10^9 CFU/ml.

Kata Kunci — *Azotobacter S8*, *Bacillus subtilis*, Bioremediasi, Cr^{3+} , Logam berat

I. PENDAHULUAN

PENGGUNAAN kromium dalam berbagai proses manufaktur seperti industri penyamakan kulit telah menyebabkan pelepasan logam kromium ke lingkungan [1]. Industri penyamakan kulit merupakan industri yang menghasilkan limbah cair kromium dengan konsentrasi antara 40 – 25.000 mg/L [2]. Limbah kromium yang sering ditemukan pada badan air dalam bentuk Cr^{3+} dan Cr^{6+} [3]. Cr^{6+} merupakan bentuk kromium yang kurang stabil karena mudah bereaksi dengan partikel lain di udara bebas membentuk Cr^{3+} [4], sehingga perlu dilakukan pengolahan lebih lanjut terhadap kromium yang berbentuk Cr^{3+} [5].

Rujukan [4] menyatakan logam kromium yang terdapat pada badan air berkisar antara 0,1 to 117 $\mu\text{g/L}$. Kadar kromium yang diizinkan untuk air minum adalah kurang dari sama dengan 0,05 mg/L [6], sedangkan untuk air limbah adalah 0,5 mg/L [7]. Kromium dalam jumlah besar dapat menyebabkan iritasi pada hidung, alergi, gangguan pernafasan dan masalah reproduksi [8].

Bioremediasi merupakan salah satu teknologi yang digunakan untuk mengolah limbah cair yang mengandung kromium [4]. Bioremediasi merupakan salah satu bioteknologi yang bisa digunakan untuk memperbaiki ekosistem, merubah polutan menjadi substrat, menghasilkan materi yang biodegradabel dari sumber daya alam dan mengembangkan produksi manufaktur yang ramah

lingkungan [9]. Rujukan [10] menyatakan prinsip bioremediasi adalah memanfaatkan reaksi metabolisme dari mikroorganisme untuk mendegradasi kontaminan yang terdapat pada lingkungan.

Bacillus subtilis [11] dan *Azotobacter S8* [12] merupakan bakteri yang dapat digunakan sebagai agen bioremediasi logam berat kromium. Rujukan [11] menyatakan *Bacillus subtilis* mampu menyisihkan 95,19% Cr^{6+} pada effluen air limbah dengan konsentrasi awal sebesar 100 mg/L dan mampu menyisihkan logam kromium hingga 100% dengan konsentrasi awal 10 mg/L selama 24 jam [13]. Sedangkan *Azotobacter* resisten terhadap logam berat kromium hingga konsentrasi 300 mg/L [12]. *Azotobacter* memiliki komponen polimer ekstraseluler yaitu eksopolisakarida (EPS) yang memiliki sifat mengikat polutan logam [14]. *Azotobacter* mampu menghasilkan EPS pada kultur dengan logam berat Fe, Zn, dan Cr [15]. Rujukan [16] menunjukkan bahwa *Azotobacter* memiliki tingkat ketahanan dan pengikatan logam Pb dan Cd yang lebih besar dibanding bakteri *Bacillus megaterium*.

Efisiensi penyisihan terhadap logam berat kromium dapat berubah seiring dengan jenis dan komposisi bakteri yang digunakan [17]. Bakteri konsortium antara *Pseudomonas aeruginosa* dengan *Bacillus subtilis* mampu menyisihkan logam berat kromium hingga 99,6% dengan konsentrasi awal 570 mg/L [2]. Sedangkan komposisi optimum antara *Pseudomonas putida* dengan *Bacillus subtilis* yang digunakan sebagai bakteri konsortium adalah 50:50 yang memiliki efisiensi penyisihan hingga 85% dengan konsentrasi awal 50 mg/L [18].

Berdasarkan latar belakang diatas, maka tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan komposisi optimum dan persentase penyisihan logam berat kromium oleh bakteri *Azotobacter S8* dan *Bacillus subtilis* baik secara tunggal ataupun konsortium.

II. METODE PENELITIAN

A. Uji Laju Pertumbuhan Bakteri

Uji laju pertumbuhan bakteri dilakukan untuk mengetahui kurva laju pertumbuhan bakteri dan memperoleh fase eksponensial yang akan digunakan sebagai waktu penentu pada tahap uji penyisihan logam berat kromium. Pada uji laju pertumbuhan bakteri tunggal, isolate bakteri

yang berumur 24 jam diinokulasikan pada media *Nutrient Broth* dengan masa inkubasi pada *shaker* (Innova 2000, USA) selama 24 jam dengan kecepatan putaran adalah 150 rpm [3]. Pada uji laju pertumbuhan bakteri konsortium, inokulum yang telah dikocok selama setengah waktu eksponensial dinormalisasikan pada $OD_{600} = 0,5$ [19]. Inokulum yang ditambahkan pada media *Nutrient Broth* sebanyak 10% dari total volume media [8].

Selama waktu uji dilakukan pengamatan terhadap pH, suhu dan *optical density* (OD). Pengambilan sampel untuk pengamatan dilakukan setiap 2 jam sekali selama 24 jam. Nilai *optical density* diukur dengan spektrofotometer (Genesys 20, USA) dengan panjang gelombang 600 nm [11], sedangkan pH dan suhu diukur dengan pH meter (Cyberscan 510, USA) dan termometer (EC 10 PHonLab, USA).

