

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI TOLERAN TERHADAP
LOGAM BERAT PB PADA AIR DAN SEDIMEN DI SUNGAI
PORONG SIDOARJO JAWA TIMUR**

SKRIPSI



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

Disusun Oleh:

**NUR ROKHMATUL LAILIYA
NIM: H71216041**

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

2021

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Nur Rokhmatul Lailiya

NIM : H71216041

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2016

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul “ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI TOLERAN TERHADAP LOGAM BERAT Pb PADA AIR DAN SEDIMEN DI SUNGAI PORONG SIDOARJO JAWA TIMUR”, 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, 08 Januari 2021
Yang menyatakan



(Nur Rokhmatul Lailiya)
NIM. H71216041

LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi oleh

NAMA : Nur Rokhmatul Lailiya

NIM : H71216041

JUDUL : Isolasi dan Identifikasi Bakteri Toleran Terhadap Logam Berat Pb
Pada Air dan Sedimen Di Sungai Porong Sidoarjo Jawa Timur

Telah diperiksa dan disetujui untuk diujikan.

Surabaya, 27 Desember 2020

Dosen Pembimbing I



Misbakhul Munir, S.Si., M.Kes.
NIP. 198107252014031002

Dosen Pembimbing II



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

PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Nur Rokhmatul Lailiya ini telah dipertahankan
di depan tim penguji skripsi
di Surabaya, 08 Januari 2021

Mengesahkan,
Dewan Penguji

Penguji I



Misbakhul Munir, S.Si., M.Kes.
NIP. 198107252014031002

Penguji II



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

Penguji III



Esti Tyastirin, M.KM.
NIP. 198706242014032001

Penguji IV



Ita Ainun Jariyah, M.Pd.
NIP. 198612052019032012

Mengetahui,
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Ampel Surabaya



Dr. Hj. Evi Fatimatur Rusydiyah, M.Ag.
NIP. 196512211990022001



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL 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 : Nur Rokhmatul Lailiya
NIM : H71216041
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi
E-mail address : nurrahmalailiya05@gmail.com

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

Skripsi Tesis Disertasi Lain-Lain (.....)

yang berjudul :

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI TOLERAN TERHADAP LOGAM BERAT
Pb PADA AIR DAN SEDIMEN DI SUNGAI PORONG SIDOARJO JAWA TIMUR

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, 08 Januari 2021

Penulis

(Nur Rokhmatul Lailiya)

lingkungan. Allah SWT telah menciptakan semua makhluk ciptaannya saling berkaitan. Dalam keterkaitannya itu, maka lahirlah keserasian dan keseimbangan dari yang terkecil hingga yang terbesar, dan semua makhluk patut untuk tunduk dalam pengaturan Allah SWT, tetapi manusia malah melakukan kegiatan buruk yang dapat merusak alam, sehingga dapat terjadinya ketidakseimbangan dalam sistem kerja alam. Allah SWT menetapkan harus tetap menjaga keseimbangan alam tanpa merusaknya.

Sungai Porong ini diduga berpotensi mengandung senyawa kimia, seperti logam berat yang berasal dari pembuangan limbah lumpur Lapindo di sungai Porong. Menurut Suprpto *et al.* (2007) semburan lumpur Lapindo memiliki bahan padatan dan cair dengan unsur-unsur di dalamnya salah satunya yaitu logam berat Pb. Penelitian Rohma (2017) menjelaskan bahwa kandungan logam berat Pb pada lumpur Lapindo mengandung logam berat Pb dengan konsentrasi 22,88 ppm. Sehingga tidak menutup kemungkinan limbah lumpur Lapindo yang dialirkan disungai Porong mengandung logam berat Pb. Penelitian Putra (2015) juga menemukan kandungan logam berat Pb pada mangrove di kawasan muara sungai. Porong Desa Kedungpandan Sidoarjo di titik pecahan aliran sungai porong dengan konsentrasi logam Pb pada air sekitar 0,018-0,035 ppm dan pada sedimen sekitar 1,879-2,733 ppm. Sedangkan penelitian Harlyan (2015) kandungan logam berat Pb pada ekosistem mangrove di wilayah sungai Porong Sidoarjo pada air kurang dari 0,0044 mg/L dan kandungan logam berat Pb pada sedimen permukaan adalah 0,0648 mg/L. Sedangkan Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No. 51 Tahun (2004)

bahwa kandungan logam berat Pb memiliki ambang batas pada perairan yaitu 0,05 ppm.

