

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

Isolasi bakteri dari lumpur pengendap logam PT. SIER didapatkan isolat *Bacillus* sp. resisten tembaga 1,1 mM. Uji pertumbuhan isolat *Bacillus* sp. pada medium pertumbuhan mengandung tembaga, menunjukkan bahwa tembaga mempengaruhi pertumbuhan isolat *Bacillus* sp. Pengaruh tersebut tergantung pada besarnya konsentrasi tembaga pada medium pertumbuhan. Medium pertumbuhan mengandung tembaga 0,5 mM mempunyai waktu generasi lebih cepat dan jumlah bakteri lebih tinggi daripada medium pertumbuhan mengandung tembaga 0,8 mM dan 1,1 mM. Isolat *Bacillus* sp. selama fase eksponensial akhir mampu mengakumulasi tembaga dengan konsentrasi 0,5 mM, 0,8 mM dan 1,1 mM. Pada konsentrasi tembaga 0,5 mM isolat *Bacillus* sp. mampu mengakumulasi sebesar 36,27 mg/g berat kering sel, konsentrasi tembaga 0,8 mM isolat *Bacillus* sp. mampu mengakumulasi sebesar 33,89 mg/g berat kering sel dan pada konsentrasi tembaga 1,1 mM isolat *Bacillus* sp. mampu mengakumulasi sebesar 31,33 mg/g berat kering sel. Kemampuan isolat *Bacillus* sp. dalam mengakumulasi tembaga, bersifat linear terhadap waktu generasi.

## B. Saran

Untuk penelitian lebih lanjut mengenai kemampuan isolat *Bacillus* sp. dalam mengakumulasi tembaga sebaiknya dilakukan uji resistensi untuk mengetahui nilai resisten maksimal, dilakukan pengukuran faktor lingkungan (temperatur dan pH) selama akumulasi berlangsung dan juga ditingkatkan dengan pemanfaatan teknik amobilisasi sel bakteri, sehingga didapatkan hasil akumulasi yang optimal.



## DAFTAR PUSTAKA

- ✓ Atlas, R. A. and Bartha, R., 1992. **Microbia Ecology, Fundamental and Application**. Thrid edition, The Benjamin Cummings Publishing Company Inc, Redwood City, California.
- Bangun, A., 1989. **Isolasi dan Identifikasi**. PAU Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- , 1993. **Teknik Khusus Penanaman Mikroorganisme**. PAU Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- ✓ Beveridge, T. J. and Murray, R. G. E., 1980. Sites of Metal Deposition in The Cell Wall of *Bacillus subtilis*. **Journal of Bacteriology**, **141** (2).
- ✓ Beveridge, T. J. and Jack, T., 1982. Binding of Inert, Cationic Osmium Probe to Walls of *Bacillus subtilis*. **Journal of Bacteriology**, **149** (3).
- Beveridge, T. J., 1989. Role of Cellular Design in Bacterial Metal Accumulation and Mineralization. **Annual Review of Microbiology**, (43).
- Bred, R. S., Murray, E. G. D. and Smith, N. R., 1957. **Bergey's Manual Determinative Bacteriology**. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, Usa.
- ✓ Casareet and Dollw's., 1986. **Toxicology The Basic Science of Poison**. Third edition, Macmillan Publishing Company, New York.
- ✓ Cano, J. R. and Colome, J. S., 1986. **Microbiology**. West Publishing Company, New York.
- ✓ Cha, J. S. and Cooksey, D.A., 1991. Copper Resistance in *Pseudomonas syringae* Mediated by Periplasmic and Outer Membrane Proteins. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, **88** (10).
- Cooksey, D. A. and Azad, H. R., 1992. Accumulation of Cooper and Cooper Resistent Plant-Pathogenic and Saprophytic *Pseudomonas*. **Applied Environment Microbiology**, **58** (1).