B. Uji Minimum Inhibitory Concentration

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) merupakan konsentrasi minimum yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode *screening* dengan menggunakan *Nutrient Agar* sebagai media pada cawan petri [20]. Konsentrasi kromium yang digunakan untuk menentukan nilai MIC adalah 0, 5, 50, 100, 250, dan 500 mg/L yang telah disterilkan. Pengamatan terhadap pertumbuhan bakteri setelah 24 jam. Pertumbuhan bakteri pada media yang mengandung kromium dibanding dengan media kontrol yang tidak mengandung kromium.

C. Uji Penyisihan Logam Berat Kromium oleh Bakteri

Uji penyisihan logam berat kromium oleh bakteri dilakukan dengan menginokulasikan bakteri pada larutan kromium 50 mg/L. bakteri yang telah dikocok selama setengah waktu eksponensial dinormalisasikan pada $OD_{600} = 0,5$ [19]. Inokulum yang ditambahkan pada larutan kromium sebanyak 10% dari total volume media. Komposisi bakteri yang digunakan adalah 100% *Azotobacter S8*, 75% *Azotobacter S8*:25% *Bacillus subtilis*, 50% *Azotobacter S8*:50% *Bacillus subtilis*, 25% *Azotobacter S8*:75% *Bacillus subtilis*, dan 100% *Bacillus subtilis*.

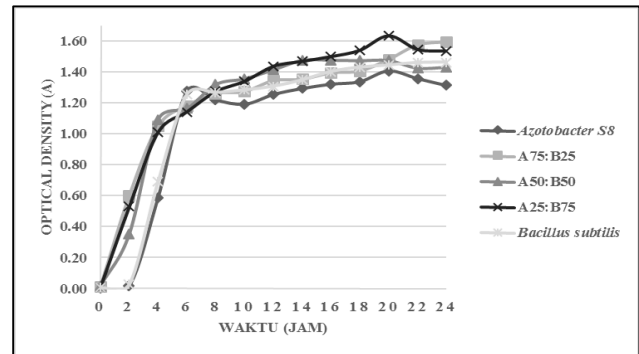
Kultur bakteri diinkubasi pada *shaker* selama waktu eksponensial dengan kecepatan 150 rpm [3]. Parameter yang diukur adalah *optical density*, pH, suhu, total kromium, dan jumlah koloni bakteri. Sampel sebanyak 3 ml diambil dari kultur pada awal, tengah, dan akhir penelitian untuk mengetahui nilai dari parameter yang ditentukan. Nilai *optical density* diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm [11], pH dan suhu diukur dengan pH meter dan termometer, sedangkan total kromium diukur dengan menggunakan AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*) (Rayleigh WFX 210, Beijing).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

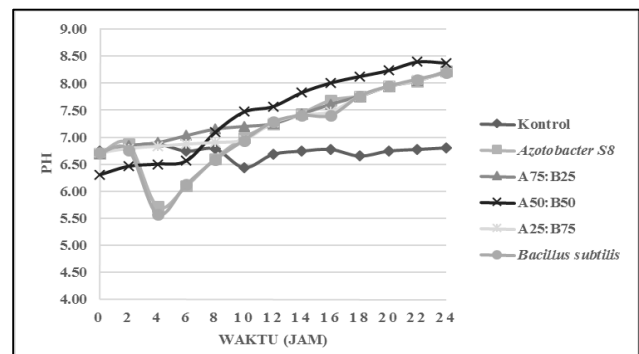
A. Kurva Laju Pertumbuhan Bakteri

Uji laju pertumbuhan bakteri dilakukan untuk mengetahui sifat pertumbuhan bakteri melalui kurva pertumbuhan bakteri. Kurva pertumbuhan bakteri dibuat untuk mengetahui fase pertumbuhan bakteri yaitu fase lag,

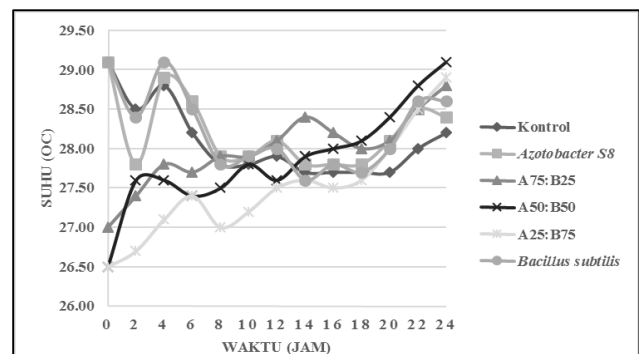
eksponensial, stasioner, dan kematian [21]. Hasil pengukuran parameter untuk setiap komposisi bakteri dapat dilihat pada Gambar 1 hingga Gambar 3.