Logam berat merupakan senyawa kimia berbahaya yang dapat mencemari lingkungan apabila bersifat toksik dan pemakaiannya dalam jumlah yang sangat besar. Pencemaran logam berat di perairan nantinya akan mengalami proses pengendapan didalam sedimen. Logam berat yang mengendap dalam sedimen kemudian akan terakumulasi didalam tubuh biota dan akhirnya sampai pada tubuh manusia (Wulandari, *et al.*, 2005). Sifat dari logam berat itu sendiri selain beracun juga mudah terakumulasi dalam tubuh dan sulit terdegradasi. Logam berat dibagi menjadi dua jenis, yaitu jenis logam berat *esensial* dimana pemaikannya dalam jumlah tertentu dan sangat dibutuhkan oleh manusia, sedangkan jenis lainnya yaitu logam berat *non esensial*, dimana keberadaan logam berat tersebut dalam tubuh belum diketahui manfaatnya atau bahkan bersifat racun, salah satunya yaitu logam berat Pb (Ika, *et al.*, 2012).

Pencemaran logam berat Pb di perairan semakin meningkat seiring dengan berkembangnya teknologi untuk mengatasi polutan. Salah satu metode yang dapat diaplikasikan dalam mengatasi polutan tersebut yaitu bioremediasi. Bioremediasi merupakan metode dalam bidang bioteknologi lingkungan, dengan memanfaatkan agen biologi untuk mengendalikan tanah atau air tercemar yang nantinya tidak berbahaya bagi lingkungan atau kesehatan manusia. Agen biologi yang dapat digunakan untuk bioremediasi adalah mikroorganisme alami (seperti bakteri, jamur, atau ragi) (Khoiroh, 2014).

Menurut Fahrudin, *et al.* (2019) bakteri yang diisolasi pada lingkungan yang tercemar logam berat, bakteri tersebut mempunyai daya resistensi atau toleran terhadap logam berat. Mekanisme bakteri resistensi terhadap logam berat dapat melalui bioakumulasi atau biosorpsi. Biosorpsi merupakan proses penyerapan terhadap logam berat, senyawa atau larutan yang tidak tergantung pada metabolisme melainkan penyerapan melalui dinding sel (Ratnawati, *et al.*, 2010). Sedangkan bioakumulasi adalah proses pengambilan logam secara aktif dengan menggunakan metabolisme bakteri berdasarkan pada pengikatan dan transport aktif. Fase pengikatan terjadi pada dinding sel sedangkan transport aktif terjadi saat proses metabolisme sel bakteri (Mastang, 2016).

Penelitian Panuntun (2014) menemukan bakteri pada tanah bekas cetakan pengecoran di Desa Jeblok, Kecamatan Ceper, Kabupaten Klaten yang mampu toleran terhadap logam Pb antara lain dari genus *Enterococcus*, *Lactobacillus* dan *Pseudomonas* dengan kemampuan toleran logam berat Pb hingga kadar 0,3 ppm. Beberapa penelitian lainnya juga menemukan bakteri toleran logam berat Pb antara lain dari genus *Azotobacter*, *Proteus*, *Corynebacterium*, *Klebsiella*, *Staphylococcus*, *Arthrobacter*, *Enterobacter*, *Listeria*, *Micrococcus*, *Phenylobacterium*, *Enhydribacter*, *Morrooccus*, *Flavobacterum*, *Sterptococcus*, *Xanthobacter*, *Acinetobacter*, dan *Brevibacillus* (Zulaika *et al.*, 2012; Nath *et al.*, 2012; Jarostawiecka *et al.*, 2014; El-Sayed, 2016; Wulandari *et al.*, 2005; Arrizal *et al.*, 2013).