- Cowan, S. T., 1974. **Manual for the Identification of Medical Bacteria.** Cambridge University Press, Cambridge.
- ✓ Edward's, C., 1990. **Microbial of Extreme Environments.** Open Universty Press, Milton Keynes.
- ✓ Gadd, G. M., 1990. **Metal Tolerance. In Microbiology of Extreme Environments.** Edward's. Open University Press, Milton Keynes.
- ✓ Gandjar, I. G., 1984. **Pencemaran Logam Dalam Air, Spesiasi, Toksisitas dan Faktor yang Mempengaruhinya.** Fakultas Geografi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Hadioetomo, R. S., 1988. **Metode-Metode Untuk Bakteriologi.** PAU Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- , 1993. **Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek.** PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- ✓ Harwood, V. J. and Gordon, A. S., 1994. Regulation of Extracellular Copper-Binding Proteins in Copper-Resistant and Copper-Sensitive Mutants of *Vibrio alginolyticus*. **Applied and Environmental Microbiology.**, 60 (6).
- ✓ Hidayati, S., 1994. **Uji Kemampuan Pengikatan Metal oleh Bakteri dan Khamir yang Diperoleh dari Lumpur PT. SIER.** Skripsi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- ✓ Hughes, M. N. and Poole, R. K., 1989. **Metal and Microorganism.** King's Collcege London, New York.
- Kasmidjo, R. B., 1981. **Masalah Pencemaran Industri.** Pusat Penelitian dan Studi Lingkungan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- ✓ Kunito, T., Nagaoka, K., Tada, N., Saeki, K., Senoo, K., Oyaizu, H. and Matsumoto, S., 1997. Characterization of Cu-Resistance Bacterial Communities in Cu-Contaminated Soil. **Soil Science Plant Nutrition.**, 43 (3).
- Lay, B. W., 1994. **Analisis Mikroba Di Laboratorium.** PT Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Leduc, L. G., Ferroni, G. D. and Trevors, J. T., 1997. Resistance to Heavy Metal in Different Strains of *Thiobacillus ferrooxidans*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology.**, 13.

- \* Mallick, N., Rai, L. C., 1993. Influence of Culture Density, pH, Organic Acids and Divalent Cations on the Removal of Nutrients and Metals by Immobilized *Anabaena doliolum* and *Chlorella vulgaris*. **World Journal of Microbiology and Biotech.**, 8.
- Marx, J. L., 1991. **Revolusi Bioteknologi**. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta.
- ✓ Mclean, R. J., Campbell, A. M., Khu, P. and Persaud, L. E., 1994. Repeated Use of *Bacillus subtilis* Cell Walls for Cooper Binding. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 10
- Mittelman, M. W. and Gessey, G. G., 1985. Cooper Binding Characteristics of Exopolymers from a Freshwater Sediment Bacterium. **Applied and Environmental Microbiology**, 55 (12).
- ✓ Moore, J. W. and Ramamoorthy, S., 1984. **Heavy Metals in Natural Waters**. Springer-Verlag, New York.
- ✓ Mullen, M. D., Wolf, D. C., Ferris, F. G., Beveridge, T. J., Flemming, C. and Bailey, G. W., 1989. Bacterial Sorption of Heavy Metals. **Applied Environmental Microbiology**, 55 (12).
- Mulyadi, 1990. **Analisis Makromolekul**. PAU Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Octavia, B. dan Joetono., 1996. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pengikat Merkuri. **BPPS-Fakultas Biologi UGM**, 9(1).
- ✓ Sears, V. H. and Gordon, A. S., 1990. Copper-Induced Production of Copper-Binding Supernatant Proteins by the Marine Bacterium *Vibrio alginolyticus*. **Applied and Environmental Microbiology**, 56(5).
- Strandberg, G. W., Shunate II, S. E. and Parrot, Jr., 1981. Microbial Cells as Biosorbents of Heavy Metals: Accumulation of Uranium by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Applied Environmental Microbiology**, 41(1)
- ✓ Suharni, T., 1991. **Biodegradasi Limbah Industri**. PAU Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Wilber, C. G., 1990. **The Biological Aspects of Water Pollution**. Charles, C. Thomas Publisher. Illionis. Usa.

# LAMPIRAN



Lampiran 1. **Bahan dan Cara Kerja Pengecatan Gram** (Hadioetomo, 1993 dan Lay, 1994).

**A. Bahan :**

Kultur *Bacillus* sp. (hasil isolasi) umur 18 – 24 jam, aquades, alkohol 70 %, seperangkat pewarna gram, terdiri dari larutan kristal violet (zat warna I), larutan Lugol (larutan Mordan), larutan aseton alkohol (larutan pemucat) dan larutan safranin.

