

**IDENTIFIKASI DAN UJI RESISTENSI
LOGAM BERAT TIMBAL (Pb) PADA BAKTERI
YANG DIISOLASI DARI PERAIRAN PACIRAN LAMONGAN**

SKRIPSI



**UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A**

**Disusun Oleh:
AFIYATUL DAWAIYAH
H012160002**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL**

**SURABAYA
2020**

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama : Afiyatul Dawaiyah

NIM : H01216002

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2016

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul “IDENTIFIKASI DAN UJI RESISTENSI LOGAM BERAT TIMBAL (Pb) PADA BAKTERI YANG DIISOLASI DARI PERAIRAN PACIRAN LAMONGAN”. Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 6 Agustus 2020

Yang menyatakan,



(Afiyatul Dawaiyah)

NIM. H01216002

LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi oleh :

NAMA: Afiyatul Dawaiyah

NIM : H01216002

JUDUL: Identifikasi dan Uji Resistensi Logam Berat Timbal (Pb) Pada Bakteri
Yang Diisolasi Dari Perairan Paciran Lamongan

Telah diperiksa dan dan disetujui untuk diujikan :

Surabaya, 24 Juli 2020

Dosen Pembimbing I



Saiku Rokhim, M.KKK.
NIP. 198612212014031001

Dosen Pembimbing II



Hanik Faizah, S.Si., M.Si.
NUP. 201409019

PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Afiyatul Dawaiyah ini telah dipertahankan
di depan tim penguji skripsi
di Surabaya, 06 Agustus 2020

Mengesahkan,
Dewan Penguji

Penguji I



Saiku Rokhim, M.KKK.
NIP. 198612212014031001

Penguji II



Hanik Faizah, S.Si., M.Si.
NUP. 201409019

Penguji III



Saiful Bahri, M.Si.
NIP. 198804202018011002

Penguji IV



Atiqoh Zummah, M.Sc.
NIP. 199111112019032026

Mengetahui,

Plt. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Ampel Surabaya



Dr. Hj. Evi Fatmatur Rusydiyah, M.Ag.
NIP. 197312272005012003



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SURABAYA
PERPUSTAKAAN

Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300
E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : AFIYATUL DAWAIYAH
NIM : H01216002
Fakultas/Jurusan : SAINTEK/BIOLOGI
E-mail address : afiyatuldawaiyah17@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :

Sekripsi Tesis Desertasi Lain-lain
(.....)

yang berjudul :

IDENTIFIKASI DAN UJI RESISTENSI LOGAM BERAT (Pb) YANG
DIISOLASI DARI PERAIRAN PACIRAN LAMONGAN

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara *fulltext* untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 06 Agustus 2020

(Afiyatul Dawaiyah)

perairan sehingga tidak dapat berfungsi dengan baik (Hamuna *et al.*, 2018). Pencemaran di perairan dapat mengganggu ekosistem di dalamnya, merusak kehidupan biota dan sumber daya yang ada, bahkan dapat membahayakan kesehatan manusia (Ika *et al.*, 2012). Sering kali pencemaran terjadi di wilayah industri berkembang dan aktivitas penduduk yang padat. Pembangunan yang pesat pada suatu wilayah dapat mempengaruhi kondisi lingkungan dan menurunkan kualitas perairan. Terdapatnya pabrik industri, asap yang menyebabkan polusi, pembangunan perumahan atau gedung dan pestisida pertanian dapat menghasilkan bermacam jenis limbah yang mencemari lingkungan (Mastang, 2016).

Limbah yang ditimbulkan oleh pencemaran mempunyai bermacam jenis dan bentuk. Limbah yang paling beracun dan dapat merusak tatanan lingkungan hidup biasanya berasal dari zat-zat kimia. Salah satu jenis pencemaran dari zat kimia yaitu logam berat. Logam berat adalah salah satu zat pencemar yang bersifat racun pada ekosistem perairan dan kesehatan masyarakat. Logam berat tidak dapat terdegradasi secara kimia atau biologis sehingga sulit dihilangkan dari lingkungan. Logam berat dapat berasal dari pembuangan lumpur, limbah industri dan tambang (Kurnia *et al.*, 2015).

Logam berat yang mencemari perairan banyak jenisnya, seperti cadmium, timbal, kromium, tembaga, merkuri, uranium dan seng (El-naggar, 2009). Salah satu logam berat yang paling banyak terdapat di perairan dan paling berbahaya yaitu timbal (Pb). Dalam undang-undang No. 82 tahun 2001 pemerintah Republik Indonesia menyatakan bahwa air dikatakan tercemar jika kandungan logam timbal (Pb) lebih dari 0,03 mg/L. Timbal (Pb)

merupakan mineral yang termasuk dalam golongan mikroelemen dan bersifat toksik. Logam berat timbal (Pb) biasanya dimanfaatkan untuk bahan industri, hiasan dan peralatan rumah tangga (Angraeni, 2017). Pembuangan limbah ke perairan mengakibatkan dampak negatif bagi makhluk hidup di lingkungan sekitar. Logam timbal (Pb) dapat terakumulasi dalam tubuh makhluk hidup jika konsentrasi tinggi dan jangka waktu yang lama. Jalur masuk timbal ke dalam tubuh manusia melalui saluran pernafasan, pencernaan dan kulit (Usman *et al.*, 2013). Apabila Pb sudah masuk dalam perairan maka akan mengganggu sistem rantai makanan dan berpengaruh terhadap kehidupan organisme (Junopia, 2015).

Beberapa penelitian sudah dilakukan untuk menganalisis pencemaran logam berat timbal (Pb) pada beberapa wilayah perairan di Jawa Timur. Berdasarkan penelitian Woro (2011) di pesisir Kenjeran Surabaya memiliki kandungan logam berat Pb di air sebanyak 0,22 ppm dan pada sedimen 0,39 mg/kg. Pada penelitian Eshmat *et al.* (2014) di Perairan Ngemboh, Gresik, Jawa Timur memiliki kandungan logam berat rata-rata 0,055-0,3 ppm pada air dan rata-rata 1,175-2,023 ppm pada sedimen. Di Pantai Gesek Sedati Sidoarjo mempunyai kandungan logam berat Pb pada air rerata 0,60 ppm dan pada sedimen rerata 0,40 ppm (Novianto *et al.*, 2012).

Pencemaran logam berat di perairan semakin meningkat seiring dengan berkembangnya teknologi untuk mengurangi polutan. Salah satu metode alternatif yang dapat diaplikasikan yaitu bioremediasi. Bioremediasi adalah pemanfaatan mikroorganisme alami (seperti bakteri, jamur atau ragi) untuk mengurangi polutan di lingkungan atau menurunkan toksisitas dari berbagai

terhadap logam berat dapat melalui bioakumulasi dan/atau biosorpsi. Biosorpsi merupakan penyerapan logam, senyawa atau larutan yang tidak tergantung pada metabolisme (tidak membutuhkan energi). Biosorpsi disebut juga adsorpsi yaitu penyerapan hanya sampai dinding sel (Ratnawati *et al.*, 2010). Bioakumulasi (absorbs) adalah proses pengambilan logam secara aktif dengan menggunakan energi berdasarkan pengikatan dan transport aktif. Fase pengikatan terjadi di dinding sel dan transport aktif terjadi saat proses metabolisme sel (Mastang, 2016). Mekanisme resistensi bertujuan untuk mengatasi toksik logam berat agar fungsi biologis mikroorganisme tidak terganggu. Berdasarkan tempatnya mekanisme resistensi bakteri terhadap timbal dibagi menjadi ekstraseluler dan intraseluler. Mekanisme ekstraseluler timbal (Pb) dapat membentuk endapan polifosfat atau pengikatan dengan polisakarida pada dinding sel. Sedangkan mekanisme intraseluler timbal (Pb) mengalami pengendapan oleh polifosfat atau pengikatan dengan Pb oleh protein yang spesifik dan sistem Efflux (Jarosławiecka and Seget, 2014).

Kemampuan resistensi dan adaptasi bakteri terhadap logam berat didasarkan pada spesies dan kadar konsentrasi timbal yang terpapar (Mastang, 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Panuntun (2014), menyebutkan bahwa bakteri yang memiliki kemampuan resistensi terhadap timbal dari tanah bekas cetakan pengecoran logam di Klaten yaitu dari genus *Lactobacillus*, *Enterococcus* dan *Pseudomonas* dengan konsentrasi timbal 0,3 ppm. Berdasarkan penelitian sebelumnya terdapat beberapa bakteri yang memiliki kemampuan resistensi terhadap timbal diantaranya: *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Phenylobacterium*, *Enhydribacter*, *Morrococcus*,

Flavobacterium (Wulandari *et al.*, 2005), *Bacillus*, *Klebsellia*, *Staphylococcus*, *Proteus* (Nath *et al.*,2012).

Salah satu wilayah yang terdapat pencemaran logam berat yaitu di perairan Paciran Lamongan. Perairan Paciran merupakan salah satu wilayah pesisir yang terdapat disebelah utara kota Lamongan. Wilayah ini mempunyai potensi perikanan yang besar di Jawa Timur. Terdapat beberapa pelabuhan yang terdapat di Paciran, yaitu pelabuhan Brondong dan pelabuhan pasar Kranji yang merupakan Tempat Pelelangan Ikan (TPI) di Kabupaten Lamongan. Letak laut yang strategis menimbulkan dampak negatif yang tinggi karena aktivitas manusia yang dapat mempengaruhi kondisi perairan seperti, aktivitas TPI (Tempat Pendaratan Ikan), pengecetan kapal, perbaikan kapal, pengisian bahan bakar kapal, pemasukan limbah domestik yang lain dan masuknya bahan kimia seperti Pb. Berdasarkan penelitian Rismardhani (2017), di wilayah perairan Paciran Lamongan konsentrasi Pb yang terkandung dalam sedimen yaitu sekitar 0,091-0,322 ppm dan konsentrasi Pb dalam air yaitu sekitar 0,021-0,07 ppm.