Air merupakan senyawa penting bagi kehidupan makhluk hidup. Air memiliki karakteristik tidak seperti senyawa lain, karakter tersebut antara lain; 1) Suhu yang sesuai, yaitu 0°C (32°F) - 100°C , 2) Sifat perubahan suhu dapat berlangsung lambat, sehingga air sebagai penyimpan panas yang baik, 3) Air mudah dalam proses penguapan hanya memerlukan panas yang tinggi. Penguapan merupakan perubahan air menjadi uap air, 4) Air merupakan pelarut yang baik karna berbentuk cair (Jumani, 2011).

Saat ini, masalah utama di Indonesia dihadapi oleh sumber daya air dengan kuantitas air yang tidak dapat memenuhi kebutuhan dan kualitas air bersih menurun untuk keperluan domestik (Junopia, 2015). Faktor yang mempengaruhi kualitas air bersih disebabkan oleh dua faktor, yaitu faktor dari alam dan faktor dari aktivitas manusia, salah satunya yaitu kegiatan domestik, pertambangan minyak, dan pembuangan limbah industri yang menjadi sumber pencemaran lingkungan (Ranjani, *et al.*, 2016).

2.2 Lumpur Lapindo

Lumpur Lapindo merupakan salah satu peristiwa menyemburnya lumpur panas yang berlokasi di desa Renokenongo, Kecamatan Porong (Usman, *et al.*, 2006). Peristiwa menyemburnya lumpur Lapindo ini bermula karena aktivitas pengeboran minyak bumi di wilayah tersebut. Lumpur lapindo hingga saat ini masih menyembur dan menyebabkan dampak yang besar bagi korban disekitar luapan lumpur Lapindo (Gambar 2.2). Dampak tersebut seperti tergenangnya rumah warga, sawah, jalanan dan bangunan-bangunan lainnya (Parawita, *et al.*, 2009).

Aktivitas pengeboran minyak bumi akan mengakibatkan lumpur Lapindo dengan volume lumpur bertambah dan selanjutnya mengambil tindakan untuk mengalirkan limbah lumpur tersebut ke perairan sungai Porong Sidoarjo sehingga dapat mencemari lingkungan ekosistem di aliran tersebut. Pembuangan limbah ke perairan yang dilakukan secara langsung ataupun tidak langsung merupakan pencemaran utama dengan salah satu bahan beracun didalamnya. Pencemaran dapat berupa komponen organik dan anorganik. Komponen anorganik dapat berupa seperti logam berat berbahaya yang terkandung di dalam perairan (Ika, *et al.*, 2012). Perairan tercemar oleh logam berat dapat dilihat dari kondisi suatu ekosistem didalamnya seperti mati atau terganggunya organisme perairan baik itu ikan, tanaman dan hewan-hewan yang ada hubungannya dengan perairan (Herlambang & Pangkajian, 2006).

2.3 Pencemaran Logam Berat Pada Lingkungan

Logam berat merupakan unsur kimia yang memiliki afinitas yang tinggi dan biasanya bernomor atom 22 sampai 92 dari periode 4 sampai 7. Unsur logam berat memiliki sifat toksisitas pada makhluk hidup apabila dalam jumlah pemakaian banyak (Zarkasyi, 2008). Menurut pendapat Kurniasari (2005) sifat dari logam berat itu sendiri bersifat toksik dan mudah terakumulasi oleh tubuh dan susah mengalami degradasi. Jenis logam berat itu sendiri dibagi menjadi dua. Jenis pertama adalah logam berat *essensial*, dimana keberadaan logam ini dalam jumlah tertentu dapat dibutuhkan oleh makhluk hidup. Beberapa logam berat *essensial* yaitu

Seng (Zn), Tembaga (Cu), Besi (Fe) dan Mangan (Mn). Jenis kedua pada logam berat adalah logam berat *non essential*, dimana keberadaanya belum diketahui manfaatnya dalam tubuh makhluk hidup, bahwa bersifat toksik, seperti Antimin (An), Arsen (As), Berilium (Be), Kadmium (Cd), Crom (Cr), Timbal (Pb), Merkuri (Hg), Nikel (Ni), Selenium (Se) dan Perak (Ag) (Zarkasyi, 2008).