**B. Cara Kerja :**

1. Kaca objek dibersihkan dengan alkohol 70 %, kemudian dipanaskan di atas nyala lampu spiritus.
2. Dibuat preparat ulas dari biakan bakteri yang akan di cat (diambil satu ose suspensi bakteri secara aseptis dan diletakkan diatas kaca objek) kemudian difiksasi di atas lampu spiritus.
3. Dibubuhkan larutan kristal violet 2 - 3 tetes pada permukaan preparat ulas dan didiamkan selama 1 menit.
4. Dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan.
5. Dibubuhkan larutan lugol dan dibiarkan selama satu menit kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan.
6. Dibubuhkan larutan pemucat (aseton alkohol) selama 10 - 20 detik kemudian langsung dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan.
7. Dibubuhkan larutan safranin dan dibiarkan selama 15 detik kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan anginkan (dikeringkan dengan kertas saring).
8. Diamati dengan mikroskop perbesaran 100 sampai 100 ×.

Lampiran 2. **Bahan dan Cara Kerja Pengecatan Spora** (Hadioetomo, 1993 dan Lay, 1994).

**A. Bahan :**

Kultur *Bacillus* sp. (hasil isolasi) dalam medium agar miring umur 72 jam, aquades, alkohol 70 %, seperangkat pewarna spora, terdiri dari : larutan malachite green 5 %, larutan safranin 0,5 %.

**B. Cara Kerja :**

1. Kaca objek dibersihkan dengan alkohol 70 %, kemudian dipanaskan di atas nyala lampu spiritus.
2. Dibuat preparat ulas dari biakan bakteri yang akan di cat (diambil satu ose suspensi bakteri secara aseptis dan diletakkan diatas kaca objek) kemudian difiksasi di atas lampu spiritus.
3. Dibubuhkan larutan malachite green dan dibiarkan 0,5 – 1 menit kemudian dipanasi diatas nyala lampu spiritus sampai menguap selama  $\pm$  0,5 menit.
4. Dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan.
5. Dibubuhkan larutan cat safranin selama 30 detik kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan.
6. Amati dengan mikroskop perbesaran kuat dengan menggunakan minyak imersi.



### Lampiran 3. Bahan dan Cara kerja Uji Fermentasi Karbohidrat

(Hadioetomo, 1993 dan Lay, 1994).

#### A. Bahan :

Indikator phenol red, kaldu karbohidrat terdiri dari 1000 ml nutrient broth, 5 gr karbohidrat.

#### B. Cara Kerja :

Kultur bakteri yang diuji (*Bacillus* sp.) diinokulasikan ke dalam kaldu karbohidrat. Inokulasi dilakukan secara hati-hati, sehingga tidak menimbulkan gelembung gas dalam tabung durham. Selanjutnya diinkubasikan selama 24 jam pada temperatur 36°C.

Kultur dalam tabung reaksi yang berisi kaldu karbohidrat tersebut diamati, jika indikator phenol red pada medium warnanya berubah menjadi kuning berarti terjadi fermentasi karbohidrat (terbentuk asam). Bila pada tabung durham yang diletakkan dalam tabung medium terdapat gas, berarti pada fermentasi tersebut terbentuk gas.

#### Keterangan :

Uji fermentasi karbohidrat bersifat negatif, jika setelah inkubasi 24 jam indikator phenol red yang terdapat pada medium tidak mengalami perubahan warna (tetap berwarna merah).

Lampiran 4. **Bahan dan Cara Kerja Uji Katalase** (Bangun, 1989 dan Lay, 1994).

**A. Bahan :**

Reagen uji katalase : 3 % larutan  $H_2O_2$

**B. Cara Kerja :**

Diambil hidrogen peroksida 3 % beberapa tetes ( $\pm 2$  tetes) dan diletakkan pada kaca objek yang telah dibersihkan. Kemudian secara aseptik diambil biakkan yang akan diuji (dengan menggunakan lup inokulasi) dan dipindahkan pada kaca objek tersebut (dicampurkan).

Hasil uji bersifat positif, jika terbentuk gelembung-gelembung gas  $O_2$  setelah reagen dan biakkan bakteri dicampur. Uji bersifat negatif jika tidak timbul gelembung gas  $O_2$ .

Lampiran 5. **Bahan dan Cara Kerja Uji Oksidase** (Cowan, 1974 dan Lay, 1994).

**A. Bahan :**

Reagen uji oksidase : 1 % tetramethyl-*p*-phenylenediamine, dilarutkan pada aquades.

**B. Cara Kerja :**

Reagen diteteskan pada kertas saring yang bersih. Kemudian secara aseptis diambil kultur bakteri yang akan diuji dan diulaskan pada kertas saring yang telah basah dengan reagen tersebut. Dibiarkan selama  $\pm$  30 detik kemudian diamati. Hasil uji bersifat positif, jika terbentuk warna ungu kehitaman (merah lembayung) dan bersifat negatif jika warna tidak berubah.