Berdasarkan uraian di atas, pencemaran logam berat di perairan menimbulkan dampak negatif bagi ekosistem perairan dan kesehatan manusia. Untuk mengatasi pencemaran dapat diaplikasikan metode bioremediasi dengan memanfaatkan mikroorganisme yang diisolasi dari wilayah yang tercemar logam berat Pb, seperti di perairan Paciran Lamongan. Maka perlu dilakukan penelitian di wilayah tersebut agar didapatkan isolat bakteri resisten timbal (Pb) yang dapat berpotensi sebagai agen bioremediasi untuk mengurangi dampak negatif pada lingkungan yang tercemar timbal.

Agar dapat mengetahui sumber pencemar dan cara mengatasi dalam pengelolaan lingkungan, perlu diketahui komponen penyebab pencemaran air. Penyebab pencemaran air dapat berupa bahan buangan organik atau anorganik, bahan buangan padat atau cair, bahan kimia bahkan bahan buangan makanan. Bahan buangan padat adalah limbah padat yang sebagian terlarut, tidak terlarut bahkan dapat membentuk koloid. Bahan buangan anorganik biasanya berasal dari pabrik industri. Sedangkan bahan buangan organik dapat didegradasi oleh mikroorganisme tetapi dalam jangka waktu tertentu. Bahan buangan yang sering ditemukan di air laut maupun sungai merupakan zat tercemar yang berbahaya dan dapat merusak lingkungan (Situmorang, 2015).

2.3 Logam Berat

Umumnya logam berat dalam konsentrasi tinggi dapat mengakibatkan keracunan pada tumbuhan, hewan bahkan manusia, seperti logam Hg, Cd dan Pb yang termasuk zat pencemar berbahaya (Aminah and Nur, 2018). Beberapa jenis logam seperti logam esensial (tembaga (Cu), nikel (Ni), Zink (Zn), besi (Fe) dan Magnesium (Mg)) dibutuhkan oleh manusia meski jumlah sedikit, apabila kadar logam berat kurang atau lebih dapat berakibat fatal (Rohmah, 2017). Logam berat merupakan unsur kimia yang letaknya di sudut kanan sistem periodik, memiliki berat jenis $>5 \text{ g/cm}^3$, memiliki nomor atom 22 sampai 92 mulai periode 4-7 dan memiliki afinitas yang tinggi terhadap unsur S (Junopia, 2015).

Logam berat mempunyai beberapa sifat yaitu beracun, karsinogen, dapat tertimbun atau terakumulasi dalam tubuh organisme dan sulit terurai.

Timbal dapat ditemukan pada berbagai tempat seperti tanah, hewan, tumbuhan bahkan bebatuan. Timbal umumnya berbentuk garam organik, memiliki sekitar 95% sifat anorganik dan susah terlarut dalam air. Adanya curah hujan dan arus angin dapat mempengaruhi waktu keberadaan timbal (Tangio, 2013).

Logam berat timbal (Pb) biasanya dimanfaatkan oleh masyarakat dalam pembuatan kabel, baterai, campuran cat atau zat pewarna, pelapisan logam (penyepuhan), zat penyusun solder, komponen dalam pembentukan pipa agar air dalam rumah tangga terhubung dengan timbal (Pb) dan paling banyak dimanfaatkan sebagai antiletop pada bensin (Angraeni, 2017). Timbal memiliki beberapa sifat yang menyebabkan timbal dapat dimanfaatkan dalam berbagai hal, yaitu memiliki titik cair rendah yang apabila dimanfaatkan dalam bentuk cair cara yang dibutuhkan sederhana dan biaya murah, timbal dapat bercampur dengan logam yang lain dan mudah dibentuk karena termasuk logam bertekstur lunak, apabila berhubungan dengan udara lembab, sifat kimia yang terkandung dalam timbal mampu dijadikan lapisan pelindung apabila berhubungan dengan udara yang lembab, dan angka densitas yang dimiliki timbal lebih tinggi daripada logam yang lain (Rohmah, 2017). Logam berat yang terakumulasi dalam organisme akuatik atau sedimen akan bertambah seiring dengan berjalannya waktu dan konsentrasinya tergantung pada kondisi lingkungan perairan tersebut (Rizkiana *et al.*, 2017).

2.3.2 Pengaruh Timbal (Pb) terhadap lingkungan dan Makhluk hidup

Dalam undang-undang No. 82 tahun 2001 pemerintah Republik Indonesia menetapkan bahwa air dikatakan tercemar jika kandungan logam timbal (Pb) lebih dari 0,03 mg/L dan cadmium (Cd) lebih dari 0,01 mg/L (Happy *et al.*, 2012). Apabila kadar logam yang terkandung melebihi ambang batas yang sudah ditetapkan maka lingkungan perairan akan mengalami kerusakan, mengganggu kehidupan biota yang ada di perairan dan menyebabkan toksisitas pada hewan, tumbuhan bahkan manusia disekitar wilayah perairan tersebut. Timbal dapat membahayakan kehidupan karena mempunyai respon biologi terhadap makhluk hidup (Wulandari dkk., 2018). Mekanisme timbal masuk dalam perairan yaitu pengkristalan dibantu oleh air hujan dan adanya proses pengikisan dari batuan mineral karena terkena hampasan angin dan gelombang (Palar, 2008). Logam yang terakumulasi dalam sedimen dan air akan mengganggu sistem rantai makanan dan berdampak negatif bagi kehidupan organisme air (Junopia, 2015).

Logam berat timbal mempunyai konsentrasi rerata global di perairan sekitar 1,0-10 µgPb/L (Awalina, 2011). Jika konsentrasi Pb tinggi akan membunuh biota perairan. Seperti ikan dapat terbunuh apabila kadar Pb melebihi 188 mg/L. Dari penelitian yang sudah dilakukan menyatakan bahwa organisme perairan seperti Crustacea akan mati setelah 245 jam terpapar Pb dengan kadar 2,75-49 mg/L. Beberapa biota yang lain memiliki waktu yang lebih lama untuk

bertahan hidup yaitu antara 168 hingga 336 jam dengan konsentrasi Pb 3,5 sampai 64 mg/l, seperti kelompok Insecta (Mastang, 2016).

Jalur masuk timbal ke dalam tubuh manusia melalui pencernaan, kulit dan saluran pernafasan. Timbal masuk melalui saluran pencernaan bersumber dari asupan makanan atau minuman dan akan ikut dalam proses metabolisme tubuh. Makanan yang kadar timbalnya mencapai 100 mg akan mengikat timbal pada darah sebesar 60-180 ppb. Air minum yang mengandung senyawa timbal dapat ditemukan apabila air minum disimpan atau dialirkan melalui pipa yang berasal dari timbal (Aminah dan Nur, 2018). Masuknya logam berat timbal melalui kulit terjadi karena terlarut dalam minyak dan lemak. Sedangkan pada saluran pernafasan timbal akan terhirup oleh organ pernafasan kemudian terserap dalam tubuh kemudian akan terikat dalam darah paru-paru dan diedarkan ke semua bagian tubuh (Junopia, 2015).

Timbal yang sudah masuk dan terikat dalam tubuh pada jangka waktu yang lama dan kadarnya tinggi akan berdampak negatif bagi kesehatan manusia. Logam berat timbal (Pb) dapat bertindak sebagai mutagen, allergen atau karsinogen bagi manusia. Efek yang ditimbulkan akibat terpapar logam berat timbal (Pb) terhadap organ tubuh yaitu:

- a. Sistem hemopoetik, apabila timbal sudah meracuni sistem ini akan menyebabkan anemia karena proses pembentukan hemoglobin terhambat.

tercemar. Metode ini dapat dilakukan dengan cara bioaugmentasi dan/atau biostimulasi. Bioaugmentasi dilakukan dengan menambahkan mikroorganisme pengurai pengurai untuk melengkapi populasi mikroba yang sudah ada. Biostimulasi dilakukan dengan menambahkan zat gizi atau nutrisi yang dibutuhkan atau menstimulus kondisi lingkungan agar mikroorganisme dapat tumbuh optimum (Jekti, 2018). Sedangkan bioremediasi *ex situ* merupakan metode dengan mengaplikasikan mikroorganisme pada air atau tanah yang tercemar yang sudah dipindahkan dari tempat asalnya (Rohmah, 2017).

Bakteri yang telah diisolasi di wilayah yang tercemar logam berat timbal memiliki daya resistensi terhadap logam berat timbal yang terdapat disekitar wilayah yang tercemar dan mempunyai kemampuan adaptasi genetik. Resistensi bakteri terhadap logam berat timbal dapat dilakukan melalui mekanisme biosorpsi dan/atau bioakumulasi (Fahrudin *et al.*, 2019).

Biosorpsi merupakan penyerapan logam, senyawa atau larutan yang tidak tergantung pada metabolisme (tidak membutuhkan energi). Terjadinya biosorpsi logam tidak menggunakan enzim seperti adsorpsi. Adsorpsi merupakan pengikatan yang tidak spesifik pada protein ekstraseluler dan permukaan dinding sel. Terjadinya biosorpsi karena adanya biosorben (material biologis) dan larutan yang terkandung logam berat dengan afinitas tinggi sehingga sangat mudah berikatan dengan biosorben (Ratnawati *et al.*, 2010).

teichuronat (Jarosławiecka and Seget, 2014). Terdapat beberapa mikroorganisme yang mensintesis polimer ekstraseluler (EPs) dan mengikat kation dari logam beracun, sehingga komponen sel tetap terjaga dari toksisitas logam berat. Pengikatan Pb oleh polimer ekstraseluler dapat terjadi karena mempunyai muatan negatif, seperti fosforil (PO_4^{3-}), sulfidril (-SH), karboksil yang nantinya akan bereaksi dengan ion logam Pb yang memiliki muatan positif (Rohmah, 2017).

Pada mekanisme intraseluler timbal (Pb) mengalami pengendapan oleh polifosfat atau pengikatan Pb oleh protein yang spesifik dan sistem Efflux (Jarosławiecka and Seget, 2014). Pb yang mengalami pengendapan intraseluler akan dikatalis oleh enzim fosfatase yang nantinya fosfat inorganik akan dilepaskan (Naik and Dubey, 2013). Mekanisme yang kedua yaitu pengikatan Pb oleh protein yang spesifik yaitu protein Metallothioneins (MTs). Metallothioneins (MTs) merupakan protein yang berperan penting dalam melindungi sel terhadap logam yang beracun (Naik and Dubey, 2013). Apabila Pb tidak mengalami pengendapan atau pengikatan oleh protein Metallothioneins (MTs), maka Pb akan mengalami sistem Efflux. Sistem efflux Pb terjadi melalui perantara superfamili P-type ATPases dari family $\text{P}_{1\text{B}}$. Selain itu terdapat juga transpoter dari family CBA dan CBA. CBA mempunyai tugas untuk mengeluarkan Pb dari dalam sel, sedangkan CDF adalah pengangkut yang mengangkut ion dari sitoplasma dibawa menuju periplasma (Rohmah, 2017).