Gambar 1. Kurva Laju Pertumbuhan Bakteri Tunggal dan Konsortium



Gambar 2. pH Kurva Laju Pertumbuhan Bakteri Tunggal dan Konsortium



Gambar 3. Suhu Kurva Laju Pertumbuhan Bakteri Tunggal dan Konsortium

Berdasarkan Gambar 1 diketahui bahwa fase lag untuk bakteri tunggal terjadi pada jam ke – 0 hingga jam ke – 2, kemudian jam ke – 2 hingga jam ke – 6 merupakan fase eksponensial. Fase eksponensial bakteri konsortium terjadi pada jam ke – 0 hingga jam ke – 4. Hal tersebut ditunjukkan dengan penambahan nilai absorbansi yang signifikan. Rujukan [22] menyatakan bahwa fase eksponensial merupakan fase dimana sel mikroorganisme dalam keadaan stabil dan mampu membelah diri secara berganda.

Fase stasioner untuk bakteri tunggal terjadi pada jam ke – 6 hingga akhir waktu uji, sedangkan fase stasioner untuk bakteri konsortium terjadi pada jam ke – 4 hingga akhir waktu uji. Hal tersebut ditunjukkan dengan penambahan

nilai absorbansi yang relatif kecil. Pada Gambar 1 tidak terlihat fase kematian bakteri. Hal ini diketahui bahwa nilai absorbansi terus mengalami kenaikan. Rujukan [21] menyatakan bahwa metode uji pertumbuhan bakteri dengan pengukuran OD merupakan salah satu metode tidak langsung. Pada metode ini, tidak dapat dibedakan antara bakteri yang hidup dan bakteri yang mati, sehingga hasil pengukuran OD akan cenderung naik selama waktu pengujian.

Faktor yang mempengaruhi laju pertumbuhan bakteri adalah pH [23]. Berdasarkan Gambar 2 diketahui bahwa suhu yang terukur untuk bakteri tunggal *Azotobacter S8* berkisar antara 5,71 hingga 8,22 sedangkan *Bacillus subtilis* berkisar antara 5,57 hingga 8,19. Penurunan pH pada bakteri tunggal disebabkan karena adanya aktifitas pertumbuhan bakteri. Aktifitas tersebut menyebabkan terbentuknya asam – asam sederhana dan karbondioksida akibat pemecahan senyawa organik [24]. Kenaikan pH pada bakteri tunggal setelah jam ke – 4 menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri sudah mulai optimum. Sedangkan pH untuk ketiga bakteri konsortium tidak mengalami penurunan hingga akhir waktu uji. Kenaikan pH tersebut menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri telah mendekati fase stasioner. Rujukan [13] menyatakan *Bacillus subtilis* dapat hidup dengan pH berkisar antara 5 – 9. Sedangkan *Azotobacter S8* dapat hidup dengan pH berkisar antara 4,8 – 8,5 dengan pH optimal 7 – 7,5 [24]. Sehingga hasil pengukuran pH masih termasuk dalam rentang toleransi untuk pertumbuhan bakteri.

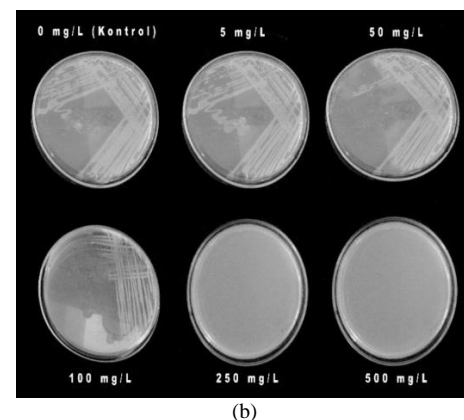
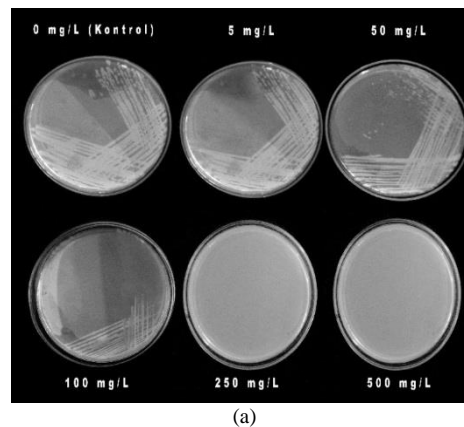
Selain pH, faktor yang mempengaruhi laju pertumbuhan bakteri yang lain adalah suhu [23]. *Azotobacter S8* dan *Bacillus subtilis* merupakan bakteri mesofilik yang dapat hidup dengan rentang suhu 20 – 40°C. Berdasarkan Gambar 3 diketahui bahwa suhu yang terukur untuk bakteri *Azotobacter S8* berkisar antara 27,8°C hingga 29,1°C. Sedangkan suhu yang terukur untuk *Bacillus subtilis* berkisar antara 27,6°C hingga 29,1°C. Pada bakteri konsortium suhu yang terukur berkisar antara 26,5°C hingga 29,1°C. Suhu yang tidak stabil karena adanya aktifitas metabolisme mikroorganismenya. Sehingga rentang suhu yang terukur untuk kedua bakteri uji masih termasuk dalam suhu yang dibutuhkan untuk bakteri tumbuh. Rujukan [13] menyatakan suhu optimum pertumbuhan bakteri adalah 37°C.

