

LAPORAN KEMAJUAN 70 %



PENGEMBANGAN BAKTERI PENGENDAP KALSIT SEBAGAI MATERIAL SELF-HEALING CONCRETE UNTUK INFRASTRUKTUR BERKELANJUTAN

Peneliti Utama : Dr.Ir. Jonbi, MT.,MM.,MSi (0301106303)
Anggota : Dr. Ir. Laksmi Prima Santi, MSi (70019694010)
: Dr. Mohamad Ali Fulazzaky, MEng. (8881090018)

HIBAH INHOUSE UNIVERSITAS PANCASILA

TAHUN AKDEMIK 2020/2021

NOMOR : 7891/LPPM/UP/XII/2021

UNIVERSITAS PANCASILA

APRIL 2022

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : Pengembangan Mikroba Pelapik Kalsit sebagai Material
Self Healing Concrete Untuk Infrastruktur berkelanjutan

Ketua Peneliti

a. Nama Lengkap : Dr.Ir. Jonbi, MT., MM., MSi
b. NIDN : 0301106303
c. Program Studi : Teknik Sipil
d. Email : jonbi@univpancasila.ac.id

Anggota Peneliti (I)

a. Nama Lengkap : Dr. Ir. Laksmi Prima Santi, MSi
b. NIDN : 700199519002
c. Program Studi : Peneliti Ahli Utama
Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia.

Anggota Peneliti (II)

a. Nama Lengkap : Dr. Mohamad Ali Fulazzaky, MEng., MSc
b. NIDN : 8881090018
c. Program Studi : Teknik Lingkungan Universitas Djuanda

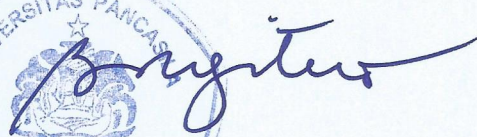
Jumlah Mhs yg terlibat : 2 Mahasiswa

Biaya Penelitian : Rp.100.000.000,-

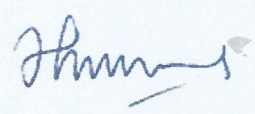
Sumber Dana : Universitas Pancasila

Jakarta , 20 April 2022

Mengetahui,
Dekan FTUP


(Dr. Ir. Budhi Muliawan Suyitno, IPM)
NIDK. 8825530017

Ketua Pengusul


(Dr. Ir. Jonbi, MT., MM., MSi)
NIDN. 0301106303

Menyetujui,
Ka. LPPM-UP


(Dra. Dewi Trirahayu, MM)
NIDN. 0330046201

IDENTITAS DAN URAIAN UMUM

1. Judul Penelitian : Pengembangan Bakteri Pengendap Kalsit sebagai Material Self-Healing Concrete untuk Infrastruktur Berkelanjutan

2. Tim Penelitian

No	Nama	Jabatan	Bidang Keahlian	Instansi Asal	Alokasi Waktu (Jam/Minggu)
1	Dr. Ir. Jonbi, MT., MM., MSi	Ketua	Struktur dan Material	Universitas Pancasila	10
2	Dr. Ir. Laksmi Prima Santi, MSi	Anggota	Mikrobiologi	PPBBI	8
3	Dr. Mohamad Ali Fulazzaky, MEng.	Anggota	Lingkungan	Universitas Juanda	8

3. Objek Penelitian: penelitian ini ditujukan merekayasa teknologi yang aman lingkungan, murah, dan mudah diaplikasikan untuk merekatkan kembali retakan beton. Sasarannya adalah produk yang mampu secara efisien mengatasi masalah retakan internal beton.
4. Masa pelaksanaan
Mulai : Bulan Desember 2021
Berakhir : Agustus 2022
5. Biaya Hibah Internal Rp. 100.000.000
6. Lokasi Penelitian: Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia
7. Temuan yang ditargetkan berupa teknologi pencegahan terjadinya dan teknik penutupan/pemulihan retakan secara *in-situ* dan produk perekat partikel di dalam retakan beton.
8. Kontribusi mendasar pada suatu bidang ilmu berupa terobosan yang dilakukan dalam riset ini adalah berupa pemanfaatan bakteri pelarut dan pengendap karbonat asli Indonesia yang lebih efektif sehingga biaya pembuatan dan pemeliharaan beton menjadi lebih mudah dan murah. Aplikasi bakteri asli Indonesia dalam pemulihan atau penutupan retakan akan lebih kuat dibanding yang tanpa aplikasi bakteri
9. Jurnal ilmiah yang menjadi sasaran dan tahun rencana publikasi pada 8 th International Conference of EACEF Oct 4-5 2022 yang akan dipublikasi di IOP Conference Series atau jurnal bereputasi Q2.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
IDENTITAS DAN URAIAN UMUM.....	1
ABSTRAK	3
BAB 1. PENDAHULUAN	4
1.1. Latar Belakang	4
1.2. Tujuan dan Sasaran	4
1.3. Kebaruan dan Terobosan Teknologi	5
1.4. Luaran	5
1.5 Prospek dan dampak	5
BAB 2. MATERIAL DAN METODE.....	6
BAB 3. KEMAJUAN RISET SAMPAI MARET 2022	10
BAB 4. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA	13
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	13
DAFTAR PUSTAKA	14
LAPORAN KEUANGAN.....	15
LAMPIRAN	17

Pengembangan Bakteri Pengendap Kalsit sebagai Material Self-Healing Concrete untuk Infrastruktur Berkelanjutan

ABSTRAK

Retak pada beton merupakan fenomena umum yang dijumpai di dalam kegiatan konstruksi akibat terjadinya susut, temperatur yang tinggi dan sifat beton yang memiliki kuat tarik (tensile strength) yang rendah. Daya tahan beton dirusak oleh retak yang terjadi karena menjadi jalur aliran cairan dan udara yang secara potensial dapat mengandung senyawa berbahaya. Jika dibiarkan retak menjadi besar dan tidak hanya merusak betonnya tetapi juga rangka penguatnya akan berkarat. Untuk itu sangat penting untuk mengendalikan lebar retak dan menutup kembali retak sesegera mungkin. Oleh karena biaya untuk menutup retak mahal dan tidak selalu efektif dengan menggunakan epoxy, maka perlu dicari alternatif lain yang lebih murah, mudah diaplikasikan, dan memulihkan beton retak secara maksimal. Salah satu teknologi yang baru saja dikembangkan adalah dengan memanfaatkan bakteri yang mampu menutup retak yang terjadi. Bagaimanapun juga, jenis bakteri yang memiliki kemampuan tersebut sangat beragam jenis dan efektivitasnya. Oleh karena itu Universitas Pancasila kerjasama riset untuk menguji beberapa jenis bakteri yang dimiliki oleh Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia, PT Riset Perkebunan Nusantara.

Kata Kunci: pemulihan beton, bakteri pengendap kalsit, pengendapan kalsium.

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Beton telah digunakan sejak jaman Romawi, tetapi tidak pernah sepopuler saat ini, khususnya China menggunakan lebih banyak dalam tiga tahun terakhir dibanding Amerika Serikat dalam satu abad terakhir. Material beton merupakan salah satu bahan yang digunakan secara luas di dunia, yang pada satu titik bagaimanapun cara mencampurnya tetap akan retak dan rusak secara alamiah (Gruyaert *et al.*, 2015). Untuk menanggulangi kerusakan beton akibat retakan ini biasanya digunakan bahan kimia yang diinjeksikan ke dalam rekatan. Kesulitan yang dihadapi antara lain bahwa resin atau polimer yang digunakan tidak mampu menjangkau retakan-retakan kecil di tengah-tengah beton. Selain itu penggunaan bahan kimia ini juga makin mahal. Oleh karena itu dibutuhkan alternatif lain untuk menanggulangi masalah ini.

Akhirnya ditemukan teknik pemulihan sendiri retakan beton yang diciptakan oleh ahli mikrobiologi Hendrik Jonker, yang kemudian membawanya sebagai finalis European Inventor Awards-2015. Idenya dikembangkan dari pemikiran bahwa tubuh dapat menyembuhkan tulang melalui proses mineralisasi. Prinsip yang sama diasumsikan bisa diaplikasi ke beton. Dengan mencampur bahan beton dengan bakteri penghasil batukapur (CaCO_3), ditemukan bahwa semua retakan berhasil tertutup kembali (Davis, 2015). Mekanisme umumnya adalah bakteri pembentuk batukapur kontak dengan air dan kemudian memanfaatkan kalsium laktat sebagai sumber makanan dan menghasilkan batukapur yang hasil akhirnya rekahan tertutup. Bahan ini disebut bio-beton yang dapat memulihkan sendiri.