Faktor logam berat menyebabkan logam tersebut dikelompokkan ke dalam zat pencemar yaitu logam berat yang tidak dapat terurai melalui biodegradasi organik, logam berat dapat terakumulasi ke dalam lingkungan terutama sedimen sungai dan laut, karena dapat berikatan dengan senyawa organik dan anorganik, melalui proses adsorpsi dan pembentukan senyawa kompleks (Ika, *et al.*, 2012). Kandungan logam berat yang sudah mengendap pada air dan sedimen selanjutnya akan masuk ke dalam sistem rantai makhluk hidup dan berpengaruh dalam kelangsungan hidupnya. Pengendapan logam berat diperairan akan mengalami proses akumulasi pada sedimen dan air yang nanti terakumulasi kedalam tubuh biota perairan selanjutnya terakumulasi sampai manusia (Wulandari, *et al.*, 2005).

Salah satu logam berat yang ada di perairan dan menyebabkan beracun bagi makhluk hidup adalah logam berat timbal (Pb). Timbal (Pb) merupakan logam berat dengan nomor atom 82 dan massa atom 207,2 adalah termasuk logam golongan IV A (Awalina, 2011). Logam berat Pb stabil sebagai ion Pb^{2+} . Timbal (Pb) memiliki sifat yang lembek dan memiliki titik didih $1.725^{\circ}C$, titik leleh $327^{\circ}C$ nampak mengkilat/berkilau,

tetapi segera menjadi buram saat mengalami kontak langsung dengan udara terbuka (Sugiyarto & Suyanti, 2010).

Logam berat Pb diperairan umumnya memiliki konsentrasi rendah berkisar 1,0 - 10 $\mu\text{g Pb/L}$ dan dalam fasa terlarut yang berupa kompleks ligan organik. Kelarutan logam berat Pb (kurang dari 1 $\mu\text{g/l}$) pada pH 8,5-11 dalam air yang mengandung karbon dioksida dan sulfat. Logam Pb akan mengalami bioakumulasi pada tubuh organisme akuatik. Keberadaan logam berat Pb pada suatu kondisi lingkungan bersifat tidak mudah berpindah tempat (Awalina, 2011). Logam Pb bersifat toksik dan mudah terakumulasi dalam tubuh manusia apabila pada jangka waktu lama, kadarnya tinggi dan menimbulkan efek negatif pada tubuh seperti mutagen, alergi/alergen atau karsinogenik (Ika, *et al.*, 2012). Efek yang dapat ditimbulkan apabila terpapar oleh logam berat Pb terhadap organ tubuh yaitu:

- a. Sistem hemopoetik, apabila logam berat Pb sudah masuk kedalam tubuh dan meracuni sistem ini akan menyebabkan anemia karena proses pembentukan hemoglobin terhambat.
- b. Sistem saraf pusat dan tepi, apabila logam ini sudah menyerang sistem saraf, maka akan mengganggu kerja otak. Efek yang ditimbulkan apabila menyerang pada otak anak maka akan menyebabkan gangguan intelektual sejak dini, hingga psikologinya juga akan terganggu. Gejala yang ditimbulkan antara lain yaitu mudah lupa, sering berhalusinasi, rasa canggung, mudah tersinggung dan konsentrasi menurun.

- c. Sistem ginjal, menyebabkan tidak berfungsinya bagian organ tubuh yang terdapat disekitar ginjal.
- d. Sistem kardiovaskuler, dapat menyebabkan permeabilitas pembuluh darah meningkat drastis.
- e. Sistem reproduksi, apabila organ ini terpapar oleh logam Pb maka akan menyebabkan kematian janin pada ibu hamil.
- f. Sistem endokrin, dapat menyebabkan hormon tiroid dan adrenal tidak berfungsi dengan baik (Mastang, 2016).