Berdasarkan kurva laju pertumbuhan bakteri dapat ditentukan laju pertumbuhan spesifik dan waktu generasi untuk setiap komposisi bakteri dengan persamaan kinetika laju pertumbuhan bakteri yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Laju Pertumbuhan Spesifik dan Waktu Generasi Bakteri

Bakteri	μ (jam ⁻¹)	t (jam)
<i>Azotobacter S8</i>	1,11	0,62
<i>Bacillus subtilis</i>	0,97	0,72
A25:B75	1,18	0,59
A50:B50	1,01	0,68
A75:B25	1,14	0,61

Berdasarkan Tabel 1 diketahui bahwa semakin tinggi laju pertumbuhan spesifik bakteri semakin rendah waktu generasi bakteri. Laju pertumbuhan spesifik untuk setiap bakteri berbeda – beda. Hal ini disebabkan karena kandungan enzim pada masing – masing bakteri berbeda yang mempengaruhi proses metabolisme bakteri. Laju pertumbuhan spesifik tertinggi diperoleh bakteri konsortium 25% *Azotobacter S8* : 75% *Bacillus subtilis* yaitu 1,14/jam dengan waktu generasi adalah 0,61 jam dan laju pertumbuhan spesifik terendah diperoleh bakteri tunggal *Bacillus subtilis* yaitu 0,97/jam dengan waktu generasi 0,75 jam.



Gambar 4. Uji MIC Bakteri *Azotobacter S8* (a) dan *Bacillus subtilis* (b)

B. Minimum Inhibitory Concentration

Minimum inhibitory concentration (MIC) merupakan konsentrasi minimum yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganismenya. Metode yang digunakan adalah metode screening [20]. Tujuan dilakukan uji screening adalah untuk menentukan kadar yang digunakan pada tahap uji penyisihan logam berat kromium. Adapun hasil dari uji screening dan inkubasi selama 24 jam dapat dilihat pada Gambar 4.

Berdasarkan Gambar 4 diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi kromium yang dipaparkan kedalam media semakin sedikit bakteri yang tumbuh dalam media tersebut. Pada media yang tidak mengandung kromium dan konsentrasi 5 mg/L CrCl₃ kedua bakteri menunjukkan pertumbuhan yang sangat baik. Pada konsentrasi 50 mg/L

kedua bakteri menunjukkan pertumbuhan yang cukup baik, sedangkan pada konsentrasi 100 mg/L menunjukkan pertumbuhan yang buruk. Hal ini menunjukkan bahwa kedua bakteri mulai terhambat pertumbuhannya dengan meningkatnya kadar kromium yang dipaparkan. Kedua bakteri tidak menunjukkan adanya pertumbuhan pada konsentrasi 250 mg/L CrCl₃ dan 500 mg/L CrCl₃. Rujukan [12] menyatakan bahwa *Azotobacter S8* memiliki toleransi yang tinggi terhadap logam berat kromium dengan kadar antara 0 – 50 mg/L. Rujukan [13] menyatakan *Bacillus sp* memiliki toleransi yang tinggi terhadap logam berat kromium dengan kadar antara 0 – 50 mg/L.

Hasil dari pengamatan MIC dilakukan skoring terhadap hasil yang diperoleh. Skoring MIC ditentukan berdasarkan luasan permukaan pertumbuhan bakteri dan perubahan warna yang dibandingkan dengan pertumbuhan bakteri kontrol. Akan tetapi kriteria yang diutamakan adalah luasan permukaan pertumbuhan bakteri. Hal ini ditentukan karena persebaran bakteri pada media menandakan bakteri tersebut masih dapat bertahan hidup. Adapun hasil skoring MIC dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Skoring Pertumbuhan Bakteri pada Uji MIC

Bakteri	Konsentrasi Kromium (mg/L)					
	0	5	50	100	250	500
<i>Azotobacter S8</i>	+++++	+++++	++++	++	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	+++++	+++++	++++	+++	-	-

+++++ = Luas tumbuh bakteri dibandingkan dengan kontrol adalah 81-100% dan/atau tidak terjadi perubahan warna
 ++++ = Luas tumbuh bakteri dibandingkan dengan kontrol adalah 61-80% dan/atau tidak terjadi perubahan warna
 +++ = Luas tumbuh bakteri dibandingkan dengan kontrol adalah 41-60% dan/atau tidak terjadi perubahan warna
 ++ = Luas tumbuh bakteri dibandingkan dengan control adalah 21-40% dan/atau terjadi perubahan warna
 + = Luas tumbuh bakteri dibandingkan dengan kontrol adalah ≤20% dan/atau terjadi perubahan warna
 - = Tidak ada pertumbuhan bakteri

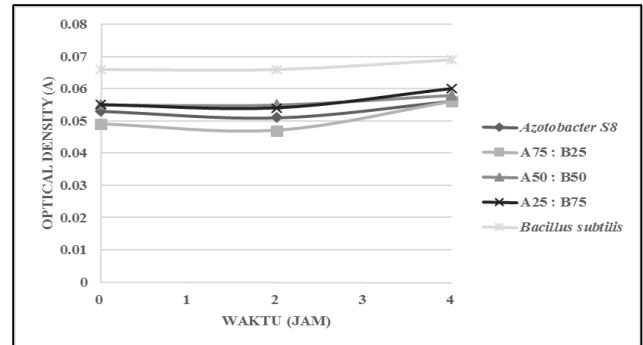
Berdasarkan Tabel 2, maka nilai MIC dengan metode *screening* untuk kedua bakteri uji berkisar antara 100 – 250 mg/L CrCl₃ serta konsentrasi yang digunakan pada uji penyisihan logam berat kromium oleh bakteri adalah 50 mg/L CrCl₃. Penentuan konsentrasi ini dengan mempertimbangkan perubahan media hidup kedua bakteri. Pada uji MIC media hidup dari kedua bakteri adalah media *Nutrient Agar* yang diperkaya, sedangkan pada uji penyisihan logam berat kromium media hidup yang digunakan adalah larutan CrCl₃.