Bakteri yang dikenal punya kemampuan membentuk batukapur tersebut antara lain adalah *Bacillus pseudofirmus* dan *Sporosarcina pasteurii* yang dijumpai di danau-danau sangat alkalin dekat gunung berapi dan di laut, dan mampu bertahan dorman ratusan tahun tanpa oksigen atau makanan. Kelompok bakteri ini juga disebut alkalipitik karena tahan pada kondisi alkalin yang tinggi. Kemampuan bakteri tersebut mengendapkan kalsit disebabkan oleh produksi enzim urease. Enzim ini telah banyak dibuktikan mampu sebagai bio-katalis hidrolisis urea yang mengakibatkan Ca yang diberikan mengendap dengan CO_3 sebagai kalsium karbonat. Endapan CaCO_3 ini yang kemudian berfungsi sebagai perekat dari retakan beton atau meningkatkan kekuatan tanah.

1.2 Tujuan dan Sasaran

Penelitian ini ditujukan merakit teknologi yang aman lingkungan, murah, dan mudah diaplikasikan untuk merekatkan kembali retakan beton. Sasarannya adalah produk yang mampu secara efisien mengatasi masalah retakan internal beton.

1.3 Kebaruan dan Terobosan Teknologi

Teknologi untuk mengatasi retakan beton dengan memanfaatkan proses bio-mineralisasi dalam menguraikan dan mengendapkan kalsium karbonat di dalam retakan matrik beton sudah banyak diteliti. Namun, teknologi yang tersedia saat ini umumnya menggunakan bakteri yang berkembang di perairan asin yang belum tentu sesuai dengan kondisi di wilayah tropika basah seperti Indonesia. Terobosan yang dilakukan dalam riset ini adalah berupa pemanfaatan bakteri pelarut dan pengendap karbonat asli Indonesia yang lebih efektif sehingga biaya pembuatan dan pemeliharaan beton menjadi lebih mudah dan murah. Aplikasi bakteri asli Indonesia dalam pemulihan atau penutupan retakan akan lebih kuat dibanding yang tanpa aplikasi bakteri. Hasil kegiatan riset ini akan mampu membedakan proses sifat pemindahan (*crack-sealing*) dengan pemulihan sifat mekanis (*crack-healing*) dalam beton hayati (*bio-concrete*).

1.4 Luaran

Luaran yang akan dicapai adalah berupa teknologi pencegahan terjadinya dan teknik penutupan/pemulihan rekahan secara *in-situ* dan produk perekat partikel di dalam rekahan beton. Dengan teknologi yang menggunakan sumberdaya domestik ini, maka biaya pembuatan dan/atau perawatan beton menjadi lebih murah dibanding produk sejenis yang ada di pasar saat ini.

1.5 Prospek dan dampak manfaat

Retakan beton merupakan masalah umum yang dihadapi dalam konstruksi beton. Hal ini secara langsung mempengaruhi keamanan bangunan yang dapat berakibat fatal. Secara umum teknik yang digunakan untuk mengatasi hal tersebut adalah dengan menggunakan besi rangka atau dengan menginjeksikan larutan polimer ke dalam retakan. Cara pertama menyebabkan biaya lebih tinggi, sedang cara kedua tidak semua jenis retakan dapat dimasuki oleh larutan karena letaknya di bagian dalam beton dan atau lebar rekahan sangat kecil untuk dapat dimasuki oleh cairan berviskositas tinggi.

Penggunaan suspensi bakteri pelarut dan pengendap karbonat yang efektif dalam media cair yang tepat akan banyak dibutuhkan untuk mengatasi masalah retakan beton, khususnya retakan mikro yang diskontinyu. Teknik ini disebut teknik kuratif, sedang teknik preventif dilakukan dengan pencampuran ke bahan semen. Teknologi ini memiliki beberapa keunggulan di antaranya adalah: (i) bakteri yang digunakan diperoleh dari habitat dalam negeri sehingga ketersediaannya terjamin, (ii) produk berbentuk cairan dikemas dalam bentuk semprotan sehingga mudah aplikasinya, (iii) produk yang dihasilkan lebih murah harganya. Aplikasi produk ini sangat luas di bidang konstruksi infrastruktur, seperti jembatan, gedung, dan waduk. Dampaknya adalah bangunan infrastruktur akan lebih tahan lama sehingga biaya perawatannya menjadi lebih murah. Di Amerika Serikat biaya perawatan jembatan mencapai USD 5,2 milyar (Breugel, 2007). Di Inggris perbaikan dan perawatan mencapai 45% dari kegiatan industri konstruksi dan bangunan. Di Belanda, 33% biaya total konstruksi tahunan rekayasa sipil digunakan untuk inspeksi, pengawasan, pemeliharaan, renovasi, dan perbaikan. Angka-angka tersebut untuk di Jepang dilaporkan mencapai USD 10 milyar untuk memelihara dan memperbaiki jembatan dan terowongan kereta api di bagian timur.

BAB 2. MATERIAL DAN METODE

Untuk mengembangkan formula larutan perekat hayati untuk retakan beton dan/atau meningkatkan kekuatan tanah diperlukan beberapa ujicoba sebagai berikut.

- a. Seleksi bakteri penghasil urease untuk pengendap kalsit
- b. Pengujian pada retakan buatan (skala lab) dan alami (skala aplikasi).

Seleksi bakteri penghasil urease

Saat ini di Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia (PPBBI) memiliki koleksi bakteri yang mampu menghasilkan enzim urease. Selain itu diperlukan penjarangan isolat bakteri baru dari daerah perairan laut. Pengujian aktivitas enzim secara kualitatif dilakukan di dalam cawan petri dengan media yang sesuai dan diperkaya dengan sumber Ca seperti CaCO_3 . Bakteri yang terbukti menghasilkan enzim urease paling aktif dalam melarutkan Ca yang ditunjukkan oleh zona bening yang terbentuk dipilih sebagai bahan aktif untuk memformulasikan produk sasaran. Enzim urease yang dihasilkan ditetapkan aktivitasnya dengan metode standar. Prototipe formula produk ini dalam bentuk larutan diuji dalam tahapan berikutnya. Selain itu daya tahan bakteri di dalam formulasi prototipe diukur berdasarkan viabilitasnya selama beberapa bulan dalam penyimpanan.

Pengujian pada retakan buatan (skala lab) dan alami (skala aplikasi)

Semen. Semen tipe I dan tipe II menurut standar ASTM C150 digunakan dalam penelitian ini (Williams et al., 2016). Komposisi massa oksida ditetapkan dengan metode X-Ray Fluorescence (XRF).

Agregat Halus

Pasir dari Belitung sebagai agregat halus (lolos ayakan No. 4) sebelum pencampuran dan digunakan untuk membuat specimen mortar. Untuk mengetahui komposisi mineral pasir ini dilakukan analisis X-Ray Diffraction (XRD).

Media dan Bakteri

Beberapa koleksi isolat bakteri diseleksi secara cepat kemampuan dalam menghasilkan enzim urease dengan menggunakan *microbact identification kits*. Hasil seleksi selanjutnya akan dipilih isolate yang memiliki kemampuan produksi urease dengan aktivitas tinggi. Bakteri tersebut ditumbuhkan dalam medium *urea-yeast extract (UYE)* atau *urea meat extract sodium acetate (UME-SA)*. Media UYE mengandung 15,75 g/L Tris base, 20 g/L yeast extract, dan 10 g/L urea. Media UME-SA mengandung 15,75 g/L Tris base, 8,85 g/L meat extract, 10 g/L urea, dan sodium asetat terhidrat untuk menghasilkan chemical oxygen demand (COD) dalam UME-SA sama secara ekuivalen dengan yang di dalam medium UYE. Nilai pH dari kedua media diatur pada pH 9 dengan penambahan HCl. Bakteri yang digunakan selanjutnya ditumbuhkan secara aerobik dalam mesin pengocok pada suhu 30°C. Populasi bakteri dimonitor berdasarkan OD pada 600 nm selama 24 jam dengan menggunakan spektrofotometer.