Logam berat timbal (Pb) selain mencemari udara, logam berat ini juga dapat mencemari perairan. Logam berat timbal (Pb) dalam perairan bisa menyebabkan kematian ikan karena keracunan ataupun katiotin logam berat dengan fraksasi tertentu berada di lender insang, sehingga insang terselaputi oleh gumpalan lender logam berat yang mengakibatkan ikan menjadi mati. Selain itu, logam berat Pb juga akan tertimbun di dasar perairan atau sedimen dengan persenyawaan organik (Sumardjo, 2009). Perairan yang tercemar logam berat timbal (Pb) jika disiramkan pada tumbuhan maka akan menimbulkan resiko masuknya logam berat kedalam tumbuhan. Hasil penelitian (Naria, 2005) menyebutkan bahwa kandungan timbal pada tanaman umur 26 hari, tanaman bayam mengandung timbal sebesar 1,98 ppm, 2,72 ppm untuk selada, dan 1,80 ppm untuk kangkung. Masuknya logam berat timbal (Pb) ke dalam tanaman akan menimbulkan resiko pada kesehatan manusa jika mengkonsumsi tanaman tersebut.

2.4 Bakteri Toleransi Terhadap Logam Pb

Bakteri yang diisolasi pada lingkungan yang tercemar logam berat Pb memiliki daya resistensi terhadap logam berat dan dapat digunakan sebagai agen bioremediasi (Arrizal, *et al.*, 2013). Lingkungan tanah dan perairan yang memungkinkan untuk ditemukannya bakteri resisten logam berat Pb. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hasyimuddin *et al.* (2018) telah menemukan bakteri dari genus *Bacillus* dan *Pseudomonas* yang resisten dan serta mengakumulasi logam Pb pada tanah saluran pembuangan limbah industri di Kabupaten Gowa. Beberapa penelitian lain menemukan bakteri toleran logam Pb antara lain dari genus *Azotobacter*, *Proteus*, *Corynebacterium*, *Klebsiella*, *Staphylococcus*, *Arthrobacter*, *Enterobacter*, *Listeria*, *Micrococcus*, *Phenylobacterium*, *Enhydriabacter*, *Morrooccus*, *Flavobacterum*, *Sterptococcus*, *Xanthobacter*, *Acinetobacter*, dan *Brevibacillus* (Zulaika *et al.*, 2012; Nath *et al.*, 2012; Jarostawiecka *et al.*, 2014; El-Sayed, 2016; Wulandari *et al.*, 2005; Arrizal *et al.*, 2013).

Bakteri merupakan mikroorganisme uniseluler, tidak berklorofil tetapi ada beberapa yang fotosintetik. Bakteri pada umumnya memiliki ukuran sel kecil sekitar 0,5-1,0 μm kali 2,0-5,0 μm , dimana setiap selnya hanya dapat dilihat dari tiga bentuk dasar yaitu bentuk bulat (*coccus*), bentuk batang (*bassil*), bentuk spiral (*spirillum*) (Rifqianingrum, 2010). Bakteri merupakan organisme golongan prokariotik tidak memiliki inti. Bakteri memiliki informasi genetik berupa DNA, tidak terlokasikan di dalam nukleus (Harniza, 2009).

Dinding sel bakteri merupakan struktur sel yang dapat memberikan bentuk sel, dan terletak dibawah substansi ekstraseluler seperti kapsul atau lendir yang terelatk di luar membran sitoplasma. Dinding sel pada bakteri sangat penting dalam pertumbuhan dan pembelahan. Dinding sel bakteri mengandung molekul kompleks yaitu peptidoglikan (Pelczar & Chan, 2008). Peptidoglikan berfungsi untuk mencegah terjadinya lisis osmosis (Hadioetomo, 1993). Bakteri digolongkan menjadi dua kelompok yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel dengan lapisan peptidoglikan yang tebal. Sedangkan bakteri Gram negatif memiliki lapisan luar yaitu lipopolisakarida yang terdiri dari membran dan lapisan peptidoglikan yang tipis terletak pada periplasma antara lapisan luar dan membran sitoplasma (Volk & Wheeler, 1986).