C. Penyisihan Logam Berat Kromium oleh Bakteri

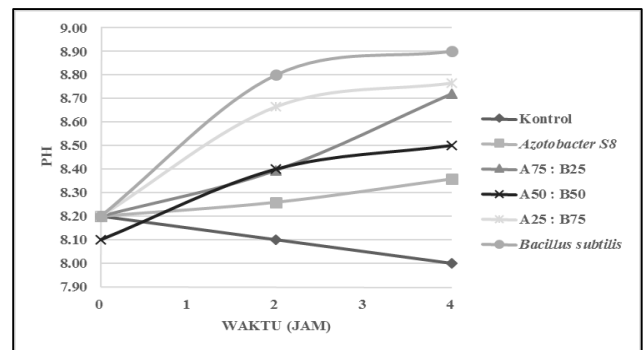
Uji penyisihan logam berat kromium merupakan tahap utama pada penelitian ini. Waktu yang digunakan pada tahap uji penyisihan logam berat kromium merupakan waktu eksponensial pertumbuhan bakteri yaitu 4 jam berdasarkan kurva laju pertumbuhan bakteri. Pada tahap ini dilakukan

analisis terhadap parameter utama yaitu *optical density* (OD), suhu, pH, total kromium, dan jumlah koloni bakteri.

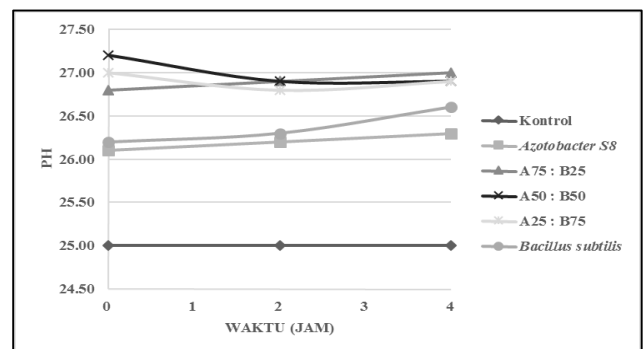
Berdasarkan Gambar 5 diketahui bahwa nilai absorbansi baik bakteri tunggal maupun bakteri konsortium tidak mengalami kenaikan ataupun penurunan nilai *optical density* yang signifikan hingga akhir waktu uji. Hal ini disebabkan karena adanya proses aklimatisasi bakteri terhadap media hidup yaitu larutan kromium. Parameter OD tidak dapat dibedakan antara bakteri yang hidup dan bakteri yang mati, sehingga hasil pengukuran OD akan cenderung naik selama waktu pengujian. Adapun jumlah koloni bakteri yang terukur dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 5. Optical Density Uji Penyisihan Logam Berat Kromium oleh Bakteri



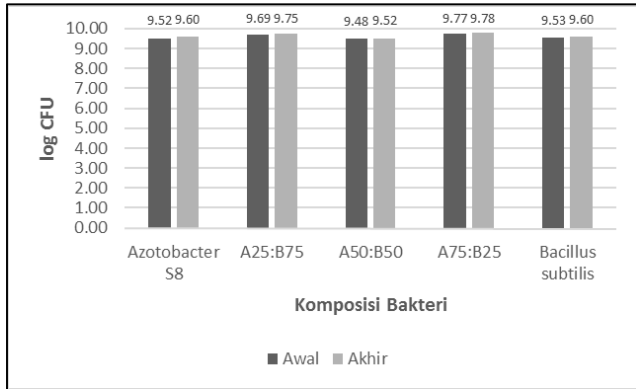
Gambar 6. pH Uji Penyisihan Logam Berat Kromium oleh Bakteri



Gambar 7. Suhu Uji Penyisihan Logam Berat Kromium oleh Bakteri

Berdasarkan Gambar 8 diketahui bahwa pertumbuhan bakteri tidak terlalu signifikan. Hal ini mungkin disebabkan karena waktu uji yang digunakan terlalu singkat yaitu 4 jam sehingga bakteri masih dalam fase adaptasi dengan logam berat kromium.

Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah pH. Pada pH optimum proses penyisihan logam berat lebih optimal [25]. Berdasarkan Gambar 6 diketahui bahwa nilai pH pada bakteri tunggal dan bakteri konsortium berkisar antara 8,1 – 8,9. Sedangkan pH untuk kontrol terukur antara 8 – 8,2. Rujukan [13] menyatakan *Bacillus subtilis* dapat hidup dengan pH berkisar antara 5 – 9. Sedangkan *Azotobacter S8* dapat hidup dengan pH berkisar antara 4,8 – 8,5 dengan pH optimal 7 – 7,5 [24].