Metode penelitian pada tahap aplikasi dilakukan sebagai berikut:

a. Pembuatan Benda Uji

Pembuatan benda uji untuk tahap aplikasi menggunakan beton dengan mutu K350 atau f'c 30 benda uji dibuat 6 spesimen dengan ukuran (100x150x15) cm. Keenam spesimen dilakukan curing dan dibiarkan terjadinya crack sampai beton berumur 28 hari

b. Tahap Pengujian

Metode penelitian pada tahap aplikasi dilakukan sebagai berikut:

Tahap Uji Aplikasi Tahun Ke 1 adalah dengan menggunakan contoh Mortar. Benda uji berupa mortar ini dibuat dengan ukuran (50x100x10 cm) sebanyak 6 sampel. Pengujian yang dilakukan

menyangkut UPV tests dan *Tensile strength*. Pengujian aplikasi dilakukan pada an menggunakan bahan beton berumur 28 hari. Adapun pengujian yang dilakukan adalah

b.1. UPV Test :

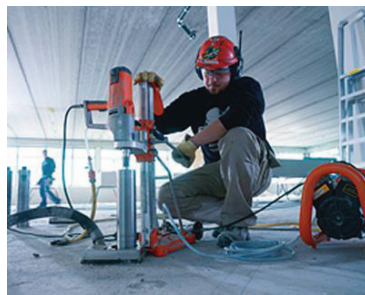
Tujuan untuk mengetahui kedalaman retak, kuat tekan, homogenitas beton. Pengujian dilakukan sebelum dan sesudah beton dilakukan treatment dengan bakteri yang dihasilkan pada tahapan sebelumnya (Gambar 2.1).



Gambar 2.1. Pengujian UPV

b.2. Pengujian Coredrille

Dilakukan setelah bakteri telah berhasil menutup keretakan pada beton yang ada. Coredrille dengan ukuran sampel diameter 2 inch dan tinggi 4 inch. Core drille dilakukan untuk melihat secara langsung apakah bakteri telah berhasil menutup keretakan pada beton secara sempurna (Gambar 2.2).



Gambar 2.2. Pengujian Coredrille

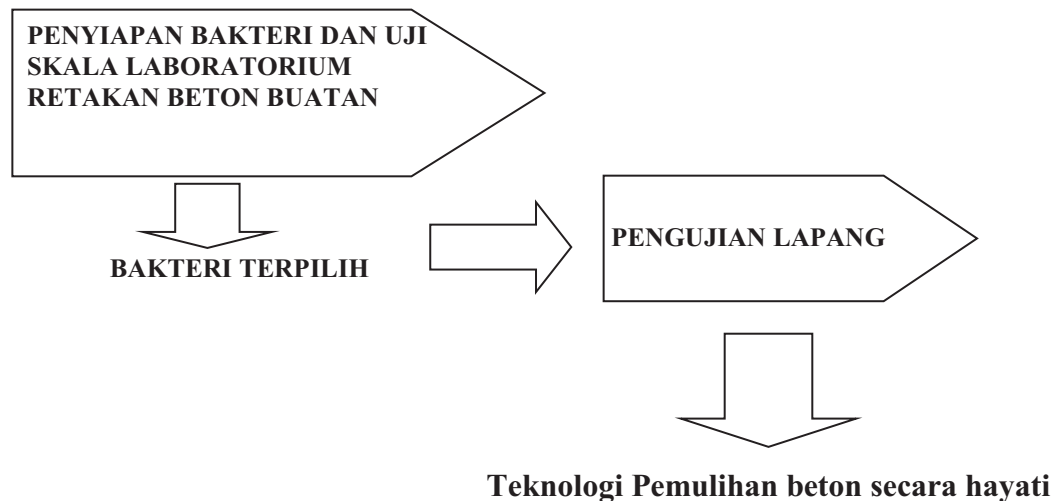
b.3 Kuat Tarik (*Tensile strength*) dan Kuat lekat (*Pullout strength*) .

Pengujian dilakukan dengan menggunakan standar ASTM C 190. Pengujian akan dilaksanakan di B4T Bandung. Kegunaan Uji Tarik dan Kuat lekat. (Gambar 2.3).



Gambar 2.3. Pengujian Kuat Tarik (*Tensile strength*) dan Kuat lekat (*Pullout strength*)

Road-map riset Pengembangan Bakteri Pengendap kalsit Sebagai Material Self-Healing Concrete untuk Infrastruktur Berkelanjutan disajikan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4. Tahapan pelaksanaan dari riset

c. Posisi teknologi saat ini

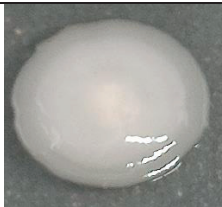
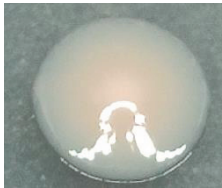
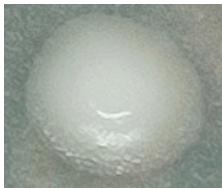
Teknologi beton pulih sendiri (self healing) telah cukup berkembang sejak awal tahun 2000-an (Ahn & Kishi, 2010 & Schlangen *et al.*, 2010). Namun teknologi yang menggunakan pendekatan hayati masih tergolong belum banyak berkembang. Teknologi ini memanfaatkan kemampuan bakteri pengendap kalsit untuk menutup retakan mikro di dalam beton. Menurut Williams *et al.* (2016) pemulihan seperti ini dapat berlangsung melalui dua pendekatan proses pengendapan kalsium karbonat yang difasilitasi oleh bakteri, yaitu secara internal dan eksternal. Proses internal adalah dengan mencampur bakteri dengan bahan adukan semen dan proses eksternal dilakukan dengan mengaplikasikan bakteri ke permukaan beton. Penutupan retakan terjadi akibat pelarutan kalsium karbonat oleh enzim urease yang dihasilkan oleh bakteri (Wei *et al.*, 2015 & Putra *et al.*, 2016). Kunci dari teknologi ini adalah efektivitas bakteri pengendap kalsit di dalam retakan beton. Beberapa bakteri yang dilaporkan memiliki kemampuan itu antara lain adalah *Sporosarcina sp.*, *Bacillus sp.*, dan *Brevundimonas sp.* (Wei *et al.*, 2015), *Lysinibacillus sphaericus* and *Sporosarcina pasteurii* (Williams *et al.*, 2016) and *Bacillus cohnii* (Wang *et al.*, 2013). Bagaimanapun juga, hasil-hasil tersebut di atas masih sebatas penelitian dan belum ada produk komersial di Indonesia.

BAB 3. KEMAJUAN KEGIATAN RISET SAMPAI MARET 2022

3.1. Peremajaan Bakteri Potensial Pengendap Kalsit

Proses peremajaan isolat perlu dilakukan agar kondisi metabolisme bakteri yang digunakan kembali optimal setelah mengalami proses preservasi yang cukup lama. Selain proses peremajaan dilakukan juga identifikasi morfologi isolat tunggal bakteri pengendap kalsit.

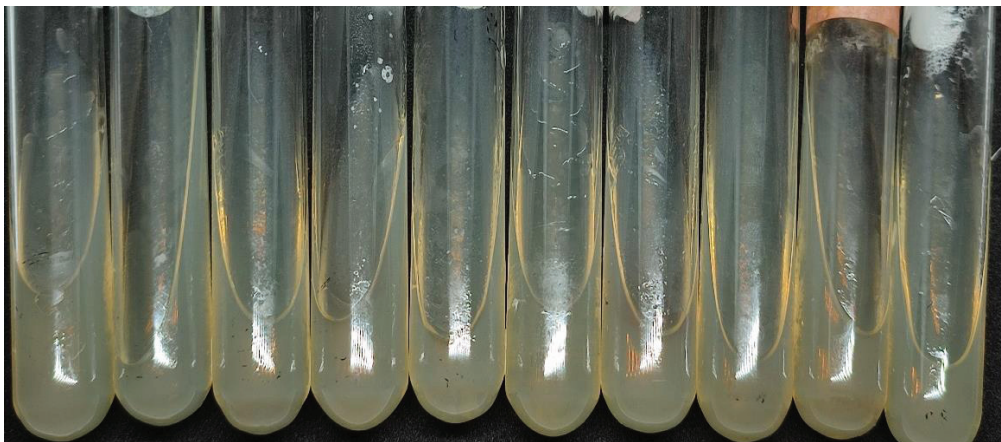
Tabel 1. Identifikasi morfologi koloni bakteri pengendap kalsit.