Membran sitoplasma terletak dibagian dalam dinding sel. Membran sel adalah membran selektif permeabel yang menentukan masuk keluarnya substansi kimiawi dalam larutan. Membran sel berfungsi untuk aktivitas transportasi solut, tranfer elektron dari respirasi ke fotosintetik, penghasil gradien elektrokimiam, sintesis ATP, biosintesis lipid dan dinding sel, sekresi protein, sinyal dan respon terhadap lingkungan (Purwoko, 2007).

Pertumbuhan mikroorganisme dapat diklasifikasikan menjadi tiga kelompok berdasarkan suhu pada pertumbuhannya: a) Psikofil (bakteri dapat hidup di daerah dingin) tumbuh baik pada suhu dibawah 20⁰C, kisaran suhu optimal adalah yaitu 10⁰C sampai 20⁰C; b) Mesofil (bakteri dapat hidup pada suhu sedang) mempunyai suhu pertumbuhan optimal

lambatnya degradasi suatu cemaran yaitu aktivitas mikroba, nutrisi, pH dan faktor lingkungan (Hardani, *et al.*, 2016). Teknologi bioremediasi dikembangkan untuk mengatasi pencemaran lingkungan. Bioremediasi adalah suatu teknik dengan memanfaatkan mikroorganisme seperti bakteri untuk mendegradasi pencemaran suatu lingkungan (Umami, 2011).

Bakteri yang diisolasi di wilayah yang tercemar logam berat Pb memiliki daya resisten terhadap logam berat Pb. Resistensi bakteri terhadap logam Pb dapat dilakukan melalui mekanisme biosorpsi atau bioakumulasi (Fahrudin, *et al.*, 2019). Bioakumulasi itu sendiri adalah proses dimana memanfaatkan mikroba untuk mengakumulasi zat-zat kimia seperti logam berat yang mencemari lingkungan untuk menjadikan lingkungan ke tingkat yang lebih aman (Diliyana, 2008). Prinsip bioakumulasi sendiri adalah mengikat ion-ion logam pada dinding sel bakteri (Rohma, 2017).

Pengikatan ion-ion logam berat yang dilakukan oleh bakteri dapat dipisahkan menjadi fase pengikat transport aktif yaitu absorpsi melalui dinding sel atau permukaan eksternal, kemudian diikuti dengan transport aktif yang tergantung pada metabolisme sel. Pada proses metabolisme logam berat dapat terakumulasi pada membran sel (ekstraseluler) dan pada sitoplasma (intraseluler) (Umami, 2011).

Akumulasi ekstraseluler sel bakteri terjadi saat proses pengikatan ion-ion logam oleh polimer ekstraseluler atau polisakarida ekstraseluler yang dihasilkan oleh sel bakteri dan terjadi komplikasi antara ion-ion logam yang bermuatan positif dan sisi reaktif permukaan sel yang bermuatan negatif. Sedangkan akumulasi intraseluler merupakan proses

difusi yang tidak membutuhkan aktifitas bakteri secara langsung, dimana gen-gen yang mengendalikan adalah plasmid dalam proses metabolisme (Umami, 2011).

Kemampuan mengakumulasi bakteri terhadap logam berat logam berat disebabkan adanya kemampuan bakteri dalam menurunkan logam berat atau bahkan menghilangkannya, cara yang dilakukan adalah sebagai berikut :

- a. Bakteri mengeluarkan cairan ekstraseluler yang nantinya merespon logam berat kemudian logam berat diendapkan disekeliling sel dalam bentuk molekul organik (Suriawira, 1993).
- b. Logam berat kemudian masuk ke dalam metabolisme sel bakteri dan mengalami proses biotransformasi destruksi (perubahan senyawa kimia oleh enzim) berupa reaksi dan kemudian membentuk molekul organik (Brock, *et al.*, 1991). Proses pada biotransformasi terjadi karena kemampuan bakteri dalam mensintesis enzim adaptif yang mengkatalis reaksi biotransformasi tersebut (Suriawira, 1993).
- c. Penyerapan logam berat oleh bakteri, terdapat dua jenis penyerapan logam berat yaitu, penyerapan logam yang tidak tergantung pada metabolisme (*metabolism independent*) yang terjadi pada permukaan sel dan penyerapan logam tergantung pada metabolisme (*metabolism dependent*) yang menyebabkan terakumulasinya logam didalam sel (Suriawira, 1993).