Gambar 8. Jumlah Koloni Bakteri

Rujukan [13] menyatakan bahwa pH larutan kromium cenderung basa. Kenaikan pH pada larutan kromium yang mengandung bakteri disebabkan adanya aktifitas bakteri serta penumpukan sel mati dari bakteri. Kenaikan pH juga menandakan bahwa fase pertumbuhan bakteri telah mendekati fase stasioner [26].

Suhu juga merupakan salah satu faktor proses penyisihan logam berat [23]. Pada suhu optimum bakteri dapat menyisihkan logam berat lebih optimal karena proses metabolisme bakteri dapat bekerja dengan baik [25]. *Azotobacter S8* dan *Bacillus subtilis* merupakan bakteri mesofilik yang dapat hidup dengan rentang suhu 20 – 40°C. Berdasarkan Gambar 7 diketahui suhu yang terukur pada larutan kromium dengan komposisi bakteri berkisar antara 26,1°C – 27,2°C. sedangkan suhu untuk kontrol yaitu 25°C. Rentang suhu yang terukur masih termasuk dalam range suhu pertumbuhan kedua bakteri uji.

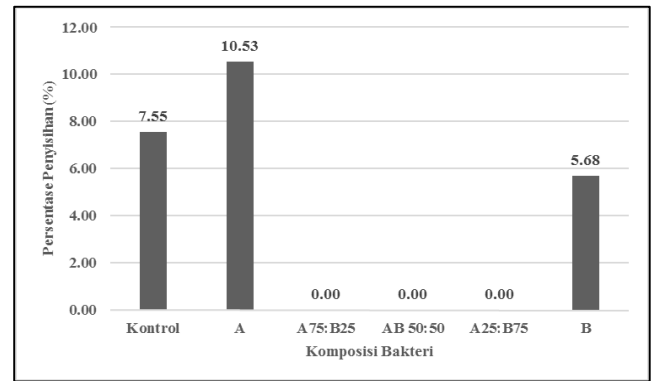
Parameter total kromium diukur pada waktu awal dan akhir penelitian. Tujuannya adalah untuk mengetahui persentase penyisihan dari bakteri yang terdapat dalam larutan kromium. Adapun hasil pengukuran total kromium dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 3. Kadar Total Kromium dengan Metode AAS

Waktu	Konsentrasi Kromium (mg/L)					
	Kontrol	A	A75:B25	A50:B50	A25:B75	B
Awal	26,5	23,75	21,5	21,75	21,5	22
Akhir	24,5	21,25	23	21,75	21,875	20,75

Berdasarkan Tabel 3 diketahui bahwa larutan kromium yang mengandung *Azotobacter S8* dan *Bacillus subtilis* mengalami penurunan konsentrasi. Hal ini membuktikan bahwa kedua bakteri tersebut dapat menyisihkan logam berat

kromium. Bakteri membutuhkan kromium sebagai nutrisi dalam jumlah kecil untuk tetap hidup [2]. Pada reaktor kontrol konsentrasi kromium juga mengalami penurunan serta pada awal penelitian konsentrasi kromium tidak terukur 50 mg/L. Hal ini disebabkan karena ketidakstabilan larutan kromium serta tidak dilakukan kontrol terhadap pH larutan kromium. Berdasarkan Gambar 6 pH pada reaktor kontrol yang terukur masuk dalam kategori basa. Pada kondisi basa kromium dapat terjadi proses presipitasi sehingga pada reaktor kontrol terjadi penyisihan logam berat kromium. Rujukan [27] menyatakan pengurangan kromium pada reaktor kontrol juga dimungkinkan karena adanya reduksi spontan atau terjadinya adhesi pada permukaan *glassware* yang digunakan. Hal ini disebabkan karena adanya pengaruh lingkungan seperti suhu serta kecepatan *shaker* ketika inkubasi. Adapun persentase penyisihan tiap komposisi bakteri dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 9. Persentase Penyisihan Logam Berat Kromium oleh Bakteri

Berdasarkan Gambar 9 diketahui bahwa persentase penyisihan tertinggi adalah 10,53% oleh *Azotobacter S8* dan persentase terendah adalah 0% oleh semua bakteri konsortium dengan waktu uji adalah 4 jam. Sedangkan persentase penyisihan untuk *Bacillus subtilis* adalah 5,68%. Hal ini mungkin disebabkan karena waktu uji untuk proses penyisihan logam berat kromium terlalu singkat sehingga kemampuan penyisihan untuk masing – masing komposisi bakteri tidak signifikan. Rujukan [11] *Bacillus subtilis* mampu menyisihkan logam kromium hingga 95,19% dengan konsentrasi awal 100 mg/L dengan waktu inkubasi selama 24 jam dengan pH optimum 7. Pada umumnya lama waktu yang digunakan untuk inkubasi bakteri pada logam berat kromium adalah 24 jam [11], 72 jam [12], dan 96 jam [8].