- b. Tepi koloni, dengan mengamati dilihat dari atas cawan petri:
entire (utuh), *serrate* (bergerigi), *filamentus* (benang),
undulate (keriting), *lobate* (berombak).
- c. Bentuk koloni: seperti benang (*filamentus*), seperti akar (*rhizoid*), bulat (*circulair*), tidak beraturan (*irregular*), seperti kumparan (*spindle*).
- d. Struktur koloni: halus mengkilat, berkerut, kasar.
- e. Ukuran koloni
- f. Elevasi (permukaan koloni) dengan melihat dari samping: rata (*flat*), timbul-melengkung (*convex*), timbul datar (*raised*), membukit (*umboonate*) (Dwijoseputro, 1989).

2. Pengamatan Mikroskopis

Pengamatan mikroskopis bertujuan untuk mengetahui bentuk sel ukuran sel dan sifat bakteri. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan gram. Pewarnaan gram bertujuan untuk membedakan gram positif dan gram negatif dengan memberikan zat warna pada mikroorganisme. Sebelum diwarnai, mikroorganisme difiksasi terlebih dahulu agar melekat pada kaca objek dan mempertahankan jaringan. Kemudian mikroorganisme diberikan pewarna kristal violet (pewarna utama), larutan yodium, alkohol (peluruh) dan safranin (pewarna pembanding). Apabila gram positif maka mikroorganisme akan berwarna ungu karena mempertahankan zat warna kristal violet. Sedangkan gram negatif mikroorganisme tampak berwarna merah karena warna kristal

Uji ini berguna untuk mengetahui bakteri yang mampu memfermentasi gula menggunakan media beberapa gula seperti: manitol, laktosa, glukosa dan sukrosa. Media gula tersebut dicampurkan dalam pepton 1% dengan ditetesi indikator *phenol red*. Apabila warna berubah dari merah menjadi kuning maka hasil uji tersebut positif, sedangkan apabila hasil uji negatif tidak terjadi perubahan warna (Rohmah, 2017).

7. Uji katalase

Uji katalase digunakan untuk mengetahui jenis bakteri yang mampu menghasilkan enzim katalase. Uji ini dilakukan dengan meneteskan hidrogen peroksida (H_2O_2) pada gelas objek. Apabila hasil uji positif maka akan terbentuk gelembung-gelembung udara (Rohmah, 2017).

8. Uji sitrat

Uji sitrat ini digunakan untuk melihat apakah mikroorganisme menggunakan sitrat sebagai sumber energi. Media yang digunakan yaitu *Simon citrate*. Terdapat indikator *Brom Tynol Blue* (BTB) dalam media simons sitrat. Hasil positif ditandai dengan berubahnya warna media menjadi basa yaitu biru. Sedangkan hasil negatif ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna media. Artinya, mikroorganisme tersebut tidak menggunakan sitrat sebagai sumber energi (Rohmah, 2017).

Sampel sedimen dan air diambil dari perairan Paciran Lamongan dengan 2 titik yang berbeda. Sampel diambil menggunakan metode *purposive sampling* (titik sampling yang diduga terdapat kandungan logam berat timbal). Sampel air diambil menggunakan botol sampel *polyethylene* pada permukaan air laut. Sampel sedimen diambil menggunakan *grab sampler* dan dimasukkan ke dalam plastik. Selanjutnya sampel air dan sedimen disimpan dalam *coll box* dan dibawa ke laboratorium untuk diidentifikasi. Setiap titik lokasi pengambilan diukur pH menggunakan pH meter dan suhu menggunakan termometer.

3.6.2 Pembuatan Media Isolasi

Media NA ditimbang sebanyak 6 gr, dimasukkan gelas beker dan ditambahkan aquades sebanyak 300 liter. Lalu dimasak diatas *hot plate* sampai mendidih dan dihomogenkan menggunakan pengaduk. Kemudian erlenmeyer yang berisi media ditutup dengan aluminium foil dan kapas. Media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah disterilisasi, media dituangkan pada masing-masing cawan petri sebanyak 25 ml.

3.6.3 Isolasi dan Pemurnian Bakteri

Proses isolasi diawali dengan diambil sampel air sebanyak 1 ml dan diencerkan menggunakan aquades. Pada sampel sedimen ditimbang sebanyak 5 gr dan diencerkan dengan aquades 45 ml, kemudian dihomogenkan. Pengenceran sampel air dan sedimen dilakukan secara bertingkat dari pengenceran 10^{-4} sampai 10^{-6} . Tujuan dari pengenceran

bertingkat yaitu memperkecil jumlah mikroba yang terdapat dalam sampel. Pengenceran dilakukan dengan cara diambil 1 ml sampel dari pengenceran 10^{-4} dan ditambahkan dalam tabung reaksi yang sudah berisi aquades 9 ml, dilakukan berulang kali sampai pengenceran 10^{-6} (Junopia, 2015). Masing-masing isolat dari pengenceran 10^{-4} sampai 10^{-6} diinokulasikan menggunakan metode *spread plate* pada media NA yang sudah ditambahkan $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 10 ppm. Inkubasi dilakukan selama 24-48 jam pada suhu 37°C dan diamati koloni yang tumbuh pada setiap cawan petri (Rohmah, 2017).

Pemurnian dilakukan dengan mengambil koloni yang tumbuh menyendiri menggunakan ose kemudian diinokulasikan pada media NA dengan metode *streak plate*. Inkubasi dilakukan selama 24-48 jam dengan posisi cawan terbalik. Proses inokulasi dilakukan berulang-ulang sampai didapatkan isolate bakteri yang murni.

3.6.4 Pembuatan Suspensi Bakteri

Media NB ditimbang sebanyak 2,16 gr dan dilarutkan dalam 270 liter aquades, media dimasak di atas *hot plate* dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian media NB dituang pada botol steril masing-masing sebanyak 30 ml.

Isolat bakteri yang berumur 24 jam diinokulasikan pada media *Nutrient Broth* dan diinkubasi selama 48 jam menggunakan shaker dengan kecepatan 100. Setelah inkubasi, suspensi bakteri sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam kuvet untuk mengetahui tingkat kepadatan

Berdasarkan penelitian menunjukkan bahwa lokasi pengambilan sampel mempunyai kadar pada lokasi 1 sampel air 0,28 mg/L sedangkan pada sedimen 2,11 mg/L. Pada lokasi 2 kandungan Pb dalam sampel air 0,16 mg/L dan sampel sedimen 1,93 mg/L. Dalam Undang-Undang No. 82 tahun 2001 pemerintah Republik Indonesia menyatakan bahwa ambang batas kadar Pb dalam air yaitu 0,03 mg/L. Sehingga dari data yang diperoleh perairan Paciran Lamongan dapat dikatakan tercemar, karena kadar Pb sudah melampaui batas yang ditentukan. Hal ini disebabkan kondisi lingkungan sekitar perairan Paciran Lamongan yang dipenuhi aktivitas kapal (pembersihan kapal, pengelasan kapal, pengecatan sampai pengisian bahan bakar minyak). Menurut Rizkiana *et al.* (2017) penggunaan cat kapal yang mengandung Pb lebih efisien digunakan karena cat cepat kering dan mencegah permukaan kapal mengalami pengkaratan. Selain itu, kegiatan manusia di sekitar lokasi perairan secara tidak langsung juga mempengaruhi pencemaran timbal.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar logam berat Pb pada sedimen lebih tinggi daripada di air. Menurut Bangun (2005), hal ini disebabkan karena logam berat memiliki sifat mudah mengikat bahan anorganik yang kemudian mengendap pada dasar perairan dan bercampur dengan sedimen. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Rizkiana *et al.* (2017) bahwa kandungan logam berat pada air akan berubah setiap saat tergantung pada kondisi perairan, tetapi pada sedimen logam berat cenderung akan mengendap relatif lama.

Dari hasil penelitian masing-masing titik sampling mempunyai kadar Pb yang berbeda-beda. Pada titik 1 sampel air dan sedimen mempunyai kadar Pb

masing-masing 0,28 mg/L dan 2,11 mg/L pada titik 2 mempunyai kadar Pb pada sampel air dan sedimen masing-masing 0,16 mg/L dan 1,93 mg/L. Kadar Pb pada titik 1 lebih tinggi daripada titik 2. Titik 1 lokasinya berada di tepi laut yang dekat sama aktivitas kapal dan kegiatan manusia sekitar perairan. Selain itu, masyarakat lebih banyak membuang limbah ke perairan pada tepi laut (titik 1). Sedangkan pada titik 2 lebih jauh dengan kegiatan manusia. Faktor suhu, pH dan salinitas juga mempengaruhi kadar Pb pada setiap titik lokasi.

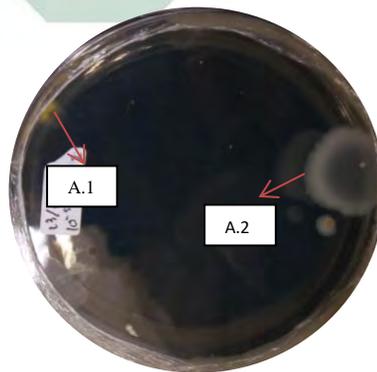
Hasil pengukuran suhu yaitu lokasi 1 sebesar 28°C dan lokasi 2 sebesar 27°C. Hal ini menunjukkan pada titik lokasi 1 suhu lebih tinggi dari pada titik lokasi 2. Pada titik 1 mempunyai kadar Pb lebih tinggi daripada titik 2 karena mempunyai suhu lebih tinggi. Menurut Rohmah (2017) semakin tinggi suhu pada suatu lokasi maka kadar Pb juga tinggi. Menurut Happy *et al.* (2012), suhu merupakan batas toleransi organisme dalam mengalami pertumbuhan hidup. Suhu juga mempengaruhi kelarutan logam, suhu yang mengalami kenaikan yang lebih dingin maka logam dengan mudah mengendap pada sedimen. Sedangkan suhu yang tinggi akan mengakibatkan logam larut di air. Menurut Pelczar and Chan (2008) berdasarkan suhu bakteri dapat dibagi menjadi bakteri psikrofilik, mesofilik dan termofilik. Bakteri psikrofilik mampu bertahan hidup pada suhu 15°C, bakteri mesofilik dapat bertahan hidup pada suhu 25-40°C, dan bakteri termofilik dapat bertahan hidup pada suhu tinggi yaitu 40-50°C.