pembuangan limbah lumpur ke sungai Porong (Gambar 3.1) dimana teknik pengambilan sampel mempunyai pertimbangan tertentu yang dilakukan oleh peneliti (Furqon, 2002). Pemilihan titik berdasarkan adanya arus aliran limbah lumpur Lapindo. Sampel air diambil dengan menggunakan botol kaca steril pada permukaan air sungai. Sedangkan sampel sedimen diambil menggunakan alat *grab sampler*. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam plastik steril dengan menggunakan spatula steril. Selanjutnya sampel air dan sedimen disimpan didalam *ice box* dan dibawa ke laboratorium untuk diidentifikasi. Setiap titik lokasi pengambilan diukur pH menggunakan *pH meter* dan suhu menggunakan *thermometer*.

3.4.2 Pembuatan Media

Media NA ditimbang sebanyak 4 gram, dimasukkan ke dalam erlenmeyer, lalu ditambahkan *aquades* sebanyak 200 ml, kemudian erlenmeyer ditutup menggunakan kapas dan *aluminium foil*. Media kemudian dipanaskan di atas *hot plate*, hingga media homogen. Selanjutnya media NA disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰C. Setelah disterilkan dengan autoklaf media NA ditambahkan logam Pb(NO)₃ dengan konsentrasi 10 ppm kemudian dituangkan ke dalam cawan petri lalu ditunggu hingga memadat.

3.4.3 Sterilisasi Alat dan Media

Alat-alat yang terbuat dari kaca sebelumnya dibungkus menggunakan kertas bekas dan diletakkan ke dalam plastik tahan

panas. Media yang akan disterilisasikan media NA dan media untuk uji biokimia meliputi; Glukosa, Laktosa, Sukrosa, Maltosa, Manitol, *Methyl Red* (MR), *Voges Proskauer* (VP), MIO, *Urease Base*, serta tabung reaksi dan blue tip. Media yang digunakan untuk penelitian dihomogenkan diatas hotplate kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf untuk di sterilisasi selama 15 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm.

3.4.4 Pengukuran Sampel dengan AAS

Perlakuan terhadap sampel air untuk di uji kandungan logam berat Pb, sampel air yang sudah diambil kemudian di masukkan ke dalam botol kaca steril, selanjutnya ditambahkan larutan HNO_3 pekat sebanyak 0,75 ml (15 tetes) (Hidayati, *et al.*, 2014).

Sampel sedimen ditimbang sebanyak 10 gram dan kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama ± 6 jam sampai diperoleh berat konstan. Sampel sedimen yang telah kering digerus kemudian di ayak. Sampel yang sudah halus ditimbang sebanyak 0,2 gram kemudian dibasahi dengan 1 ml akuabides dan ditambahkan dengan 10 ml HNO_3 dengan konsentrasi 65%. Selanjutnya sampel dipanaskan pada suhu 100°C hingga mendidih dan ditambahkan 15 ml HNO_3 65%, kemudian sampel dipanaskan pada suhu 120°C sampai warna sedimen berubah menjadi lebih muda, sampel tidak boleh sampai kering. Larutan sampel ditambahkan 1 ml HNO_3 65% dan ditambahkan sedikit akuabides kemudian dipanaskan. Sampel kemudian disaring ke dalam erlenmeyer 50 ml, filtratnya diencerkan

dengan aquabides sampai tanda batas dan dianalisis menggunakan AAS (Fitriani, et al., 2014).