Azotobacter S8 memiliki persentase penyisihan kromium lebih besar daripada *Bacillus subtilis* dikarenakan *Azotobacter S8* mengandung Eksopolisakarida (EPS) yang dapat mengadsorpsi logam, karena logam akan membentuk ligan dengan EPS. Sifat inilah yang menyebabkan logam berat dapat diadsorpsi EPS *Azotobacter* [14]. Kemampuan *Azotobacter S8* melakukan mekanisme detoksifikasi ekstraseluler juga terjadi akibat interaksi logam kromium dengan gugus hidroksil pada selulosa yang melapisi dinding sel bakteri. *Azotobacter* juga menghasilkan enzim katalase dan enzim reduktase [28]. Enzim tersebut berfungsi untuk memecah zat berbahaya yang masuk ke sel bakteri serta

menurunkan kadar toksisitas suatu pencemar utamanya logam berat. *Bacillus subtilis* juga dapat menghasilkan enzim katalase dan enzim reduktase.

Pada bakteri konsortium persentase penyisihan untuk setiap komposisi adalah 0%, sehingga tidak terjadi proses penyisihan logam berat kromium. Hal ini mungkin disebabkan karena kedua bakteri tersebut tidak memiliki simbiosis mutualisme [29]. serta adanya pengaruh pH dan suhu terhadap kemampuan bakteri untuk menyisihkan logam berat kromium [23]. Waktu inkubasi yang terlalu singkat juga mempengaruhi proses penyisihan logam kromium. Pada umumnya lama waktu yang digunakan untuk inkubasi bakteri pada logam berat kromium adalah 24 jam [11], 72 jam [12], dan 96 jam [8].