Hasil pengukuran nilai pH pada titik 1 sebesar 8,3 dan pada titik 2 sebesar 8,0. Setiap mikroorganisme mempunyai batas toleransi maksimal dan minimum nilai pH, oleh sebab itu pH dapat dijadikan sebagai faktor pembatas. Berdasarkan

penelitian yang dilakukan oleh Desriyani *et al.* (2015), apabila nilai pH rendah maka kelarutan logam timbal juga semakin tinggi dan toksisitas logam berat semakin besar. Hasil pengukuran salinitas lokasi 1 yaitu 3,43% dan lokasi 2 3,40%. Parameter salinitas juga mempengaruhi kadar logam berat timbal. Apabila salinitasnya tinggi maka kadar logam berat timbal semakin rendah.

4.2 Isolasi dan Purifikasi Bakteri

Pengambilan sampel dilakukan pada 2 stasiun yang berbeda, yang didalamnya terkandung logam berat Pb. Pada penelitian ini metode isolasi yang digunakan yaitu metode agar tuang dan dilanjutkan metode cawan gores. Penggunaan metode ini bertujuan untuk menumbuhkan bakteri pada cawan petri yang sudah berisi media padat. Media yang digunakan yaitu media NA (*Nutrient Agar*) yang merupakan media umum untuk pertumbuhan bakteri. Agar bakteri yang tumbuh hanya resisten Pb maka media NA ditambahkan dengan Pb dengan konsentrasi 10 ppm. Dari hasil isolasi didapatkan beberapa bakteri yang tahan terhadap logam berat Pb dengan karakteristik yang berbeda-beda (Gambar 4.1).



Gambar 4.1. hasil pengenceran 10^{-5} sampel air pada titik 2;

Keterangan: A.1: koloni tunggal berwarna kuning,

A.2: koloni tunggal berwarna putih

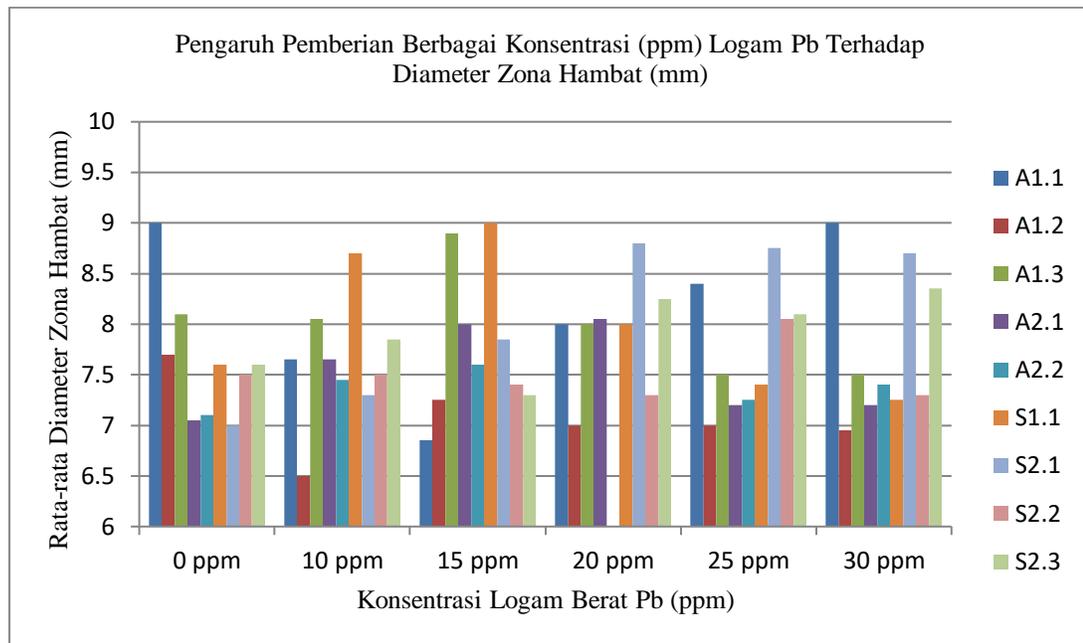
Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2020)

Adapun beberapa isolat bakteri dari proses isolasi dan purifikasi masing-masing diberi kode sesuai dengan titik lokasi pengambilan dan kode saat dimurnikan. Berdasarkan penelitian didapatkan 9 isolat bakteri dari 2 titik lokasi yang berbeda, Pada stasiun 1, sampel air didapatkan 3 isolat dengan kode A1.1, A1.2 dan A1.3. Sedangkan pada sampel sedimen didapatkan 1 isolat bakteri dengan kode S1.1. Pada stasiun 2, sampel air didapatkan 2 isolat bakteri dengan kode A2.1 dan A2.2. Sedangkan pada sampel sedimen didapatkan 3 isolat bakteri dengan kode S2.1, S2.2 dan S2.3.

4.3 Uji Resistensi Bakteri Terhadap Logam Berat Pb

Uji resistensi dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mempertahankan hidupnya pada media yang mengandung timbal (Pb). Pemiakan bakteri pada uji ini menggunakan media NB (*Nutrient Broth*). Media NB merupakan medium cair yang mengandung *beef extract* dan pepton. Medium cair digunakan karena lebih efektif dalam memproduksi biomassa dan senyawa bioaktif. Hal ini disebabkan adanya proses agitasi sehingga nutrisi dalam media terus homogen dan bakteri lebih optimal dalam menyerap nutrisi (Pratiwi, 2015).

Pada penelitian ini, metode yang digunakan untuk uji resistensi bakteri terhadap logam berat Pb, yaitu metode *disk diffusion* dengan variasi konsentrasi Pb 0 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm dan 30 ppm. Metode *disk diffusion* merupakan metode untuk menguji daya hambat dengan meletakkan *paper disk* dalam media MHA (*Muller Hinton Agar*) yang sudah berisi bakteri. Media MHA digunakan karena merupakan media terbaik untuk uji sensibilitas bakteri. Media



Gambar 4.3 Pengaruh pemberian berbagai konsentrasi (ppm) logam Pb terhadap diameter zona hambat
Keterangan: Nilai rata-rata diameter zona hambat sudah termasuk diameter *paper disk* (6 mm)

Pada gambar 4.3 menunjukkan adanya perbedaan ukuran zona hambat pada masing-masing isolat terhadap berbagai konsentrasi logam Pb. Dari gambar 4.3 dapat dilihat bahwa isolat A1.2 mempunyai ukuran diameter zona hambat terkecil pada konsentrasi 10 ppm, 25 ppm, dan 30 ppm dengan diameter zona hambat masing-masing 6,5 mm, 7,0 mm dan 6,95 mm. Pada konsentrasi 0 ppm isolat S2.1 mempunyai zona hambat terkecil yaitu 7.0 mm. Pada konsentrasi 15 ppm isolat A1.1 dengan zona hambat terkecil yaitu 6.85 mm. Pada konsentrasi 20 ppm isolat A2.2 menunjukkan resisten yang paling baik karena tidak membentuk zona hambat. Menurut Perdana (2012) perbedaan ukuran zona hambat disebabkan masing-masing bakteri mempunyai respon yang berbeda

terhadap konsentrasi Pb. Selain itu, habitat asal bakteri juga berpengaruh pada respon yang diberikan.

Gambar 4.3 juga menunjukkan bahwa besarnya zona hambat tidak berbanding lurus dengan konsentrasi Pb yang diberikan. Isolat A2.2 menghasilkan zona hambat pada konsentrasi 0 ppm, 10 ppm dan 15 ppm, tetapi pada konsentrasi 20 ppm tidak ditemukan zona hambat dan kembali terbentuk zona hambat pada konsentrasi 25 ppm dan 30 ppm. Hal ini sesuai dengan penelitian Perdana (2012), yang menyatakan bahwa isolat SA2A1 mempunyai ukuran zona hambat yang tidak selalu bertambah besar ketika konsentrasi Pb yang diberikan tinggi. Pada konsentrasi 1 ppm terbentuk zona hambat, tetapi tidak muncul pada konsentrasi 5 ppm dan kembali terbentuk zona hambat pada konsentrasi 10 ppm. Selain itu, pada penelitian Husain and Muchtar (2005), menunjukkan bahwa pada isolat B tidak terbentuk zona hambat pada konsentrasi Pb 0,02 ppm, tetapi terbentuk zona hambat pada konsentrasi 0,05 ppm, dan tidak terbentuk kembali pada konsentrasi 0,5 ppm dan 1 ppm. Menurut Imamuddin (2011) hal ini dikarenakan luasnya zona hambat yang terbentuk menunjukkan adanya kecepatan zat toksik yang berdifusi dalam medium. Konsentrasi zat yang tinggi akan menghasilkan larutan yang pekat. Larutan yang pekat akan lebih sulit melakukan difusi daripada larutan yang encer.

Semakin kecil zona hambat yang terbentuk maka semakin tinggi daya resistensi bakteri terhadap logam Pb. Jika zona hambat yang terbentuk semakin luas, maka bakteri tersebut rentan terhadap Pb (Imamuddin, 2011). Dari data yang diperoleh daya resistensi masing-masing isolat bakteri berbeda. Isolat A1.2

mempunyai tingkat resistensi paling tinggi daripada isolat yang lain, karena mempunyai zona hambat terkecil pada 3 konsentrasi dan zona hambat yang terbentuk tidak lebih dari 1 mm. Menurut Sabdono (2009), apabila zona hambat yang terbentuk kurang dari 1 mm isolat tersebut tergolong resisten tinggi, sedangkan apabila melebihi dari 1 mm tergolong resisten lemah. Daya resistensi masing-masing bakteri menunjukkan batas toleransi terhadap Pb. Toleransi tersebut karena adanya mekanisme resistensi.