**Lampiran 6. Bahan dan Cara Kerja Uji Oksidasi Fermentasi (O-F)**

(Cowan, 1974 dan Lay, 1994).

**A. Bahan :**

Medium uji O-F, terdiri dari 2 gr pepton; 5 gr NaCl; 0,3 gr  $K_2HPO_4$ ; 3 gr agar; 1000 ml aquades; 15 ml Bromthymol blue (0,2 % dilarutkan dengan aquades); 1 % karbohidrat (glukosa). Karbohidrat disterilkan secara terpisah (mempgunakan filter penyaring bakteri), pH medium 7,1.

Dipergunakan dua tabung reaksi, satu tabung medium ditutup dengan parafin cair.

**B. Cara Kerja :**

Kedua tabung medium diinokulasi dengan kultur bakteri yang akan diuji. Satu tabung ditambahkan parafin cair steril, kemudian kedua medium diinkubasi selama 48 jam. Pengamatan pada uji ini dilakukan mulai dari jam ke 48 inkubasi sampai 14 hari.

Hasil uji bersifat oksidasi jika pada tabung terbuka medium berwarna kuning dan pada tabung tertutup parafin medium berwarna hijau. Hasil uji bersifat fermentasi jika pada tabung terbuka maupun tabung tertutup parafin, medium berwarna kuning. Hasil uji menunjukkan karbohidrat tidak diurai, yaitu apabila pada tabung terbuka maupun tabung tertutup parafin, medium berwarna hijau.

Lampiran 7. **Bahan dan Cara Kerja Uji Indol** (Cowan, 1974 dan Lay, 1994).

**A. Bahan :**

Medium tryptone water terdiri dari 1 gr tryptone; 0,5 gr sodium chloride, 100 ml aquades, pH medium 7,5.

Reagen Kovacs, terdiri dari 1 gr p-dimethylaminobenzaldehyde; 75 ml amyl alkohol; 25 ml HCl.

**B. Cara Kerja :**

Medium tryptone water diinokulasi dengan kultur bakteri yang akan diuji. Kemudian diinkubasikan pada suhu optimum selama 48 jam. Setelah diinkubasi ditambahkan 5 ml reagen Kovacs kemudian tabung reaksi yang berisi medium tersebut, dikocok bolak-balik dan diamkan  $\pm$  1 menit.

Hasil uji bersifat positif jika segera terbentuk lapisan berwarna merah dan menyerupai cincin, pada bagian atas medium tersebut. Hasil uji bersifat negatif jika tidak terbentuk lapisan berwarna merah (cincin indol).

**Lampiran 8. Bahan dan Cara Kerja Uji Reduksi Nitrat (Cowan, 1974 dan Bangun, 1989).**

**A. Bahan :**

Medium Nitrat Broth, terdiri dari 0,1 gr  $KNO_3$ ; 100 ml nutrisi broth. pH medium 7,2.

Reagen reduksi nitrat terdiri dari larutan A : 0,8 % asam sulphanilic dalam 5 N asam acetic dan larutan B : 0,5 %  $\alpha$ -naphthylamine dalam 5 N asam acetic.

**B. Cara Kerja :**

Media nitrat broth diinokulasi dengan kultur bakteri yang akan diuji kemudian diinkubasikan selama 5 hari. Setelah diinkubasikan selama 5 hari, ditambahkan 1 ml reagen A dan 1 ml reagen B. Hasil uji bersifat positif jika terbentuk warna merah setelah penambahan reagen tersebut dan bersifat negatif jika medium tidak mengalami perubahan warna setelah penambahan reagen. Hasil uji negatif harus dipertegas dengan penambahan unsur Zn dalam medium, bila terbentuk warna merah setelah penambahan unsur tersebut menunjukkan uji bersifat negatif. Sedangkan bila tidak terjadi perubahan warna setelah penambahan unsur Zn, menunjukkan uji bersifat positif.

Lampiran 9. **Bahan dan Cara Kerja Uji MR-VP (Methyl Red – Voges Proskauer)** (Cowan, 1974).

**A. Bahan :**

Reagen uji MR adalah methyl red (0,04 gr methyl red, 40 ml ethanol absolut, dilarutkan dengan aquades sampai 100 ml).