IV. KESIMPULAN/RINGKASAN

Berdasarkan pembahasan diatas, maka kesimpulan dalam penelitian ini adalah Nilai MIC dengan metode *screening* untuk *Azotobacter S8* dan *Bacillus subtilis* dengan rentang 100 – 250 mg/L CrCl₃, Komposisi optimum bakteri dalam proses penyisihan Cr³⁺ adalah bakteri tunggal *Azotobacter S8* dengan persentase penyisihan sebesar 10,53% selama waktu uji yaitu 4 jam, Persentase penyisihan masing – masing bakteri yaitu *Azotobacter S8* adalah 10,53%; 75% *Azotobacter S8* : 25% *Bacillus subtilis* adalah 0%; 50% *Azotobacter S8* : 50% *Bacillus subtilis* adalah 0%; 25% *Azotobacter S8* : 75% *Bacillus subtilis* adalah 0%; *Bacillus subtilis* adalah 5,68%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing dan dosen penguji Tugas Akhir atas saran dan masukan terhadap penulisan jurnal serta kepada Kementerian Agama yang telah memberikan dukungan finansial melalui Beasiswa PBSB 2012 – 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Shukla, O.P., U. N. Rai, N. K. Singh, Smita Dubey dan V. S. Baghel. 2007. *Isolation and Characterization of Chromate Resistant Bacteria from Tannery Effluent*. Journal of Environmental Biology, 28(2): 399 – 403
- [2] Benazier, J. Fathima, R. Suganthi, D. Rajvel, M. Padmini Pooja dan B. Mathithumilan. 2010. *Bioremediation of Chromium in Tannery Effluent by Microbial Consortia*. African Journal of Biotechnology, 9(21): 3140-3143
- [3] Kaur, Harpreet, Ashwani Kumar. 2014. *Bioremediation of Hexavalent Chromium in Wastewater Effluent by Pseudomonas Putida (Mtc 102)*. Journal of Research in Earth & Environmental Sciences, 1(4): 18 – 24
- [4] Evelyne.J, Rita, Ravisankar.V. 2014. *Bioremediation of Chromium Contamination - A Review*. Journal of Research in Earth & Environmental Sciences, 1(6): 20 – 26
- [5] Sundar, K., I. Mohammed Sadiq, Amitava Mukherejee dan N. Chandrasekara. 2011. *Bioremoval of Trivalent Chromium Using Bacillus Biofilm Through Continuous Flow Reactor*. Journal of Hazardous Materials, 196(1): 44 – 51
- [6] Menteri Kesehatan Republik Indonesia. 2010. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia NOMOR 492/MENKES/PER/IV/2010 Tentang Persyaratan Kualitas Air Minum*. Jakarta, Indonesia
- [7] Menteri Lingkungan Hidup Republik Indonesia. 2014. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia NOMOR 5 Tahun 2014 Tentang Baku Mutu Air Limbah*. Jakarta, Indonesia
- [8] Deepali. 2011. *Bioremediation of Chromium (Vi) From Textile Industry's Effluent and Contaminated Soil Using Pseudomonas Putida*. Journal of Energy & Environment, 2 (1): 24-31
- [9] Kumar, A., Bisht B. S., Joshi V. D., Dhewa T. 2011. *Review on Bioremediation of Polluted Environment: A Management Tool*. Journal of Environmental Science, 1(6): 1079 – 1093
- [10] Mahimairaja, Santiago, Santhamani Shenbagavalli, dan Ravi Naidu. 2011. *Remediation of Chromium – Contaminated Soil due to Tannery Waste Disposal: Potential for Phyto and Bioremediation*. Japanese Society of Pedology, 54(3): 175-181
- [11] Balamurugan.D, Udayasooriyan. C, dan Kamaladevi. B. 2014. *Chromium (VI) reduction by Pseudomonas putida and Bacillus subtilis isolated from contaminated soils*. International Journal of Environmental Sciences, 5(3): 522 – 529
- [12] Pavel, Lucian Vasile, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu. 2012. *Studies of Toxicity of Chromium(VI) and Cadmium(II) on Some Microbial Species*. International Symposium on Biosorption and Bioremediation. Romania.
- [13] Cheng, Guojun, Xiaohua Li. 2009. *Bioreduction of Chromium (VI) By Bacillus Sp. Isolated from Soilsof Iron Mineral Area*. Journal of Soil Biology 45(5): 483 – 487
- [14] Erni, Reginawanti Hindersah. 2011. *Biosorpsi Kadmiun Dan Komposisi Eksopolisakarida Azotobacter Sp Pada Dua Konsentrasi Cdcl2*. Agrinimal, 1(1): 33 – 37
- [15] Emtiazi, G., Ethemadifar, Z. & Habibi, M.H. 2004. *Production of extracellular polymer in Azotobacter and biosorption of metal by exopolymer*. Afr. J. Biotech. 3:330-333
- [16] Wu, S.C., Peng, X.L. Cheung, K.S. Liu, SL, & Wong, M.H. 2009. *Adsorption kinetics of Pb and Cd by two plant growth promoting rhizobacteria*. Bioresour Technol. 100 (20): 4559-4563
- [17] Mythili, K. dan B. Karthikeyan. 2011. *Bioremediation of Cr (VI) from Tannery effluent using Bacillus sp and Staphylococcus sp*. International Multidisciplinary Research Journal, 1(6):38 – 41
- [18] Tarangini K. dan Gyana R. Satpathy. 2009. *Optimization of Heavy Metal Biosorption Using Attenuated Cultures of Bacillus subtilis and Pseudomonas aeruginosa*. Journal of Environmental Research and Development 3(3): 677-684
- [19] Purwanti, Ipung Fitri, Siti Rozaimah Sheikh Abdullah, Ainon Hamzah, Musrifah Idris, Hassan Basri, Muhammad Mukhlisin, and Mohd Talib Latif. 2015. *Biodegradation of Diesel by Bacteria Isolated from Scirpus mucronatus Rhizosphere in Diesel-Contaminated Sand*. Journal of Advanced Science (2)1: 140-143
- [20] Shrivastava, Ankita, Vishwajeet Singh, Sadhana Jadon, dan Seema Bhadauria. 2013. *Heavy Metal Tolerance of Three Different Bacteria Isolated from Industrial Effluent*. International Journal of Pharmaceutical Research and Bioscience, 2(2): 137 – 147
- [21] Dwipayana dan Ariesyady H. D. 2010. *Identifikasi Keberagaman Bakteri pada Lumpur Hasil Pengolahan Limbah Cat dengan Teknik Konvensional*. Program Studi Teknik Lingkungan, ITB, Bandung
- [22] Hamdiyati Y. 2011. *Pertumbuhan dan Pengendalian Mikroorganisme II*. Bandung: Universitas Pendidikan Indonesia.
- [23] Inungaray, María Luisa Carrillo, Madeleine Hidalgo Morales, Guadalupe del Carmen Rodríguez-Jimenes, Miguel Ángel García-Alvarado, Mario Ramírez-Lepe, Abigail Reyes Munguía, Victor Robles-Olvera. 2014. *Effect of Temperature, pH and Water Activity on Penicillium digitatum Growth*. Journal of Applied Mathematics and Physics, 2014(2): 930-937
- [24] Abat, Benek. 2006. *Growth of Agriculturally Important Pseudomonas Spp and Azotobacter Chroococcum on Beer Waste and Observation of Their Survival in Peat*. Turki: Middle East Technical University
- [25] Leroi, Françoise, Papa Abdoulaye Fall, Marie France Pilet, Frédérique Chevalier, Régis Baron. 2012. *Influence of temperature, pH and NaCl concentration on the maximal growth rate of Brochothrix thermosphacta and a bioprotective bacteria Lactococcus piscium CNCM I-4031*. Food Microbiology, 31(2): 222 – 228
- [26] Gaudy A. F. dan Gaudy E. T. 1980. *Microbiology for Environmental Scientists and Engineers*. McGraw-Hill, USA
- [27] Abdulla HM, Kamal EM, Mohamed AH, dan El-Bassuony AD. 2010. *Chromium Removal from Tannery Wastewater Using Chemical and Biological Techniques Aiming Zero Discharge of Pollution*.

- Proceeding of Fifth Scientific Environmental Conference. Zagazig-UNI. 171-183
- [28] Nath, Jayashree dan Lalitagauri Ray. 2015. *Biosorption of Malachite Green from Aqueous Solution by Dry Cells of Bacillus cereus M1 16 (MTCC 5521)*. Journal of Environmental Chemical Engineering, 3(1): 386 – 394
- [29] Varjani, Sunita J., dan Vivek N. Upasani. 2013. *Comparative Studies on Bacterial Consortia for Hydrocarbon Degradation*. International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology, 2(10): 5377-5380