Resistensi masing-masing bakteri diatur oleh transposon, kromosomal, dan plasmid. Resistensi bakteri terhadap logam berat Pb terjadi melalui mekanisme ekstraseluler dan intraseluler. Mekanisme ekstraseluler berfungsi untuk melindungi atau menghambat Pb agar tidak masuk dan mengganggu fungsi biologis mikroorganisme. Pada mekanisme ekstraseluler, untuk mengurangi sifat toksiknya timbal (Pb) akan mengendap menjadi polifosfat (Jarosławiecka and Seget, 2014). Pengendapan ini terjadi karena Pb (II) mampu bereaksi dengan fosfat, klorida dan ion hidroksil. (Rohmah, 2017). Selain dengan pengendapan, Pb (II) juga dapat membentuk ikatan dengan polisakarida atau polimer alami yang terdapat pada dinding sel. Dinding sel merupakan penghalang alami untuk Pb, karena terdapat gugus fungsional makromolekul terlibat dalam prosen pengikatan Pb (Jarosławiecka and Seget, 2014). Terdapat juga beberapa mikroorganisme yang mensintesis polimer ekstraseluler (EPs) yang mengikat kation dari logam beracun, sehingga dapat menjaga komponen sel dari sensitivitas logam berat. Polimer ekstraseluler dapat mengikat Pb karena

mempunyai gugus bermuatan negatif yang akan bereaksi dengan ion logam Pb yang memiliki muatan positif (Rohmah, 2017).

Pada mekanisme intraseluler timbal (Pb) mengalami pengendapan oleh polifosfat atau pengikatan Pb oleh protein yang spesifik dan sistem Efflux (Jarosławiecka and Seget, 2014). Pb yang mengalami pengendapan intraseluler yang dikatalis oleh enzim fosfatase yang akan melepaskan fosfat inorganik (Naik and Dubey, 2013). Mekanisme yang kedua yaitu pengikatan Pb oleh protein yang spesifik yaitu protein Metallothioneins (MTs) (Naik and Dubey, 2013). Apabila Pb tidak mengalami pengendapan atau pengikatan oleh protein Metallothioneins (MTs), maka Pb akan mengalami sistem Efflux (Rohmah, 2017). Dapat disimpulkan bahwa adanya perbedaan daya resistensi disebabkan mekanisme resistensi pada masing-masing bakteri terhadap Pb berbeda. Beberapa bakteri mengalami mekanisme resistensi hanya pada permukaan sel bakteri (ekstraseluler) dengan pengendapan polifosfat, membentuk ikatan dengan polisakarida atau polimer alami pada dinding sel dan dapat mensintesis polimer ekstraseluler (EPs). Dan beberapa bakteri mampu menembus sampai mekanisme intraseluler dengan pengendapan intraseluler, pengikatan dengan protein MTs dan sistem efflux.

Pada penelitian yang telah dilakukan terjadi kesalahan pada konsentrasi 0 yang seharusnya tidak muncul zona bening. Karena konsentrasi 0 ppm digunakan aquades steril dan bertindak sebagai kontrol. Dari beberapa penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya, aquades steril sebagai kontrol tidak membentuk zona bening. Menurut Sabdono (2009), hal ini terjadi karena ada

faktor internal atau teknis yang tidak terlihat dalam mikroorganismenya sehingga berpengaruh pada hasil yang uji didapatkan. Menurut Prayoga (2013), penggunaan metode difusi juga berpengaruh pada hasil uji. Zona bening yang terbentuk dengan metode difusi dipengaruhi oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi, preinkubasi dan ketebalan medium. Apabila salah satu faktor tidak sesuai maka hasil uji akan sulit diinterpretasikan.

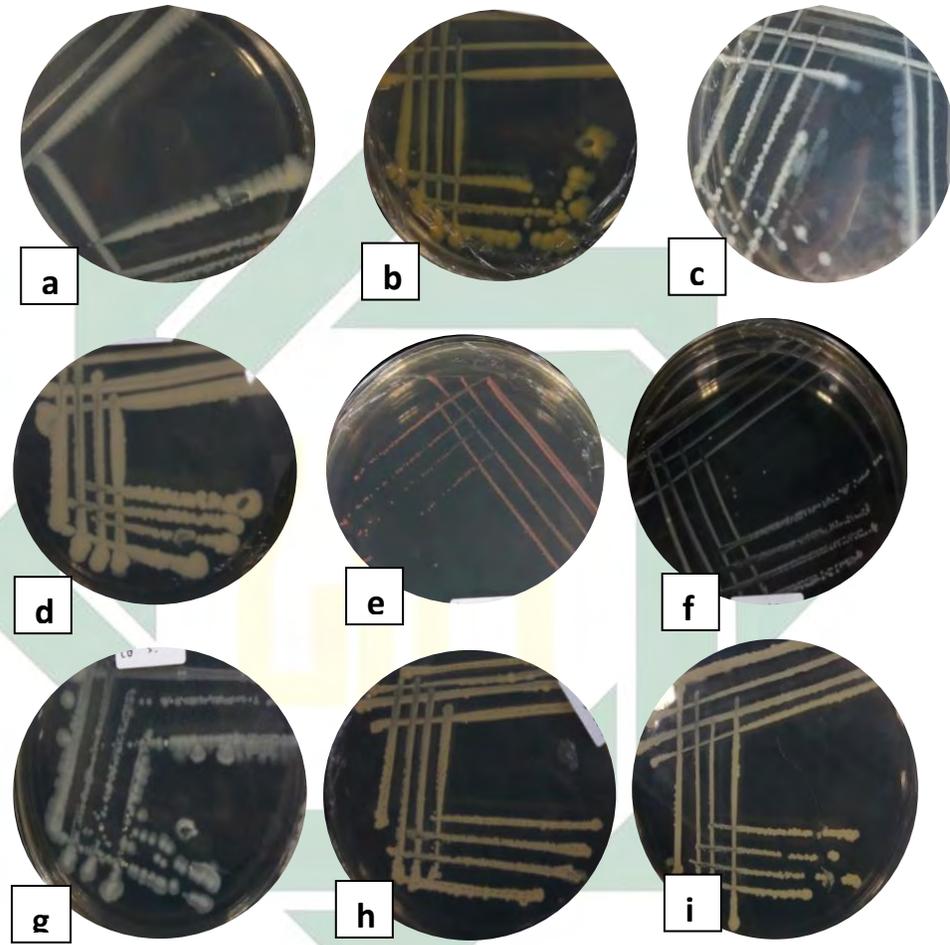
4.4 Identifikasi Bakteri Resisten Timbal (Pb) dari Perairan Paciran Lamongan

Identifikasi bakteri dilakukan untuk mengetahui jenis bakteri yang didapatkan. Dari hasil isolasi didapatkan 9 isolat bakteri yang mempunyai karakteristik yang berbeda. Untuk mengidentifikasi jenis bakteri maka dilakukan pengamatan secara makroskopis, mikroskopis dengan pewarnaan gram dan uji biokimia.

4.4.1 Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Secara Makroskopis

Morfologi koloni secara makroskopis dapat dilihat dari bentuk, warna, tepi dan permukaan koloni bakteri pada cawan petri. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa koloni bakteri yang didapatkan mempunyai warna, bentuk, tepi dan permukaan yang berbeda-beda.. Isolat A1.1 mempunyai koloni berbentuk bulat dan berwarna putih keruh. Isolat A1.2 bentuk koloninya bulat dan berwarna kuning, isolat A1.3, S1.1 dan S2,1 koloni berbentuk bulat, berwarna putih dengan permukaan datar. Isolat A2.2 berwarna merah muda dengan permukaan datar. Isolat S2.2 dan S2.3 berwarna kekuningan, tepi irregular dan permukaan datar. Hasil

pengamatan morfologi koloni dapat dilihat pada gambar 4.4 sebagai berikut:



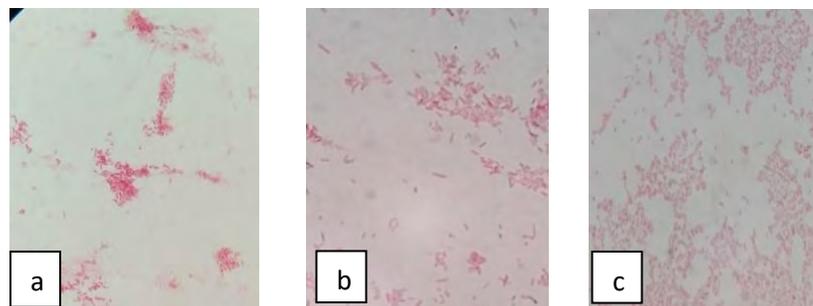
Gambar 4.4 Hasil pengamatan morfologi bakteri secara makroskopis
 Keterangan: a) isolat A1.1 b) isolat A1.2 c) isolat A1.3 d) isolat A2.1 e) isolat A2.2
 f) isolat S1.1 g) isolat S2.1 h) isolat S2.2 i) Isolat S2.3
 Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2020)

4.4.2 Pengamatan Morfologi Bakteri Secara Mikroskopis

Pewarnaan gram dilakukan untuk membedakan kelompok gram negatif dan gram positif. Pada pewarnaan gram isolat bakteri yang termasuk gram positif akan berwarna ungu. Hal ini disebabkan bakteri

tetap mempertahankan warna kristal violet meskipun sudah diberi alkohol. Sedangkan isolat bakteri yang termasuk gram negatif akan berwarna merah karena warna kristal violet larut ketika diberi alkohol dan warna merah berasal dari safranin. Perbedaan warna yang dihasilkan karena struktur dinding sel kedua jenis bakteri tersebut berbeda.

Menurut Lay (1994), bakteri gram positif mempunyai peptidoglikan yang tebal sehingga zat warna kristal violet dapat dipertahankan ketika pewarnaan tidak larut walaupun diberi alkohol. Pada bakteri gram negatif mempunyai kandungan lipid yang tinggi. Lipid akan larut oleh larutan alkohol, sehingga pada pewarnaan kristal violet akan hilang ketika diberi alkohol dan mengambil warna merah dari safranin. Selain untuk mengetahui perbedaan warna pewarnaan gram juga digunakan untuk mengamati bentuk sel bakteri. Berdasarkan bentuk selnya, bakteri dibedakan menjadi tiga bentuk yaitu bulat, batang dan spiral. Hasil uji pewarnaan gram dan bentuk sel bakteri dapat dilihat pada gambar 4.5.