No	Nama dan Kode Isolat	Koloni Bakteri	Ciri Morfologi
1.	<i>Bacillus subtilis</i> T.STTP.RGC		Ukuran koloni sedang, bentuk bulat (circular), elavasi konveks, margin undulate, warna milky, permukaan moist.
2.	<i>B. subtilis</i> PG 7 II.9		Ukuran koloni sedang, bentuk bulat (circular), elavasi konveks, margin rata (entire), warna putih-pink, permukaan moist.
3.	<i>B. flexus</i> RK1-E2		Ukuran koloni besar, bentuk irregular, elavasi datar (flat), margin lobate, warna putih, permukaan smooth.
4.	<i>B. cereus</i> KI-3		Ukuran koloni sedang, bentuk bulat (circular), elavasi konveks, margin undulate, warna putih, permukaan smooth.
5.	<i>Bacillus</i> sp. BWS-1		Ukuran koloni besar, bentuk irregular, elavasi datar (flat), margin lobate, warna putih, permukaan wrinkled.

Presipitasi CaCO_3 dari Bakteri Pengendap Kalsit

Pengujian presipitasi CaCO_3 dari bakteri dilakukan pada medium urea- CaCl_2 cair, dengan komposisi per liter medium terdiri dari 3 g nutrient broth, 20 g urea, 10 g NH_4Cl , dan 2.12 g NaHCO_3 . Kemudian pH di adjust menjadi 6.0 dan setelah proses autoklaf, medium ditambahkan sumber CaCl_2 steril dengan konsentrasi akhir 25.2 mM (Bang *et al.*, 2010). Ke dalam 200 mL medium urea- CaCl_2 diinokulasi sebanyak 1 ose bakteri uji, selanjutnya medium berisi bakteri dishaker 200 rpm, 30 °C. Dilakukan pengambilan sampel secara berkala pada waktu inkubasi 2, 4, 6, dan 8 hari untuk pengukuran pH dan analisis presipitasi CaCO_3 menggunakan metode standar titrasi EDTA.

Lima isolat bakteri unggul pengendap kalsit yang telah diidentifikasi awal di Laboratorium Mikrobiologi, Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia (PPBBI), PT Riset Perkebunan Nusantara sebagian besar dari Genus *Bacillus*. Biakan murni ini selanjutnya dipelihara dalam media agar miring di dalam tabung reaksi (Gambar 3.1) untuk pengujian lebih lanjut terkait kemampuannya mengendapkan kalsit dalam rekahan semen yang dimodifikasi sesuai metode yang disampaikan oleh Sun *et al.*, (2019).

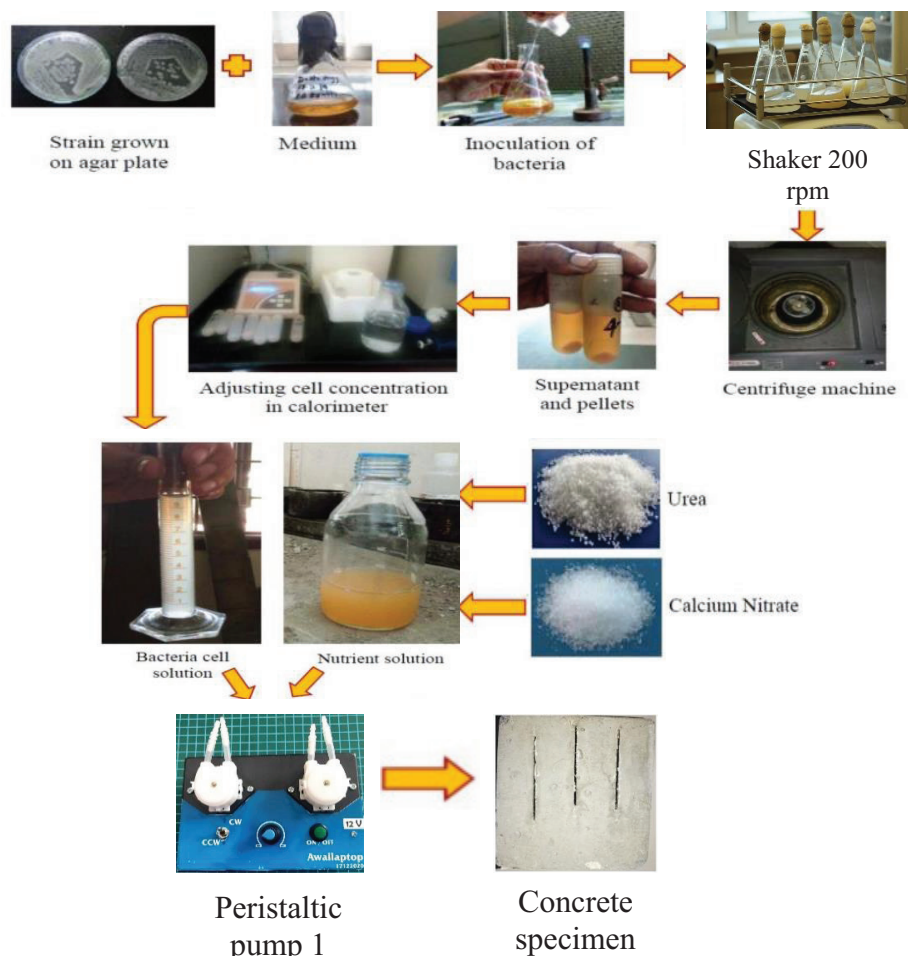


Gambar 3.1. Bakteri potensial pengendap kalsit

Self-healing cracking

Untuk percobaan self-healing cracking, maka dibuat concrete specimens dengan ukuran 10x10x10 cm. Kemudian 3 buah rekahan dibuat dengan panjang 5 cm, kedalaman 10 cm, dan ketebalan 1.5 mm menggunakan lembaran stainless steel. Dibuat ulangan sebanyak 3 kali dan sebagai kontrol digunakan specimen dengan kondisi normal (tanpa cracking) sebanyak 3 ulangan.

Persiapan kultur bakteri dilakukan dengan medium nutrient broth mengikuti tahapan pada gambar 2. Bakteri kultur tunggal diinokulasi ke dalam 200 mL medium NB, kemudian dishaker 200 rpm, 30 °C selama 72 jam. Selanjutnya sel bakteri dipisahkan dari medium dengan sentrifus 9000 rpm, 15 menit dalam kondisi dingin (4 °C) untuk mencegah terjadinya lisis sel selama proses sentrifus. Pellets yang merupakan endapan sel bakteri dilarutkan ke dalam akuades steril sehingga diperoleh optical density yang setara dengan konsentrasi bakteri 1×10^8 CFU/mL.



Gambar 3.2. Prosedur pengujian self-healing cracking

Kemudian larutan bakteri dicampurkan dengan gelling solution (calcium acetate dan urea dengan konsentrasi 0.5 M) dengan perbandingan 1:19, selanjutnya campuran suspensi diinjeksikan ke dalam rekahan dengan kecepatan 1 mL/menit menggunakan peristaltic pump, total volume yang diinjeksi ke masing-masing rekahan adalah 30, 45, dan 60 mL. Campuran suspensi ditambahkan

sekali setiap harinya selama 9 hari. Parameter pengamatan dilihat dari perubahan fisik yang terjadi serta pengukuran total ammonium nitrogen dengan metode Nessler (Ivanov *et al.*, 2005).

4. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

Rencana Tahapan berikutnya :

Hasil efikasi bakteri terpilih terhadap kemampuannya dalam mengendapkan kalsit pada rekahan semen yang dimodifikasi akan dianalisis melalui *scanning electron microscope* dan spectra X-ray defraktometer (XRD).