Reagen uji VP terdiri dari : larutan  $\alpha$ -naphthol (5 %  $\alpha$ -naphthol dalam ethanol absolut) dan larutan 40 % KOH dalam aquades.

**B. Cara Kerja :**

Medium MR-VP diinokulasi dengan kultur bakteri yang akan diuji, kemudian diinkubasikan selama 48 jam. Medium ditambahkan reagen methyl red ( $\pm 2$  tetes), Hasil uji positif jika medium berwarna merah (orange) setelah penambahan reagen tersebut dan bersifat negatif jika medium berwarna kuning.

Setelah medium diuji methyl red dilanjutkan dengan uji VP, yaitu medium ditambahkan dengan 0,6 ml larutan  $\alpha$ -naphthol dan 0,2 ml larutan KOH. Kemudian dikocok dan dibiarkan pada rak dengan penutup tabung dilonggarkan selama  $\pm 0,5 - 4$  jam. Pengamatan dilakukan dari 0,5 jam sampai 4 jam, hasil uji positif ditunjukkan dengan adanya warna merah (merah muda) pada medium dan hasil uji negatif ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan warna pada medium.

Lampiran 10. **Komposisi Larutan Buffer Fosfat pH 7** (Mulyadi, 1990).

Komposisi larutan buffer fosfat pH 7 terdiri dari larutan A :  
0,01 M larutan Natrium fosfat monobasis ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) dan larutan  
B : 0,01 M larutan Natrium fosfat dibasis ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ). Untuk  
membuat larutan buffer fosfat pH 7 maka dicampurkan 39 ml larutan A  
dengan 61 ml larutan B dan diencerkan dengan aquades sampai volume  
200 ml.

Lampiran 11. **Pemurnian Isolat *Bacillus* sp. Dengan Metode Penggoresan (Restreaking).**