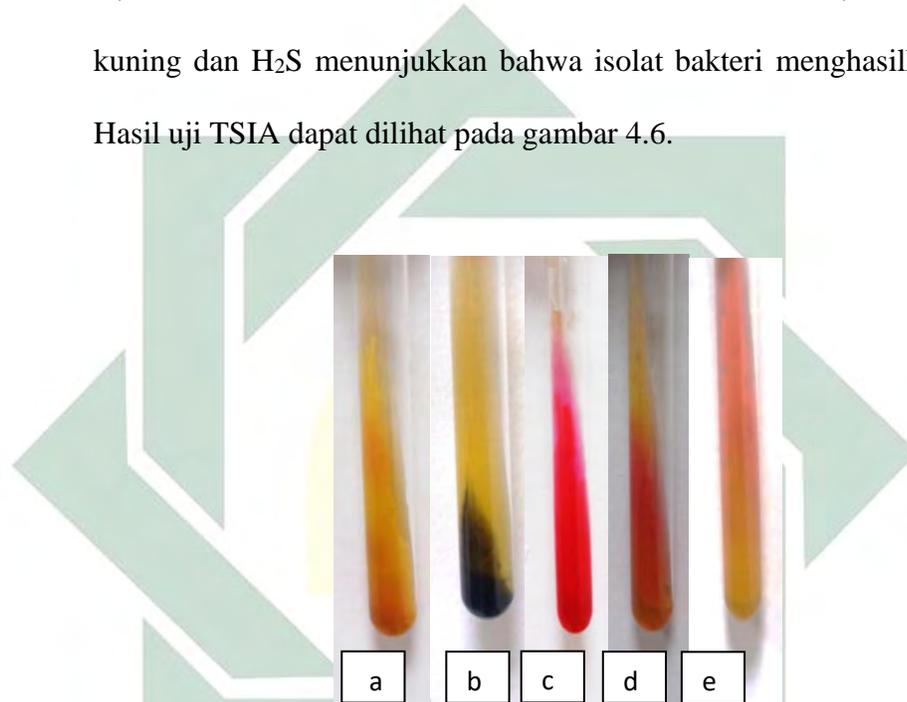


Dari penelitian yang sudah dilakukan menunjukkan bahwa bakteri gram negatif mempunyai tingkat resistensi lebih tinggi dari pada bakteri gram positif. Hal ini disebabkan karena bakteri gram negatif mempunyai tiga lapisan dinding sel yaitu lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida dan lapisan paling dalam yaitu peptidoglikan. Selain itu, bakteri gram negatif juga mempunyai membran luar berupa bilayer (memiliki ketahanan yang tinggi terhadap senyawa-senyawa toksik yang keluar masuk sel bakteri) (Septiani *et al.*, 2017). Menurut Helmiyati and Nurrahman (2010), bakteri gram positif lebih mudah terdenaturasi dari pada bakteri gram negatif. Karena pada dasarnya dinding sel yang terdiri dari polisakarida lebih mudah terdenaturasi dibandingkan dinding sel yang terdiri dari fosfolipid. Bakteri gram positif memiliki dinding sel yang terdiri dari peptidoglikan, asam teikoat dan teikuronat. Ini yang menyebabkan dinding sel bakteri gram positif sebagian yaitu polisakarida. Sedangkan bakteri gram negatif dinding selnya mengandung peptidoglikan yang sangat sedikit dan berada diantara selaput luar (fosfolipid dan auto layer) dan selaput dalam dinding sel.

4.4.3 Uji Biokimia

Uji biokimia berfungsi mengidentifikasi jenis bakteri dari sifat fisiologis dan biokimianya. Uji biokimia yang dilakukan yaitu TSIA, urea, MR-VP, indol, motilitas, sitrat, katalase dan uji jenis gula (glukosa, laktosa, sukrosa dan manitol).

Uji TSIA bertujuan untuk mengetahui bakteri yang dapat memfermentasikan glukosa, laktosa, sukrosa dan pembentukan gas ataupun H₂S (Sari, 2014). Hasil uji TSIA memperlihatkan adanya kode K, A dan H₂S. kode K berarti media berwarna merah, A berwarna kuning dan H₂S menunjukkan bahwa isolat bakteri menghasilkan H₂S. Hasil uji TSIA dapat dilihat pada gambar 4.6.



Gambar 4.6. Hasil uji TSIA

Keterangan: (a) warna kereng dan dasar media kuning, (b) warna leren dan dasar media kuning, menghasilkan H₂S, c) warna lereang dan dasar media merah, d) warna lereang kuning dan dasar media merah, e) warna lereang media merah dan dasar media kuning

Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2020)

Dari hasil uji TSIA diperoleh isolat S2.3 hasilnya lereang dan dasar media berwarna kuning (gambar 4.6a) yang berarti adanya fermentasi glukosa, laktosa dan atau sukrosa. Isolat A1.3 dan S1.1 hasilnya lereang dan dasar media berwarna kuning (gambar 4.6 b), yang berarti isolat bakteri dapat memfermentasikan glukosa, sukrosa ataupun laktosa, dan dapat memproduksi H₂S. Pada isolat A1.1, A1.2 dan A2.2

hasilnya lereng dan dasar media berwarna merah (gambar 4.6c) yang berarti bahwa isolat bakteri tidak memfermentasikan gula dan tidak memproduksi gas. Isolat S2.1 hasilnya lereng berwarna kuning dan dasar berwarna merah (gambar 4.6d) yang menunjukkan bakteri tidak memfermentasikan gula tetapi mengkatabolis pepton. Pada isolat A2.1 dan S2.2 hasilnya lereng media berwarna merah dan dasar media berwarna kuning (gambar 4.6e). Ini menandakan bahwa isolat bakteri tersebut dapat memfermentasikan glukosa.

Uji selanjutnya yaitu uji MR (*Methyl Red*). Uji MR digunakan untuk mengetahui apakah bakteri memiliki kemampuan dalam memfermentasikan asam campuran. Beberapa bakteri dapat memfermentasikan glukosa dan menghasilkan produk asam sehingga dapat menurunkan kadar pH pada media. Menurut Sari (2014) bakteri yang dapat memfermentasikan asam campuran setelah ditambahkan *Methyl Red* akan berubah warna menjadi merah dan pH turun menjadi 5 atau kurang. Apabila setelah ditambahkan *Methyl Red* tidak terjadi perubahan warna pada medium maka bakteri tidak mampu memfermentasikan asam campuran dan mempunyai pH 6,2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kode isolat A1.1, A1.3, A2.1, S1.1 dan S2.1 positif (gambar 4.7a). Sedangkan kode isolat A1.2, A2.2, S2.2 dan S2.3 menunjukkan hasil negatif (gambar 4.7b).

Uji VP (*Voges Proskauer*) digunakan untuk mengetahui apakah bakteri mempunyai kemampuan untuk membentuk asetil metil karbinol

(asetoin) yaitu hasil fermentasi glukosa (Ulfa *et al.*,2016). Hasil uji positif ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi merah setelah ditambahkan reagen α naphthol 5% dan KOH 40%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kode isolat A1.3, A2.1, S2.1, S2.2 dan S2.3 hasilnya positif (gambar 4.7a). Sedangkan kode isolat A1.1, A1.2, A2.2, S1.1 menunjukkan hasil negatif (gambar 4.7b). Hasil uji MR-VP dapat dilihat pada gambar 4.7.



Gambar 4.7. Hasil uji MR-VP
a) hasil positif, b) hasil negatif
Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2020)

Uji indol digunakan untuk mengetahui bakteri yang mengandung enzim triptofanase. Enzim triptofanase adalah katalis pengurai gugus indol yang terdapat dalam asam amino triptofan. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin merah diantara garis pemisah reagen dan media, seperti pada (gambar 4.8). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kode isolat A1.1, A1.3, A2.2 dan S1.1 positif. Sedangkan kode isolat A1.2, A2.1, S2.1, S2.2 dan S2.3 menunjukkan hasil negatif.

4.10b) dan hanya 1 isolat yang negatif yaitu isolat A1.3 (gambar 4.10a). Hasil uji urea dapat dilihat pada gambar 4.10.



Gambar 4.10. Hasil uji urea
a) hasil negatif b) hasil positif
Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2020)

Uji katalase digunakan untuk mengetahui adanya katalase dalam bakteri. Dengan adanya enzim katalase beberapa bakteri mampu mengurai hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen. H_2O_2 mempunyai sifat yang toksik dan mudah merusak komponen sel bakteri (Ulfa *et al.*, 2016). Hasil penelitian menunjukkan dari 9 isolat hanya 1 isolat yang hasil uji negatif yaitu isolat A1.2. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung setelah ditetesi H_2O_2 seperti pada gambar 4.11.



Gambar 4.11. Hasil uji katalase
Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2020)

Ordo : Bacillales
 Famili : Bacillaceae
 Genus : *Bacillus* (Holt *et al.*, 1994)

2. Genus *Citrobacter*

Dari hasil pengamatan isolat S1.1 mempunyai karakteristik bakteri gram negatif berbentuk batang, motil, hasil uji katalase positif, menghasilkan H₂S pada uji TSIA, dan hasil sitrat positif. Menurut Cowan and Stell (1974) dalam buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition* hasil pengamatan karakteristik tersebut memiliki persamaan dengan genus *Citrobacter* yang berbentuk batang, gram negatif dan bersifat motil. *Citrobacter* dapat ditemukan di tanah dan air. Menurut (Mohseni *et al.*, 2014) mekanisme resistensi *Citrobacter* kebanyakan menggunakan plasmid bakteri dan termasuk mekanisme ekstraseluler melalui pengendapan Pb menjadi polifosfat pada permukaan dinding sel.

Klasifikasi:

Kingdom : Bacteria
 Filum : Proteobacteria
 Kelas : Gammaproteobacteria
 Ordo : Enterobacteriales
 Famili : Enterobacteriaceae
 Genus : *Citrobacter* (Cowan and Stell, 1974)

3. Genus *Neisseria*

Dari hasil pengamatan isolat A1.1 mempunyai karakteristik bakteri gram negatif berbentuk kokus, katalase positif dan non motil. Menurut Cowan and Stell (1974) dalam buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9nd Edition* hasil pengamatan karakteristik tersebut memiliki persamaan dengan genus *Neisseria* yang memiliki bentuk kokus, bakteri gram negatif, tidak mempunyai flagel dan spora, dan bersifat aerobik. Menurut Guilhen *et al.* (2013) menyatakan bahwa beberapa genus *Neisseria* mengalami mekanisme resistensi intraselluler melalui sistem Efflux.