Gambar 3. Kultur bakteri yang telah disiapkan untuk pengujian Self-healing cracking

- Sedang menyiapkan draft paten sederhana
- Draft paper yang akan diajukan pada 8 th international Conference of Euro Asia Civil Engineering Forum EACEF 04-05 Oct 2022

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan :

- Riset ini telah memperlihatkan hasil yang signifikan dengan proposal yang diajukan dengan beberapa penyesuaian luaran sesuai dengan dana tersedia.
- Pencairan dana yang disetujui yang terlalu sedikit/kecil dari dana yang diajukan, cukup menyulitkan peneliti mencapai hasil maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahn, T. H. & T. Kishi. 2010. Crack self-healing behavior of cementitious composites incorporating various mineral admixtures. *J. Adv. Concrete Technol.* Vol. 8 (2):171-186.
- ASTM C190. Test Method for Tensile Strength of Hydraulic Cement Mortars.
- Bang, S., J. Lippert, U. Yerra, S. Mulukutla & V. Ramakhrisnan. 2010. Microbial calcite, a bio-based smart nanomaterials in concrete remediation. *Internat. J. Smart Nano Mat.* Vol 1:28-39.
- El-Reedy, M.(2009),”Advanced Materials and Techniques for Reinforced Concrete Structures”, GRC Press, pp. 132-145
- Gruyaert, E., D. Snoeck, K. H. Tittelboom, J. Wang, A. Mignon, J. Feiteria, A. G. De Aaraujo & Y. C. Ersan. 2015. Self-healing concrete by means of bacteria embedded in supper absorbent polymers. Univ. Ghent. Belgium.
- Li, V. & E. Herbert. 2012. Robust self-healing concrete for sustainable infrastructure. *J. Adv. Conc. Tech.* V 10(6), 2017-218pp.
- Putra, H., H. Yasuhara, N. Kinoshita, D. Neupane & C. W. Lu. 2016. Effect of magnesium as substitute material in enzyme-mediated calcite precipitation for soil-improvement technique. *Frot. Bioeng. Biotechnol.* 4:37.
- Sun, X., L. Miao, & R. Chen. 2019. Adding aluminum oxide to improve the repairing effect of cracks based on bio-remediation. *J. Adv. Conc. Technol.* 17: 177-187.
- Schlangen, E., H. Jonkers, S. Qian & A. Garcia. 2010. Recent advances on self-healing of concrete. *Fract. Mech. Conc. Conc Struct. Recet Adv. Fract. Mech. Conc.* B. H. Oh et al (Eds). Seoul.
- Wang, J., H. Soens, W. Vestraete & N. De Belie. 2013. Self-healing concrete by use of microencapsulated bacterial spores. *Cement & Conc. Res.* V 56:139-152pp.
- Wei, S., H. Cui, Z. Jiang, H. Liu, H. He & N. Fang. 2015. Biomineralization processes of calcite induced by bacteria isolated from marine sediments. *Braz. J. Microbiol.*, 46(2):455-464.
- Williams, S. L., N. Sakib, M. J. Kirsits & R. D. Ferron. 2016. Flexural strebgh recovery induced by vegetative bacteria added mortar. *ACI Mat. J.* 113 (4):523-532.

LAPORAN KEUANGAN

Rencana Anggaran Biaya

KETERANGAN				JUMLAH BIAYA (Rp)
BIAYA LANGSUNG PERSONIL				
1. Tenaga Ahli (Periset)				13,000,000
2. Tenaga Pendukung (Mahasiswa)				3,200,000
BIAYA LANGSUNG NON PERSONIL				
1. Pengembangan Prototipe				49,506,000
2. Pengujian Prototipe				15,000,000
3. Analisa Data				1,500,000
4. Transport Kegiatan A				5,800,000
5. Transport Kegiatan B				1,700,000
6. Transport Kegiatan C				3,000,000
7. Publikasi dan Diseminasi				7,294,000
TOTAL				100,000,000

Anggaran Biaya Yang telah digunakan sampai laporan 70%

KETERANGAN				JUMLAH BIAYA (Rp)	JUMLAH BIAYA (Rp)
BIAYA LANGSUNG PERSONIL					
1. Tenaga Ahli (Periset)				13,000,000	
2. Tenaga Pendukung (Mahasiswa)				3,200,000	
BIAYA LANGSUNG NON PERSONIL					
1. Pengembangan Prototipe				49,506,000	49,506,000
2. Pengujian Prototipe				15,000,000	15,000,000
3. Analisa Data				1,500,000	1,500,000
4. Transport Kegiatan A				5,800,000	5,800,000
5. Transport Kegiatan B				1,700,000	
6. Transport Kegiatan C				3,000,000	
7. Publikasi dan Diseminasi				7,294,000	
TOTAL				100,000,000	71,806,000

PERINCIAN RENCANA ANGGARAN BIAYA

Komponen Biaya Riset/ Aktivitas Riset/ Justifikasi Kebutuhan		Indikator Kinerja Riset/ LUARAN	Volume	Frekuensi	Harga Satuan (Rp)	Satuan	Jumlah
a	b	c	d	e	f	g	
BIAYA LANGSUNG PERSONIL							
1	(Dr. Ir. Jonbi, MT., MM., Msi) : Peneliti Utama		20	10	25,000	OJ	5,000,000
2	(Prof. Dr. Ir. M. Ali Fulazzaky, CES) : Peneliti Utama		20	8	25,000	OJ	4,000,000
3	(Dr. Ir. Laksmi Prima Santi, MSi) : Peneliti Utama		20	8	25,000	OJ	4,000,000
4	(Daral Suraedi) : Mahasiswa		20	8	10,000	OJ	1,600,000
5	(Farhan Rafliansyah) : Mahasiswa		20	8	10,000	OJ	1,600,000
Sub Total							16,200,000
BIAYA LANGSUNG NON PERSONIL							
Pengadaan Bahan/ Peralatan Produksi/ Sewa Alat							
Kegiatan A	Pengembangan Prototipe						
1	Sodium Hydrogen	1	1	1,500,000	kg	1,500,000	1,665,000
2	Ficoll Type 400-DL	1	5	850,000	gr	4,250,000	4,717,500
3	Calcium Chloride	1	2	1,000,000	kg	2,000,000	2,220,000
4	Barium Chloride	1	2	1,500,000	liter	3,000,000	3,330,000
5	Urease activy assay kit	2	1	5,000,000	pack	10,000,000	11,100,000
6	Ethylendiamine	1	1	2,500,000	kg	2,500,000	2,775,000
7	Nessler's color reagent	1	1	8,500,000	kg	8,500,000	9,435,000
8	Urease	1	5	1,200,000	kg	6,000,000	6,660,000
9	Pasir mesh 200	100	1	20,000	kg	2,000,000	2,220,000
10	Pasir silika mesh 30-60	100	1	10,000	kg	1,000,000	1,110,000
11	Pasir silika 16-30	100	1	7,500	kg	750,000	832,500
12	Agregat kasar	2	1	850,000	m3	1,700,000	1,887,000
13	semen portland	20	1	70,000	sak	1,400,000	1,554,000
Sub Total							49,506,000
Kegiatan B	Pengujian Prototipe						
1	Uji XRD	1	5	1,500,000	pcs	7,500,000	7,500,000
2	Uji SEM	1	5	1,500,000	pcs	7,500,000	7,500,000
Sub Total							15,000,000
Kegiatan C	Analisis Data						
1	Uji XRD	1	1	650,000	kali	650,000	650,000
2	Uji SEM	1	1	850,000	kali	850,000	850,000
Sub Total							1,500,000
Perjalanan, Transportasi, Seminar, dan Publikasi							
Transport : Kegiatan A							
1	Perjalanan Jakarta - Bogor	6	1	150000	kali	900,000	900,000
2	Perjalanan Bogor - Jakarta	6	1	150000	kali	900,000	900,000
3	Perjalanan dalam kota jakarta	10	1	250000	kali	2,500,000	2,500,000
4	Perjalanan dalam kota bogor	10	1	150000	kali	1,500,000	1,500,000
Sub Total							5,800,000
Transport : Kegiatan B							
1	Transport Ke Acara Seminar	1	1	750,000	kali	750,000	750,000
2	Transport Ke Acara Diskusi dan Pembuatan Laporan	1	1	950,000	kali	950,000	950,000
Sub Total							1,700,000
Transport : Kegiatan C							
1	Seminar Internasional di Dalam Negeri	1	1	3,000,000	kali	3,000,000	3,000,000
Sub Total							3,000,000
Publikasi dan Diseminasi							
1	Seminar Internasional dalam negeri	1	1	3,000,000	kali	3,000,000	3,000,000
2	Pendaftaran HKI	1	1	2,500,000	kali	2,500,000	2,500,000
3	Lumpsum dan transportasi peneliti	1	1	1,794,000	kali	1,794,000	1,794,000
Sub Total							7,294,000
Total							100,000,000

LAMPIRAN

- **Bukti pendukung laporan keuangan**
- **Draft paper**

CV. JOHN HI-TECH CONTRINDO
 Jl. Rawa Bambu Raya No.17A Pasar Minggu
 JAKARTA SELATAN 12520
 Telp: 021-7827947
 Fax : 021-7827966