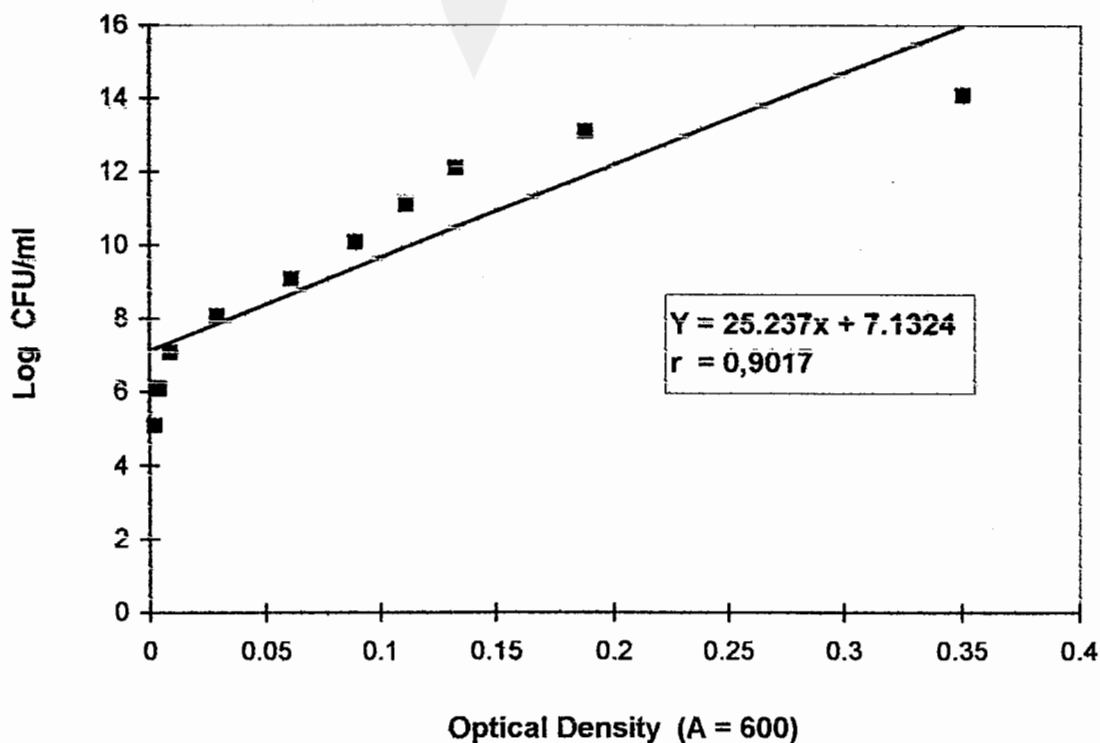


Lampiran 12. Tabel Nilai OD VS Plating Kurva Standar

PENGENCERAN	OD	$\Sigma$ KOLONI	CFU/ml	Log CFU/ml
$10^{-1}$	0,2531		$1,22 \times 10^{14}$	14,09
$10^{-2}$	0,1826		$1,22 \times 10^{13}$	13,09
$10^{-3}$	0,1473		$1,22 \times 10^{12}$	12,09
$10^{-4}$	0,1108		$1,22 \times 10^{11}$	11,09
$10^{-5}$	0,0737		$1,22 \times 10^{10}$	10,09
$10^{-6}$	0,0408	122	$1,22 \times 10^9$	9,09
$10^{-7}$	0,0189	54	$1,22 \times 10^8$	8,09
$10^{-8}$	0,0083	9	$1,22 \times 10^7$	7,09
$10^{-9}$	0,0038	2	$1,22 \times 10^6$	6,09
$10^{-10}$	0,0018		$1,22 \times 10^5$	5,09

Keterangan : sampel yang diinokulasikan 0,1 ml jadi nilai CFU/ml = nilai CFU/0,1 ml  $\times 10$

Lampiran 13. Grafik Kurva Standar Log CFU/ml VS OD





Lampiran 14. Tabel Nilai OD Isolat *Bacillus* sp. dengan  $\lambda$  600 Nm.

JAM	ULANGAN	KONST. 0,5 mM	KONST. 0,8 mM	KONST. 1,1 mM	KONTROL
0	1	0,2410	0,2729	0,2655	0,2465
	2	0,2678	0,2669	0,2631	0,2516
	3	0,2631	0,2537	0,2817	0,2678
	RATA-RATA	0,2573	0,2645	0,2701	0,2553
12	1	1,1620	1,0989	1,0344	1,7786
	2	1,1520	1,1099	1,0512	1,4157
	3	1,1605	1,1342	1,0206	1,4013
	RATA-RATA	1,1582	1,1143	1,0354	1,4172
24	1	1,3995	1,1799	1,0625	1,7786
	2	1,2792	1,1972	1,0773	1,7434
	3	1,3476	1,2085	1,0441	1,7166
	RATA-RATA	1,3421	1,1952	1,0613	1,7462
36	1	1,3152	1,1397	1,0683	1,7070
	2	1,2478	1,1421	1,1016	1,6963
	3	1,1996	1,1439	1,0293	1,6781
	RATA-RATA	1,2542	1,1419	1,0664	1,6938
48	1	1,2268	1,0856	0,9307	1,6724
	2	1,1711	1,1177	0,9743	1,6493
	3	1,2003	1,1390	0,9192	1,6226
	RATA-RATA	1,1994	1,1141	0,9414	1,6481
60	1	1,1642	1,0072	0,8577	1,6473
	2	1,1229	1,0115	0,9103	1,6157
	3	1,1566	1,0458	0,7619	1,6069
	RATA-RATA	1,1479	1,0215	0,8433	1,6233
72	1	0,9005	0,5234	0,4056	1,5808
	2	0,8463	0,5494	0,4174	1,5454
	3	0,8689	0,6471	0,3704	1,5145
	RATA-RATA	0,8719	0,5733	0,3978	1,5466
84	1	0,6714	0,4019	0,3113	1,4530
	2	0,6073	0,4483	0,3497	1,3418
	3	0,6552	0,5013	0,3041	1,2981
	RATA-RATA	0,6413	0,4505	0,3217	1,3643
96	1	0,4644	0,3040	0,2138	1,0224
	2	0,3949	0,3062	0,2404	0,9805
	3	0,4373	0,3318	0,2103	0,9257
	RATA-RATA	0,4322	0,3140	0,2215	0,9762

Lampiran 15. Tabel Log Jumlah Isolat *Bacillus* sp. ( $Y = 25,237x + 7,1324$ )