Klasifikasi :

Kingdom : Bacteria

Filum : Proteobacteria

Kelas : Betaproteobacteria

Ordo : Neisseriales

Famili : Neisseriaceae

Genus : *Neisseria* (Cowan and Stell, 1974).

4. Genus *Aeromonas*

Dari hasil pengamatan isolat A1.3 mempunyai karakteristik bakteri gram negatif berbentuk kokus, katalase positif, dapat memfermentasikan gula dan motil. Menurut Cowan and Stell (1974) dalam buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9nd Edition* hasil pengamatan karakteristik tersebut memiliki persamaan dengan genus *Aeromonas*. Bakteri ini tidak dapat membentuk spora dan banyak ditemukan di lingkungan perairan. *Aeromonas* mampu resisten terhadap Pb sebesar 47% dan mekanisme resistennya

(2018) yang menemukan bakteri dari genus *Bacillus*. Hasil bakteri yang ditemukan berbeda dengan penelitian Wulandari *et al.* (2005) yang menemukan bakteri resistensi Pb dari genus *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Phenylobacterium*, *Enhydribacter*, *Morrococcus* dan *Flavobacterium*.

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan resistensi tertinggi yaitu genus *Vibrio* dengan kode isolat A1.2 dengan konsentrasi Pb 10 ppm, 25 ppm dan 30 ppm. Pada konsentrasi Pb 20 ppm resistensi tertinggi yaitu *Morganella* dengan kode isolat A2.2 dan genus *Neisseria* dengan kode isolat A1.1 pada konsentrasi 15 ppm. Hasil penelitian ini didukung dengan penelitian Fretes *et al.* (2019) bahwa genus *Vibrio* memiliki tingkat resistensi tinggi terhadap Pb dengan nilai MIC konsentrasi Pb 100-800 ppm. Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian Rohmah (2017) yang menyatakan bahwa genus *Bacillus* memiliki resistensi tertinggi daripada *Pseudomonas*, *Acinetobacter* dan *Brevibacillus*.

Dari hasil penelitian didapatkan 9 isolat bakteri yang diisolasi dari perairan Paciran Lamongan menunjukkan bahwa masing-masing bakteri mempunyai tingkat resistensi yang berbeda dan dapat berpotensi menjadi agen bioremediasi. Bioremediasi dilakukan dengan memanfaatkan bakteri tersebut dalam mengurangi tingkat pencemaran logam timbal (Pb) di lingkungan terutama perairan. Menurut Priadie (2012) bakteri resistensi terhadap logam berat mampu mengubah struktur polutan yang beracun menjadi tidak kompleks. Dan menghasilkan produk metabolit seperti asam organik dan metabolit lainnya sehingga dapat menghilangkan ion-ion logam berat yang terdapat di lingkungan. Sudah dilakukan beberapa penelitian tentang pemanfaatan bakteri yang diisolasi

dari wilayah tercemar untuk bioremediasi. Penelitian yang telah dilakukan Isa (2004) menggunakan bakteri *Pseudomonas fluorescens*, *Thiobacillus ferrooxidans*, *Eschericia coli* dan *Bacillus* sp. untuk bioleaching logam berat timbal dalam sedimen yang tercemar. Pada penelitian Khoiroh (2014) memanfaatkan campuran bakteri *Pseudomonas pseudomallei* dan *Pseudomonas aeruginosa* untuk bioremediasi timbal dalam lumpur lapindo.

Perbedaan ciri-ciri morfologi, ukuran dan kemampuan pada masing-masing bakteri menunjukkan bahwa bakteri tersebut mempunyai jenis bakteri yang berbeda. Dalam HR. Muslim menjelaskan bahwa semua sudah ditetapkan oleh Allah.

عَنْ عَبْدِ اللَّهِ بْنِ عَمْرٍو بْنِ الْعَاصِ قَالَ سَمِعْتُ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ يَقُولُ كَتَبَ اللَّهُ مَقَادِيرَ الْخَلَائِقِ قَبْلَ أَنْ يَخْلُقَ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضَ بِخَمْسِينَ أَلْفَ سَنَةٍ قَالَ وَعَرَشُهُ عَلَى الْمَاءِ

Artinya: Dari Abdullah bin Amr bin Al 'Ash R.A, dia berkata, "Saya pernah mendengar Rasulullah shallallahu 'alaihi wasallam bersabda, 'Allah telah menentukan takdir bagi semua makhluk lima puluh tahun sebelum Allah menciptakan langit dan bumi.' Rasulullah menambahkan, "Dan arsy Allah itu berada di atas air." {Hadis Shahih Muslim no. 2653}.

Beberapa ahli tafsir menjelaskan dalam kitab shahih muslim telah diriwayatkan dari Abdullah bin Amr bin Ash bahwa lafadz مَقَادِيرَ الْخَلَائِقِ bermakna

“Allah menciptakan segala sesuatu sesuai dengan kadar dan kemampuan masing-masing. kadar dan kemampuan yang dimaksud adalah Allah menciptakan makhluk hidup seperti bakteri sesuai dengan ukuran dan kemampuan untuk bertahan hidup dalam kondisi lingkungan yang berbeda. Bahkan beberapa bakteri

dapat bertahan hidup dalam kondisi yang ekstrem karena pencemaran logam berat (Sudarmojo, 2008). Perbedaan jenis bakteri dan kemampuan bakteri dipengaruhi oleh perbedaan kondisi lingkungan. Dalam surat Al-A'raf ayat 56 Allah berfirman:

وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ بَعْدَ إِصْلَاحِهَا وَادْعُوهُ خَوْفًا وَطَمَعًا ۚ إِنَّ رَحْمَتَ اللَّهِ قَرِيبٌ مِّنَ الْمُحْسِنِينَ

Artinya: dan janganlah kamu berbuat kerusakan di bumi, sesudah (Allah) memperbaikinya dan berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut (tidak akan diterima) dan harapan (akan dikabulkan). Sesungguhnya rahmat Allah dekat kepada orang-orang yang berbuat baik. (Q.S. Al-A'raf ayat 56).

Dalam tafsir Shihab (2002), ayat tersebut menjelaskan larangan untuk merusak isi bumi. Membuat kerusakan merupakan bentuk kemaksiatan. Alam raya telah diciptakan Allah SWT dengan ebaik-bainya dan untuk memenuhi kebutuhan makhluk hidup. Allah memerintahkan untuk memperbaiki, menjaga lingkungan dan melarang tegas untuk membuat kerusakan. Maka kita sebagai manusia yang diciptakan dengan sempurna mempunyai akal dan perasaan, sebaiknya kita menjaga lingkungan sekitar dengan sebaik-baiknya.

- Fahrudin., Haedar, N., Slamet, S., and Sri, W. 2019. Uji Kemampuan Tumbuh Isolat Bakteri dari Air dan Sedimen Sungai Tallo Terhadap Logam Timbal (Pb), *Ilmu Alam dan Lingkungan*, 10(19), pp. 52–57.
- Farisna, S. T. And Zulaika, E. 2015. Resistensi Bacillus Endogenik Kalimas Surabaya Terhadap Logam Besi (Fe). *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 4(1): 4–7.
- Frete, C. E., Sutiknowati, L. I. and Falahudin, D. 2019. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Toleran Logam Berat Dari Sedimen Mangrove Di Pengudang Dan Tanjung Uban, Pulau Bintan, Indonesia. *Oseanologi Dan Limnologi Di Indonesia*, 4(2), P. 71.
- Guilhen, C., taha, M.K and Federic, J.V. 2013. Role Of Transition Metal Exporters In Virulence: The Example Of *Neisseria meningitidis*. *Frontier In Cellular And Infection Microbiology*. 3(102): 1-7
- Guo, H. *et al.* 2010. Bioremediation Of Heavy Metals By Growing Hyperaccumulaor Endophytic Bacterium *Bacillus* Sp. L14, *Bioresource Technology*, 101(22): 8599–8605
- Gusnita, D. 2012. Pencemaran Logam Berat Timbal (Pb) di Udara dan Upaya Penghapusan Bensin Bertimbal, *Berita Dirgantara*, 13(3), pp. 95–101.
- Google Earth, 2019. *Peta Lokasi Perairan Paciran Lamongan*. 6°53'27"S 112°17'11"E 1.01 km Peta 3D. Diakses pada 3 Desember 2019 Pukul 12.14 WIB. <<https://earth.google.com/index.html>>
- Hadioetomo, R.S. 1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Teknik Dan Prosedur Dasar Laboratorium*. PT. Gramedia Pustaka Utama
- Hamuna, B., Rosye, H., Tanjung, 2018. Kajian Kualitas Air Laut dan Indeks Pencemaran Berdasarkan Parameter Fisika-Kimia di Perairan Distrik Depapre, Jayapura, *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 16(1), p. 35-43
- Happy, A., Masyamsir and Dhahiyat, Y. 2012. Distribusi Kandungan Logam Berat Pb Dan Cd Pada Kolom Air Dan Sedimen Daerah Aliran Sungai Citarum Hulu, *Jurnal Perikanan Kelautan*, 3(3), pp. 175–182.
- Hardiani, H., Kardiansyah, T. and Sugesty, S. 2011. Bioremediasi Logam Timbal (Pb) Dalam Tanah Terkontaminasi Limbah Sludge Industri Kertas Proses Deinking, *Jurnal Selulosa*, 1(1), pp. 31–41.
- Hasyimuddin, H., Nur, F. and Indriani, I. 2018. Isolasi Bakteri Pengakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) Pada Saluran Pembuangan Limbah Industri Kabupaten Gowa, *Biotropic : The Journal of Tropical Biology*, 2(2): 26–132
- Helmiyati, A. F. and Nurrahman 2010. Pengaruh Konsentrasi Tawas Terhadap