FAKTUR PENJUALAN
INVOICE

Kepada Yth, Yay. Pendidikan dan Pembinaan Universitas Pancasila Srengseng Sawah Blok 0 No. 56-80 RT: 001 RW: 003 Kel. Jagakarsa Kec. Jagakarsa Kota/Kab. Jakarta Selatan DKI Jakarta 12640		Tanggal : 18 April 2022 No. : 7/JHC/INV/4/2022	
NAMA BARANG	Kuantitas	Harga satuan	JUMLAH
Sodium Hydrogen	1	1,500,000	1,500,000
Ficoll Type 400-DL	5	850,000	4,250,000
Calcium Chloride	2	1,000,000	2,000,000
Barium Chloride	2	1,500,000	3,000,000
Urease activy assay kit	2	5,000,000	10,000,000
Ethylendiamine	1	2,500,000	2,500,000
Nessler's color reagent	1	8,500,000	8,500,000
Urease	5	1,200,000	6,000,000
Jumlah Harga Jual			37,750,000
Potongan pembayaran DP			-
Harga Jual			
DPP			37,750,000
PPN 11%			4,152,500
JUMLAH			41,902,500

- Barang yang sudah dibeli tidak dapat dikembalikan/tukar
- Pembayaran dengan cek/giro dianggap lunas setelah dicairkan oleh Bank
- Bank:
Bank / BNI
Cab: A Margonda, Depok
a/n: E Eniati Sri Mulyani
a/c: 842087916

Hormat Kami,



Enati Sri Mulyani, SE., MM

Faktur Pajak

Kode dan Nomor Seri Faktur Pajak : 010.003-22.42352495		
Pengusaha Kena Pajak		
Nama : CV JOHN HI-TECH CONTRINDO Alamat : JL. R SANIM NO. 9 RT. 007 RW. 002, TANAH BARU , DEPOK NPWP : 01.569.775.8-412.000		
Pembeli Barang Kena Pajak / Penerima Jasa Kena Pajak		
Nama : Yay. Pendidikan dan Pembinaan Universitas Pancasila Alamat : Srengseng Sawah Blok - No.56-80 RT:001 RW:003 Kel.Jagakarsa Kec.Jagakarsa Kota/Kab.Jakarta Selatan DKI Jakarta Raya 12640 NPWP : 01.323.640.1-062.000		
No.	Nama Barang Kena Pajak / Jasa Kena Pajak	Harga Jual/Penggantian/Uang Muka/Termin
1	Pembelian Sodium Hydrogen dll sesuai invoice no.7/JHC/INV/4/2022 Rp 37.750.000 x 1	37.750.000,00
Harga Jual / Penggantian		37.750.000,00
Dikurangi Potongan Harga		0,00
Dikurangi Uang Muka		0,00
Dasar Pengenaan Pajak		37.750.000,00
Total PPN		4.152.500,00
Total PPnBM (Pajak Penjualan Barang Mewah)		0,00

Sesuai dengan ketentuan yang berlaku, Direktorat Jenderal Pajak mengatur bahwa Faktur Pajak ini telah ditandatangani secara elektronik sehingga tidak diperlukan tanda tangan basah pada Faktur Pajak ini.

DEPOK, 18 April 2022



Eniati Sri Mulyani SE., MM.

PEMBERITAHUAN: Faktur Pajak ini telah dilaporkan ke Direktorat Jenderal Pajak dan telah memperoleh persetujuan sesuai dengan ketentuan peraturan perpajakan yang berlaku. PERINGATAN: PKP yang menerbitkan Faktur Pajak yang tidak sesuai dengan keadaan yang sebenarnya dan/atau sesungguhnya sebagaimana dimaksud Pasal 13 ayat (9) UU PPN dikenai sanksi sesuai dengan Pasal 14 ayat (4) UU KUP

1 dari 1

CV. JOHN HI-TECH CONTRINDO
 Jl. Rawa Bambu Raya No.17A Pasar Minggu
 JAKARTA SELATAN 12520
 Telp: 021-7827947
 Fax : 021-7827966

FAKTUR PENJUALAN
INVOICE

Kepada Yth, Yay. Pendidikan dan Pembinaan Universitas Pancasila Srengseng Sawah Blok 0 No. 56-80 RT: 001 RW: 003 Kel. Jagakarsa Kec. Jagakarsa Kota/Kab. Jakarta Selatan DKI Jakarta 12640		Tanggal : 20 April 2022 No. : 8/JHC/INV/4/2022	
NAMA BARANG	Kuantitas	Harga satuan	JUMLAH
Pasir SilikaMesh 200	100	20,000	2,000,000
Pasir silika mesh 30-60	100	10,000	1,000,000
pasir silika mesh 16-30	100	7,500	750,000
Agregat kasar	2	850,000	1,700,000
Semen portland	20	70,000	1,400,000
Jumlah Harga Jual			6,850,000
Potongan pembayaran DP			-
Harga Jual			
DPP			6,850,000
PPN 11%			753,500
JUMLAH			7,603,500

- Barang yang sudah dibeli tidak dapat dikembalikan/tukar
- Pembayaran dengan cek/giro dianggap lunas setelah dicairkan oleh Bank
- Bank:
Bank / BNI
Cab: A Margonda, Depok
a/n: E Eniati Sri Mulyani
a/c: 842087916

Hormat Kami,



Enati Sri Mulyani, SE., MM

Faktur Pajak

Kode dan Nomor Seri Faktur Pajak : 010.003-22.42352496		
Pengusaha Kena Pajak		
Nama : CV JOHN HI-TECH CONTRINDO Alamat : JL. R SANIM NO. 9 RT. 007 RW. 002, TANAH BARU , DEPOK NPWP : 01.569.775.8-412.000		
Pembeli Barang Kena Pajak / Penerima Jasa Kena Pajak		
Nama : Yay. Pendidikan dan Pembinaan Universitas Pancasila Alamat : Srengseng Sawah Blok - No.56-80 RT:001 RW:003 Kel.Jagakarsa Kec.Jagakarsa Kota/Kab.Jakarta Selatan DKI Jakarta Raya 12640 NPWP : 01.323.640.1-062.000		
No.	Nama Barang Kena Pajak / Jasa Kena Pajak	Harga Jual/Penggantian/Uang Muka/Termin
1	Pembelian Pasir Silika mesh 200 dll sesuai invoice no.8/JHC/INV/4/2022 Rp 6.850.000 x 1	6.850.000,00
Harga Jual / Penggantian		6.850.000,00
Dikurangi Potongan Harga		0,00
Dikurangi Uang Muka		0,00
Dasar Pengenaan Pajak		6.850.000,00
Total PPN		753.500,00
Total PPnBM (Pajak Penjualan Barang Mewah)		0,00

Sesuai dengan ketentuan yang berlaku, Direktorat Jenderal Pajak mengatur bahwa Faktur Pajak ini telah ditandatangani secara elektronik sehingga tidak diperlukan tanda tangan basah pada Faktur Pajak ini.

DEPOK, 18 April 2022



Eniati Sri Mulyani SE., MM.

BUKTI PEMBAYARAN

Sudah terima dari : Jonbi Hibah In house No. 789/LPPM/UP/XII/2021

Banyaknya uang : Lima belas juta rupiah

Untuk pembayaran : Jasa Uji XRD

Uraian Kegiatan	Satuan	Volume	Harga Satuan (Rp)	Total (Rp)
Jasa uji XRD	1	5	1,500,000	7,500,000
Jasa uji SEM	1	5	1,500,000	7,500,000
Jumlah			Rp	15,000,000

Biaya	:	Rp	15,000,000
PPH 22	:	Rp	225,000
Dibayarkan	:	Rp	14,775,000

Jakarta, 12 Maret 2022



Eri Bayu Prasetyo

BUKTI PEMBAYARAN

Sudah terima dari : Jonbi Hibah In house No. 789/LPPM/UP/XII/2021

Banyaknya uang : Satu juta lima ratus ribu rupiah

Untuk pembayaran : Jasa analisis Data

Uraian Kegiatan	Satuan	Volume	Harga Satuan (Rp)	Total (Rp)
Jasa Analisis data XRD	1	1	650,000	650,000
Jasa Analisis data SEM	1	1	850,000	850,000
Jumlah			Rp	1,500,000