JAM	ULANGAN	KONST. 0,5 mM	KONST. 0,8 mM	KONST. 1,1 mM	KONTROL
0	1	13,2145	14,0196	13,8328	13,3533
	2	13,8909	13,8682	13,7723	13,4820
	3	13,7723	13,5350	14,2417	13,8909
	RATA-RATA	13,6259	13,8076	13,9489	13,5754
12	1	36,4578	34,8653	33,2376	43,3374
	2	36,2054	35,1430	33,6615	42,8604
	3	36,4199	35,7562	32,8893	42,4970
	RATA-RATA	36,3610	35,2548	33,2628	42,8983
24	1	42,4516	36,9095	33,9467	52,0189
	2	39,4156	37,3461	34,3202	51,1306
	3	41,1418	37,6313	33,4824	50,4542
	RATA-RATA	41,0030	37,2957	33,9164	51,2013
36	1	40,3241	35,8950	34,0931	50,2120
	2	38,6231	35,9556	34,9335	49,9419
	3	37,4067	36,0010	33,1088	49,4826
	RATA-RATA	38,3746	35,9505	34,0451	49,8788
48	1	38,0932	34,5297	30,6205	49,3388
	2	36,6875	35,3398	31,7208	48,7558
	3	37,4244	35,8773	30,3303	48,0820
	RATA-RATA	37,4017	35,2489	30,8905	48,7255
60	1	36,5133	32,5511	28,7782	48,7053
	2	35,4710	32,6596	30,1056	47,9078
	3	36,3215	33,5253	26,3605	47,6857
	RATA-RATA	36,1019	32,9120	28,4148	48,0996
72	1	29,8583	20,3415	17,3685	47,0271
	2	28,4905	20,9976	17,6663	46,1110
	3	29,0608	23,4633	16,4802	45,3538
	RATA-RATA	29,1365	21,6008	17,1717	46,1639
84	1	24,0765	17,2752	14,9887	43,8018
	2	22,4588	18,4462	15,9578	40,9954
	3	23,4153	19,7837	14,8070	39,8926
	RATA-RATA	23,3169	18,5017	15,2511	41,5632
96	1	18,8525	14,8045	12,5281	32,9347
	2	17,0985	14,8600	13,1994	31,8773
	3	18,1685	15,5060	12,4397	30,4943
	RATA-RATA	18,0398	15,0568	12,7224	31,7688

Lampiran 16. Tabel Jumlah Isolat *Bacillus* sp. ( $\times 10^6$ )

JAM	ULANGAN	KONST. 0,5 mM	KONST. 0,8 mM	KONST. 1,1 mM	KONTROL
0	1	2,5813	2,6405	2,6270	2,5918
	2	2,6312	2,6296	2,6227	2,6014
	3	2,6227	2,6053	2,6562	2,6312
	RATA-RATA	2,6119	2,6252	2,6354	2,6083
12	1	3,5962	3,5515	3,5037	3,7690
	2	3,5892	3,5594	3,5164	3,7580
	3	3,5951	3,5767	3,4932	3,7494
	RATA-RATA	3,5935	3,5626	3,5044	3,7588
24	1	3,7484	3,6085	3,5248	3,9516
	2	3,6742	3,6202	3,5357	3,9344
	3	3,7170	3,6278	3,5110	3,9211
	RATA-RATA	3,7137	3,6189	3,5239	3,9358
36	1	3,6969	3,5806	3,5291	3,9163
	2	3,6539	3,5823	3,5535	3,9109
	3	3,6219	3,5836	3,4998	3,9016
	RATA-RATA	3,6580	3,5821	3,5277	3,9096
48	1	3,6400	3,5418	3,4217	3,8987
	2	3,6024	3,5650	3,4570	3,8868
	3	3,6223	3,5801	3,4122	3,8729
	RATA-RATA	3,6217	3,5624	3,4305	3,8862
60	1	3,5977	3,4828	3,3596	3,8858
	2	3,5687	3,4861	3,4047	3,8693
	3	3,5924	3,5123	3,2719	3,8646
	RATA-RATA	3,5864	3,4938	3,3469	3,8733
72	1	3,3965	3,0127	2,8547	3,8507
	2	3,3496	3,0444	2,8717	3,8311
	3	3,3694	3,1554	2,8022	3,8145
	RATA-RATA	3,3720	3,0727	2,8433	3,8322
84	1	3,1812	2,8493	2,7073	3,7797
	2	3,1117	2,9149	2,7700	3,7135
	3	3,1534	2,9849	2,6951	3,6862
	RATA-RATA	3,1492	2,9179	2,7247	3,7272
96	1	2,9366	2,6949	2,5280	3,4945
	2	2,8390	2,6987	2,5802	3,4619
	3	2,8997	2,7412	2,5209	3,4175
	RATA-RATA	2,8926	2,7118	2,5434	3,4585