- Pertumbuhan Bakteri Gram Positif dan Negatif. *Jurnal Pangan Dan Gizi*, 01(01): 1–6.
- Husein, R.D. and Muchtar, H.I. 2005. Bakteri Pengkompleks Logam Pb dan Cd Dari Limbah Cair PT. Kawasan Industri Makassar. *Marina Chimica Acta*, 6 (1): 25-28
- Holt, J.G., Krig, N.R., Sneath P., Staley, J., and Williams, S. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition*, Lipincott Williams and Wilkins Company, Philadelphia (USA).
- Ika., Tahril and Said, I.. 2012. Analisis Logam Timbal (Pb) Dan Besi (Fe) Dalam Air Laut Di Wilayah Pesisir Pelabuhan Ferry Taipa Kecamatan Palu Utara. *Jurnal Akademika Kimia*, 1(4) pp. 181–186.
- Imamuddin, H. 2011. Resistance Test Of Bacteria Against HgCl₂ Isolated From Soil Of Gold Mining In Pongkor, West Java, *Berita Biologi*, 10(4): 425–430.
- Irawati, W. 2019. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Resisten Tembaga Dari Pantai Timur Surabaya, *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*, 6(2); 95–105
- Isa, I. 2004. Bioremediasi Logam Berat Timbal dari sedimen tercemar oleh *Pseudomonas fluorescens*, *Thiobacillus ferrooxidans*, *Eschericia coli* dan *Bacillus* sp. *Disertasi*. Program Pascasarjana, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Jamilah and Amri. 2019. Analisis Bakteri Pengakumulasi Logam Berat (Pb) di Tanah Pembuangan Limbah Industri Non-Pangan. *Jurnal Sains dan Pendidikan Biologi*, 2(2), pp. 7–13.
- Jarosławiecka, A. and Piotrowska Seget, Z. 2014. Lead Resistance in Microorganisms, *Microbiology*, 160: 12–25.
- Jekti, D. S. D. 2018. Peranan Mikroba Dalam Pengelolaan Lingkungan. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi, program studi pendidikan biologi FKIP Universitas Mataram*, pp. 1–9.
- Junopia, A. C. 2015. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Logam Timbal (Pb) yang Bersumber Dari Danau Tempe Kabupaten Wajo Sulawesi Selatan. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar.
- Khoiroh, Z. 2014. Bioremediasi Logam Berat Timbal (Pb) Dalam Lumpur Lapindo Menggunakan Campuran Bakteri (*Pseudomonas Pseudomallei* dan *Pseudomonas Aeruginosa*). *Skripsi*. Fakultas Sains Dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang

- Kurnia, K., Sadi, N. H. and Jumianto, S. 2015. Isolation and Characterization of Pb Resistant Bacteria from Cilalay Lake, Indonesia, *Aceh International Journal of Science and Technology*, 4(3), pp. 83–87
- Kurnia, K., Sadi, N. H. and Jumianto, S. 2016. Isolasi Bakteri Heterotrof Di Situ Cibuntu, Jawa Barat Dan Karakterisasi Resistensi Asam Dan Logam, *Al-Kaunyah: Jurnal Biologi*, 9(2):74–79
- Liu, H., Zhu, J., Hu, Q., and Xiancai Rao. 2016. *Morganella morganii*, a Non-Negligent Opportunistic Pathogen. *International Journal of Infectious Disease*. 50: 10-17
- Ma'rifah, A., Siswanto, A. D. and Romadhon, A. 2016. Karakteristik dan Pengaruh Arus Terhadap Akumulasi Logam Berat Timbal (Pb) Pada Sedimen di Perairan Kalianget Kabupaten Sumenep. *Prosiding Seminar Nasional Kelautan*, Universitas Trunojoyo Madura: 82–88.
- Mastang. 2016. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Pengakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) Pada Endapan Sedimen Kanal Sekitar Rumah Susun Kota Makassar. *Skripsi. akultas Sains dan Teknologi*, UIN Alauddin Makassar.
- Mire, C.E., Tourjee, J.A., O'Brien, W.F., Ramanujachary, K.V. and Hecht, G.B. 2004. Lead precipitation by *Vibrio harveyi*: evidence for novel quorumsensing interactions. *Appl Environ Microbiol* 70: 855-864
- Mohseni, M., Khosravi, F., Mohajerani, M., and M.J. Chaichi. 2014. Bioremediation Activity of Pb (II) Resistance *Citrobacter* Sp. MKH2 Isolated From Heavy Metal Contaminated Sites In Iran, *Journal Of Sciences, Islamic Republic Of Iran*, 25(2): 105–110.
- Naik, M. M. And Dubey, S. K. 2013. Lead Resistant Bacteria: Lead Resistance Mechanisms, Their Applications In Lead Bioremediation and Biomonitoring', *Ecotoxicology And Environmental Safety*. Elsevier, 98, Pp. 1–7.
- Nath, S., Deb, B. and Indu Sharma. 2012. Isolation and Characterization of Cadmium-and Arsenic-Absorbing Bacteria for Bioremediation. *Journal of Microbiology*, 1(11):194-198.
- Noel R. K., James T., S, Daniel R. B., Brian, P., Hedlund, Bruce, J., Paster, Naomi L., Ward, W.L., and William B. W. 2010. *Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology Second Edition Volume Four*. Springer, New York
- Nurhayati, A., Ummah, Z. I. and Shobron, S. 2018. Kerusakan Lingkungan Dalam Al-Qur'an. *Suhuf*, 30(2), pp. 194–220.

- Panuntun, M. S. 2014. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Toleran Terhadap Timbal (Pb) Dari Tanah Bekas Cetakan Pengecoran Logam Di Desa Jeblokan, Kabupaten Klaten. *Skripsi*, Uin Sunan Kalijaga Yogyakarta.
- Perdana, Jeremia. 2012. Uji Resistensi Dan Uji Biodegradasi Logam Berat (Pb, Zn, Dan Hg) Oleh Isolat Bakteri Lumpur Pantai Kenjeran. *Skripsi*. Fakultas Sains Dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya
- Pratiwi, A. E. (2015) Isolasi, Seleksi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Mikroba Endofit Dari Daun Tanaman *Garcinia benthami pierre* Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, dan *Salmonella typhimurium*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Jakarta, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta
- Prayoga, Eko. 2013. Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper bettle* L.) Dengan Metode *Difusi Disk* Dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan, Uin Syarif Hidayatullah, Jakarta
- Priadie, B. 2012. Teknik Bioremediasi Sebagai Alternatif Dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Air, *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 10(1): 38
- Rafly, M. 2016. Biosoprsi Logam Timbal dengan Menggunakan Khamir *Saccharomyces cerevisiae* Termobilisasi Natrium Alginat, *Skripsi*. UIN Alauddin Makassar.
- Ratnawati, E., Ermawati, R. and Naimah, S. 2010. Teknologi Biosorpsi oleh Mikroorganisme, Solusi Alternatif untuk Mengurangi Pencemaran Logam Berat, *Jurnal Kimia dan Kemasan*, 32(1), pp. 34.
- Rizkiana, L. et al. 2017. Analisis Timbal (Pb) Pada Sedimen Dan Air Laut Di Kawasan Pelabuhan Nelayan Gampong Deah Glumpang Kota Banda Aceh. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*, 2(1), pp. 89–96.
- Rohmah, N. S. 2017. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Yang Berpotensi Sebagai Agen Bioremediasi Timbal (Pb) Dari Lumpur Lapindo, *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Sabdono, A. 2009. Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Symbion Karang *Goniastrea aspera* Resisten terhadap Logam Berat Copper (Cu) dari P. Panjang, Jepara. *Ilmu Kelautan - Indonesian Journal of Marine Sciences*, 14(3), pp. 117–125.
- Sari, N. I. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Tanah di Kecamatan Pattallassang Kabupaten Gowa, *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar.

- Septiani, S., Dewi, E. N. and Wijayanti, I. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (*Cymodocea Rotundata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Saintek Perikanan*, 13(1), Pp. 1–6.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati Press
- Situmorang, manihar. 2015. *Kimia lingkungan*. PT Raja Grafindo Persada, Depok
- Subandi, 2010. *Mikrobiologi (Perkembangan, Kajian Dan Penagmaan Dalam Perspektif Islam*. PT. Remaja Rosdakarya, Bandung
- Sudarmojo, A.H. 2008. *Menyibak Rahasia Sains Bumi*. Bandung: PT. Mizan Pustaka
- Sugiyanto, R. A. N., Yona, D. and Kasitowati, R. D. 2016. Analisis Akumulasi Logam Berat Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd) Pada Lamun *Enhalus acoroides* Sebagai Agen Fitoremediasi Di Pantai Paciran, Lamongan. *Seminar Nasional Perikanan dan Kelautan VI*, (May), pp. 449–455.
- Tangio, J. S. 2013. Adsorpsi Logam Timbal (Pb) Dengan Menggunakan Biomassa Enceng Gondok (*Eichhorniacrassipes*), *Jurnal Entropi*, 8(1), pp. 500–506.
- Usman, S., Nafie, N. La and Ramang, M. 2013. Distribusi Kuantitatif Logam Berat Pb dalam Air, Sedimen dan Ikan Merah (*Lutjanus erythropterus*) di Sekitar Perairan Pelabuhan Pareparem *Marina Chemica Acta*, 14(2), pp. 49–55.
- Ulfa, A., Suarsini, E. and Henie, M. 2016. Isolasi dan Uji Sensitivitas Merkuri Pada Bakteri Dari Limbah Penambangan Emas di Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat: Penelitian Pendahuluan, *Proceeding Biology Education Conference*, 13(1), pp. 793–799.
- Usman, S., Nafie, N. La and Ramang, M. 2013. Distribusi Kuantitatif Logam Berat Pb dalam Air, Sedimen dan Ikan Merah (*Lutjanus erythropterus*) di Sekitar Perairan Pelabuhan Pareparem *Marina Chemica Acta*, 14(2), pp. 49–55.
- Wulandari, S., Dewi, N. fFtri and Suwondo. 2005. Identifikasi Bakteri Pengikat Timbal (Pb) Pada Sedimen Di Perairan Sungai Siak. *Jurnal Biogenesis*, 1 (2), Pp. 1–4.
- Yahya., Nursyam, H., Risjani, Y., and Soemarno. 2014. Karakteristik Bakteri di Perairan Mangrove Pesisir Kraton Pasuruan. *Ilmu Kelautam*, 19(1), pp. 35–42.