Biaya : Rp 1,500,000

PPH 22 : Rp 22,500

Dibayarkan : Rp 1,477,500

Jakarta, 12 Maret 2022



Eri Bayu Prasetyo

BUKTI PEMBAYARAN

Sudah terima dari : Jonbi Hibah In house No. 789/LPPM/UP/XII/2021

Banyaknya uang : Lima juta delapan ratus ribu rupiah

Untuk pembayaran : Sewa kendaraan selama Riset dari Awal Januari s/d akhir Maret 2022

Uraian Kegiatan	Satuan	Volume	Harga Satuan (Rp)	Total (Rp)
Sewa kendaraan Avanza selama riset (Lump sum)	1	1	Rp 5,800,000	Rp 5,800,000
Jumlah			Rp	5,800,000

Biaya : Rp 5,800,000

PPh 22 : Rp 87,000

Dibayarkan : Rp 5,713,000

Jakarta, 1 April 2022



Rifqi Kidut

Preliminary Study on the Development of Calcite Precipitation Bacteria as a Self-Healing Concrete Material for Sustainable Infrastructure

Jonbi^{1*}, Laksmi P Santi², Mohamad Ali fulazzaky³

¹ Departement of Civil Engineering , Faculty of Engineering, Pancasila University, Srengseng Sawah, Jakarta

² Indonesian Research Institute for Biotechnology and Bioindustry, Bogor

³ Faculty of Environment and Labour safety, Ton Duc Thang university, Ho Chi minh City, Vietnam

Jonbi@univpancasila.ac.id

Abstract.

Cracks in concrete are a common phenomenon encountered in construction activities due to shrinkage, high temperatures and the nature of concrete that has low tensile strength. The durability of concrete is compromised by the cracking that occurs because it becomes a flow path for liquids and air that has the potential to contain hazardous compounds. If left unchecked, the cracks become large and not only damage the concrete but also the reinforcing steel will rust. For this reason, it is very important to control the width of the crack and seal the crack as soon as possible. Because the cost of sealing cracks is expensive and it is not always effective to use epoxy, it is necessary to look for other alternatives that are cheaper, easy to apply, and optimally recover cracked concrete. One of the technologies developed is to utilize bacteria that are able to close the cracks that occur. The types of bacteria that have this ability are very diverse and effective. The results of the preliminary study show that the bacteria that have prospects for further development are the *Bacillus subtilis*.

Keywords: Cracks, epoxy, self healing concrete, calcite precipitating bacteria.

1. Introduction

Concrete is one of the most widely used materials in the world, in fact, even though various methods have been used to mix it, it still cracks and breaks naturally [1]. To overcome the damage to concrete caused by these cracks, chemicals are usually injected into the cracks. The difficulties encountered include that the resin or polymer used is not able to reach small cracks in the middle of the concrete. In addition, the use of these chemicals is also increasingly expensive. Therefore, other alternatives are needed to overcome this problem.

The technology of self-healing concrete has developed quite a bit since the early 2000s [2, 3]. However, technology that uses a biological approach is still relatively underdeveloped. This technology exploits the ability of calcite-precipitating bacteria to seal micro-cracks in concrete. This kind of recovery can take place through two approaches to the calcium carbonate deposition process facilitated by bacteria, namely internally and externally [4].

Crack closure occurs due to the coating of calcium carbonate by the enzyme urease produced by bacteria [5, 6]. Several bacteria reported to have this ability include *Sporosarcina* sp., *Bacillus* sp., and *Brevundimonas* sp. [5] *Lysinibacillus sphaericus* and *Sporosarcina pasteurii* [4] and *Bacillus cohnii* [7]. However, the results mentioned above are still limited to research and there are no commercial products in Indonesia.

The technology to overcome concrete cracks by utilizing the bio-mineralization process in decomposing and depositing calcium carbonate in the cracks of the concrete matrix has been widely studied. However, currently available technology generally uses bacteria that thrive in salty waters, which are not necessarily suitable for conditions in the wet tropics like Indonesia. For this reason, this initial research is a breakthrough made in the form of more effective utilization of native Indonesian carbonate-solvent and precipitating bacteria so that the cost of making and maintaining concrete becomes easier and cheaper.

2. Materials and Methods

To develop a bio-adhesive solution formula for concrete cracks, several trials are as follows.

- a. Selection of urease-producing bacteria for calcite deposition
- b. Testing on laboratory-scale artificial cracks.

Selection of urease-producing bacteria

Currently, Indonesian Research Institute for Biotechnology and Bioindustry, Bogor has a collection of bacteria capable of producing the enzyme urease. In addition, it is necessary to screen new bacterial isolates from marine waters. Qualitative testing of enzyme activity was carried out in petri dishes with suitable media and enriched with Ca sources such as CaCO_3 . Bacteria that were proven to produce the most active urease enzyme in dissolving Ca indicated by the clear zone formed were selected as active ingredients for formulating the target product. The activity of the urease enzyme produced was determined by standard methods. The prototype of this product formula in the form of a solution is tested in the next stage. In addition, the resistance of bacteria in the prototype formulation was measured based on its viability for several months in storage.

Testing on artificial cracks on a laboratory scale.

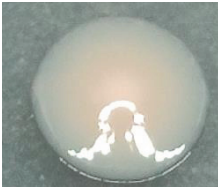
Media and Bacteria

Several collections of bacterial isolates were quickly selected for their ability to produce urease enzymes using microbact identification kits. The results of the next selection will select isolates that have the ability to produce urease with high activity. These bacteria were grown in urea-yeast extract (UYE) or urea meat extract sodium acetate (UME-SA) medium. UYE media contains Tris 15.75 g/L as basic ingredients, 20 g/L yeast extract, and 10 g/L urea. UME-SA media contains 15.75 g/L Tris base, 8.85 g/L meat extract, 10 g/L urea, and hydrated sodium acetate to produce chemical oxygen demand (COD) in UME-SA which is equivalent to that in UYE medium. The pH value of both media was adjusted to pH 9 with the addition of HCl. The bacteria used were then grown aerobically in a shaking machine at a temperature of 30°C. The bacterial population was monitored based on the OD at 600 nm for 24 hours using a spectrophotometer.

3. Result and Discussion

The isolation rejuvenation process needs to be carried out so that the metabolic conditions of the bacteria that are reused are optimal after undergoing a long preservation process. In addition to the rejuvenation process, the morphology of single isolates of calcite-precipitating bacteria was also determined.

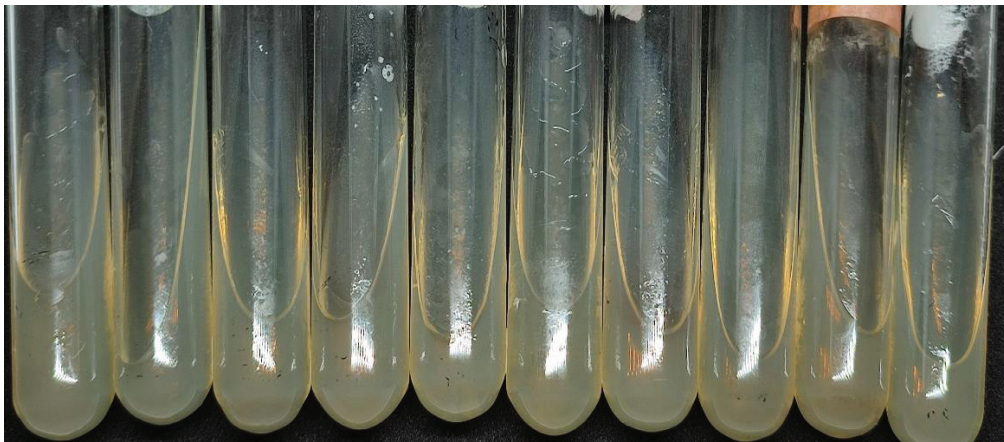
Table 1. Identification of colony morphology of calcite-precipitating bacteria.

No	Name and Code Isolate	Bacterial Colony	Morphological features
1.	<i>Bacillus subtilis</i> T.STTP.RGC		Medium colony size, circular shape, convex elevation, undulate margin, milky color, moist surface.
2.	<i>B. subtilis</i> PG 7 II.9		Medium colony size, circular shape, convex elevation, flat margin (entire), white-pink color, moist surface.
3.	<i>B. flexus</i> RK1-E2		Large colony size, irregular shape, flat elevation, lobed margin, white color, smooth surface.
4.	<i>B. cereus</i> KI-3		Medium colony size, circular shape, convex elevation, undulate margin, white color, smooth surface.
5.	<i>Bacillus</i> sp. BWS-1		Colony size is large, irregular shape, flat elevation, lobed margin, white color, wrinkled surface.