**Lampiran 17. Rumus Perhitungan Waktu Generasi**

$$G = \frac{t}{n}$$
$$n = \frac{\text{Log } N - \text{Log } N_0}{\text{Log } 2}$$
$$= \frac{\text{Log } N - \text{Log } N_0}{0,3010}$$

Keterangan :

G = waktu generasi (jam)

t = waktu akhir eksponensial

n = jumlah generasi

N = jumlah bakteri pada akhir eksponensial

No = jumlah bakteri pada jam ke nol

Lampiran 18. Uji Statistik Waktu Generasi Isolat *Bacillus* sp. Pada Medium Mengandung Tembaga (0,5 mM; 0,8 mM; 1,2 mM) dan Kontrol

ULANGAN	KONSENTRASI TEMBAGA (CuSO <sub>4</sub> )				TOTAL
	0,5 mM	0,8 mM	1,1 mM	KONTROL	
1	7,43	8,88	9,43	6,57	
2	8,30	8,67	9,28	6,70	
3	7,95	8,37	9,94	6,95	
<b>Jumlah</b>	<b>23,68</b>	<b>25,92</b>	<b>28,65</b>	<b>20,22</b>	<b>98,47</b>
<b>Rata-rata</b>	<b>7,89</b>	<b>8,64</b>	<b>9,55</b>	<b>6,74</b>	

$$FK = \frac{(98,47)^2}{(4)(3)} = \frac{9696,3409}{12} = 808,0284083$$

$$JKT = (7,43)^2 + (8,30)^2 + (7,95)^2 + (8,88)^2 + (8,67)^2 + (8,37)^2 + (9,43)^2 + (9,28)^2 + (9,94)^2 + (6,57)^2 + (6,70)^2 + (6,95)^2 - (0,088683213)$$

$$= 821,5819 - 808,0284083$$

$$= 13,5534917$$

$$JKP = \frac{(23,68)^2 + (25,92)^2 + (28,65)^2 + (20,22)^2}{3} - 808,0284083$$

$$= 820,7532333 - 808,0284083 = 12,72482503$$

$$JKG = 13,5534917 - 12,72482503 = 0,82866667$$

$$\text{DB perlakuan} = 4 - 1 = 3$$

$$\text{DB galat} = 11 - 3 = 8$$

$$\text{KTP} = \frac{12,72482503}{3} = 4,241608343$$

$$\text{KTG} = \frac{0,82866667}{8} = 0,103583333$$

$$\text{F hitung} = \frac{4,241608343}{0,103583333} = 38,6$$

**Tabel ANAVA Waktu Generasi Isolat *Bacillus* sp.**

SUMBER VARIASI	DB	JK	KT	F hitung	F tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	12,72482503	4,241608343			
Galat	8	0,82866067	0,103583333	38,6	4,07	7,79
<b>Total</b>	11	13,5534917				

F hitung > F tabel = Sangat signifikan

**Uji DMRT (Duncan Multiple Range Test)**

$$S^2 = \text{KTG}$$

$$R_p = r_p \cdot \sqrt{S^2 / n}$$

$$\sqrt{S^2 / n} = \frac{\sqrt{0,103583333}}{3} = 0,185816516$$

p	rp (0,05)	Rp
2	3,261	(3,261) (0,185816516) : 0,605947658
3	3,399	(3,399) (0,185816516) : 0,631590337
4	3,475	(3,475) (0,185816516) : 0,645712393

	1,1 mM 9,55	0,8 mM 8,64	0,5 mM 7,89	Kontrol 6,74
Kontrol 6,74	2,81 *	1,9*	1,15*	0
0,5 mM 7,89	1,66 *	0,75*	0	
0,8 mM 8,64	0,91*	0		
1,1 mM 9,55	0			

Keterangan : \* = ada beda nyata

Lampiran 19. **Data Uji Regresi – Korelasi Antara Waktu Generasi Isolat *Bacillus* sp Dengan Nilai Akumulasi Tembaga**

<b>WAKTU GENERASI (jam)</b>	<b>AKUMULASI TEMBAGA (mg/g berat kering sel)</b>
7,43	37,04
8,30	35,14
7,95	36,63
8,88	33,53
8,67	33,91
8,37	34,24
9,43	31,46
9,28	31,61
9,94	30,92



## Lampiran 20. Grafik Persamaan Regresi Korelasi Waktu Generasi Isolat

*Bacillus* sp Dengan Akumulasi Tembaga