Precipitation of CaCO₃ from Calcite Precipitation Bacteria

The test for the precipitation of CaCO₃ from bacteria was carried out on liquid urea-CaCl₂ medium, with a composition per liter of medium consisting of 3 g nutrient broth, 20 g urea, 10 g

NH₄Cl, and 2.12 g NaHCO₃. Then the pH was adjusted to 6.0 and after the autoclave process, the medium was added with a sterile CaCl₂ source with a final concentration of 25.2 mM (Bang et al., 2010). Into 200 mL of urea-CaCl₂ medium, 1 ose of the test bacteria was inoculated, then the medium containing the bacteria was shaken at 200 rpm, 30 oC. Sampling was carried out periodically at incubation times of 2, 4, 6, and 8 days for pH measurement and CaCO₃ precipitation analysis using the standard EDTA titration method. Five isolates of superior calcite-precipitating bacteria that have been identified initially at the Microbiology Laboratory, Research Center for Biotechnology and Bioindustry Indonesia (PPBBI), PT Research Perkebunan Nusantara are mostly from the *Bacillus* genus. This pure culture was then maintained in an inclined agar medium in a test tube (Figure 3.1) for further testing of its ability to precipitate calcite in cement fractures modified according to the method [8].



Gambar 3.1. Bakteri potensial pengendap kalsit

Self-healing cracking

For self-healing cracking experiments, concrete specimens with a size of 10x10x10 cm were made. Then 3 cracks with a length of 5 cm, a depth of 10 cm, and a thickness of 1.5 mm using stainless steel sheets. It was replicated 3 times and as a control, specimens with normal conditions (without cracking) were used for 3 replications.

Preparation of bacterial culture was carried out with nutrient broth medium following the steps in Figure 2. Single culture bacteria were inoculated into 200 mL of NB medium, then shaken at 200 rpm, 30 oC for 72 hours. Furthermore, the bacterial cells were separated from the medium by centrifuging 9000 rpm, 15 minutes in cold conditions (4 oC) to prevent cell lysis during the centrifugation process. Pellets which are bacterial cell deposits were dissolved in sterile distilled water to obtain an optical density equivalent to a bacterial concentration of 1×10^8 CFU/mL.

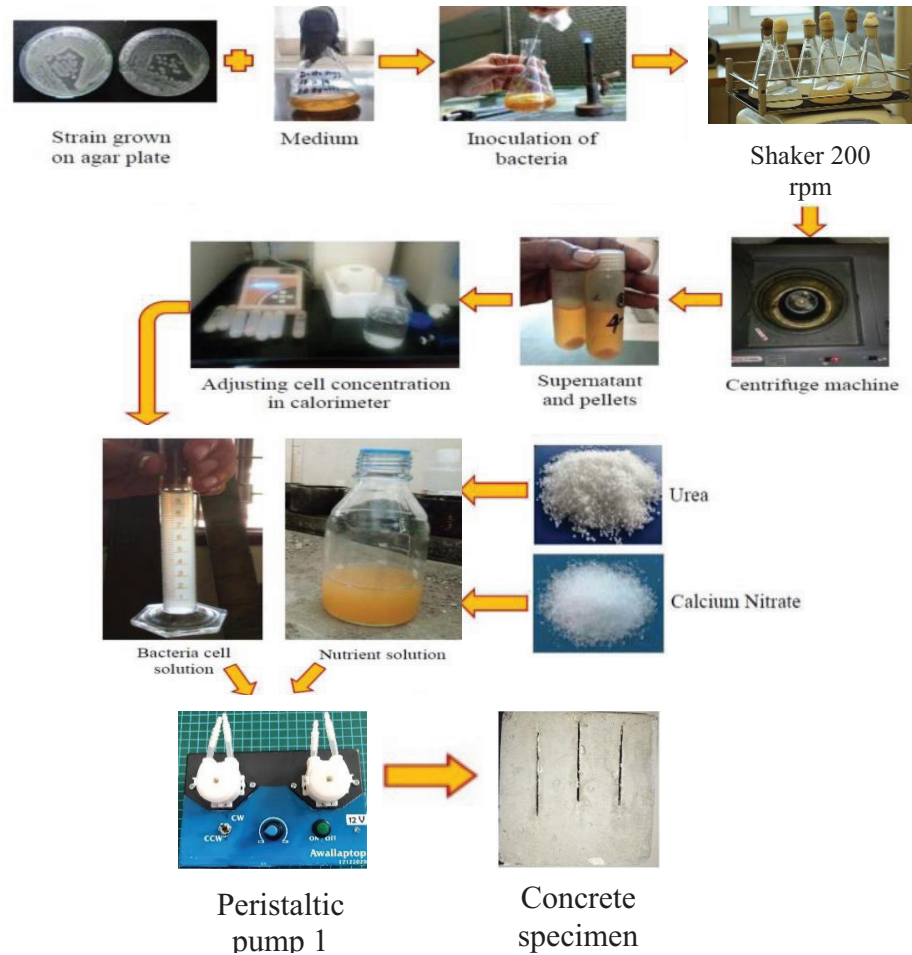


Figure 3.2. Self-healing cracking test procedure

Then the bacterial solution was mixed with gelling solution (calcium acetate and urea with a concentration of 0.5 M) with a ratio of 1:19, then the suspension mixture was injected with fractures at a speed of 1 mL/minute using a peristaltic pump, the total volume injected into each fracture was 30, 45, and 60 mL. The suspension mixture was added once daily for 9 days. Observation parameters can be seen from the physical changes that occur and the measurement of total ammonium nitrogen using the Nessler method [9].

The results of the efficacy of the selected bacteria on their ability to precipitate calcite in cement cracks will be analyzed by scanning electron microscopy and X-ray Diffractometer (XRD).



Figure 3. Bacterial culture that has been prepared for self-healing cracking test

4. Conclusion

1. Based on bacterial isolates that have prospects for further development, these are types of *Bacillus subtilis*.
2. The results of the efficacy of selected bacteria on their ability to deposit calcite in cracks
The modified cement will be analyzed through a scanning electron microscope and X-ray diffractometer (XRD).

5. References

Acknowledgement

Thank you to LPPM Pancasila University for the inhouse grant research program Number 7891/LPPM/UP/XII/2021

5. Reference

- [1] Gruyaert, E., D. Snoeck, K. H. Tittelboom, J. Wang, A. Mignon, J. Feiteria, A. G. De Aaraujo & Y. C. Ersan. 2015. Self-healing concrete by means of bacteria embedded in super absorbent polymers. Univ. Ghent. Belgium.
- [2] Ahn, T. H. & T. Kishi. 2010. Crack self-healing behavior of cementitious composites incorporating various mineral admixtures. J. Adv. Concrete Technol. Vol. 8 (2):171-186.
- [3] Schlangen, E., H. Jonkers, S. Qian & A. Garcia. 2010. Recent advances on self-healing of concrete. Fract. Mech. Conc. Conc Struct. Recet Adv. Fract. Mech. Conc. B. H. Oh et al (Eds). Seoul.
- [4] Williams, S. L., N. Sakib, M. J. Kirisits & R. D. Ferron. 2016. Flexural strength recovery induced by vegetative bacteria added mortar. ACI Mat. J. 113 (4):523-532.

- [5] Wei, S., H. Cui, Z. Jiang, H. Liu, H. He & N. Fang. 2015. Biomineralization processes of calcite induced by bacteria isolated from marine sediments. *Braz. J. Microbiol.*, 46(2):455-464.
- [6] Putra, H., H. Yasuhara, N. Kinoshita, D. Neupane & C. W. Lu. 2016. Effect of magnesium as substitute material in enzyme-mediated calcite precipitation for soil-improvement technique. *Frot. Bioeng. Biotechnol.* 4:37.
- [7] Wang, J., H. Soens, W. Vestraete & N. De Belie. 2013. Self-healing concrete by use of microencapsulated bacterial spores. *Cement & Conc. Res.* V 56:139-152pp.
- [8] Sun,X.,L. Miao, & R. Chen , 2019. Adding aluminum oxide to improve the repairing effect of cracks based on bio remediation.*J Adv.Con.Technol.*17:177-187
- [9] Ivanov, I.I., Frutos Rde, L., Manel, N., Yoshinaga, K., Rifkin, D.B., Sartor, R.B., Finlay, B.B., and Littman, D.R. (2008). Specific microbiota direct the differentiation of IL-17-producing T-help