3.4.5 Isolasi dan Pemurnian Bakteri

Sampel sedimen ditimbang sebanyak 5 gr dan diencerkan dengan aquades steril sebanyak 10 ml, dihomogenkan menggunakan *vortex* sehingga didapatkan pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya sampel diambil 1 ml dari pengenceran 10^{-1} ditambahkan kedalam tabung reaksi yang berisikan 9 ml aquades steril sehingga didapatkan pengenceran 10^{-2} , diambil 1 ml dari pengenceran 10^{-2} ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades steril sehingga didapatkan pengenceran 10^{-3} . Pengenceran pada tahap ini dilakukan secara bertingkat yaitu 10^{-1} sampai 10^{-4} . Pengenceran 10^{-1} sampai pengenceran 10^{-4} diinokulasikan pada media NA yang telah ditambahkan larutan $Pb(NO)_3$ 10 ppm dengan *metode spread plate*, lalu diinkubasikan dalam inkubator pada suhu $37^{\circ}C$ selama 24-48 jam, kemudian diamati koloni yang tumbuh (Junopia, 2015).

Koloni tunggal yang sudah tumbuh kemudian dimurnikan kembali menggunakan metode *streak plate*. Isolat bakteri diambil secara aseptis dengan jarum ose yang sebelumnya sudah di lintaskan pada api bunsen, kemudian diinokulasikan ke permukaan media NA yang mengandung $Pb(NO)_3$ 10 ppm, kemudian diinkubasi pada suhu $37^{\circ}C$ selama 24 jam (Rohma, 2017).

dan didiamkan selama 30-45 detik. Selanjutnya preparat dicuci dengan menggunakan air mengalir. Preparat ditetesi safranin dan diratakan, selanjutnya preparat didiamkan selama 1 menit dan dicuci menggunakan air mengalir. Preparat ditunggu hingga mengering kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x dan ditetesi minyak emersi. Uji pewarnaan gram, hasil positif ditandai dengan adanya warna ungu pada bakteri dan negatif ditandai dengan adanya warna merah (Hadioetomo, 1993).

2) Uji Biokimia

Uji biokimia yang digunakan pada penelitian ini meliputi: Uji Indol, Uji Motilitas, Uji MR VP, Uji Urea, Uji TSIA, Uji Gula-Gula dan Sitrat.

a) Uji Indol

Isolat bakteri dari kultur murni diambil 1 ose dan diinokulasi pada media MIO (*Motility Indol Ornithin*) dengan ditusukan isolat bakteri pada media secara lurus dan tepat ditengah. Media kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam, lalu diamati. Selanjutnya media ditetesi 4 tetes reagen *Kova'c* dan didiamkan selama 20-60 menit untuk mengetahui Uji Indol dan Ornithin. Kemudian diamati, hasil positif pada uji ini; Motil (+) : adanya koloni yang menyebar

kondisi tersebut, pemerintah mengambil keputusan untuk mengalirkan limbah limbah ke Sungai Porong, Sidoarjo.

Rohma (2017) juga menjelaskan bahwa kandungan logam berat Pb pada lumpur Lapindo mengandung logam berat Pb dengan konsentrasi 22,88 ppm. Sehingga tidak menutup kemungkinan limbah lumpur Lapindo yang dialirkan disungai Porong mengandung logam berat Pb. Penelitian Putra (2015) juga menemukan kandungan logam berat Pb pada mangrove di kawasan muara sungai Porong Desa Kedungpandan Sidoarjo di titik pecahan aliran sungai porong dengan konsentrasi logam Pb pada air sekitar 0,018-0,035 ppm dan pada sedimen sekitar 1,879-2,733 ppm. Sedangkan penelitian Harlyan (2015) kandungan logam berat Pb pada ekosistem mangrove di wilayah sungai Porong Sidoarjo pada air kurang dari 0,0044 mg/L dan kandungan logam berat Pb pada sedimen permukaan adalah 0,0648 mg/L.

Kandungan logam berat Pb pada sedimen sungai Porong menunjukkan lebih tinggi dari pada di air, hal ini kerana akumulasi logam berat Pb pada sedimen terjadi proses penumpukan di dasar perairan. Sedangkan pada air, logam berat Pb memungkinkan masih bisa mengalir bebas akibat dari pengaruh arus dan pasang surut perairan (Amriarni, *et al.*, 2012). Menurut Bangun (2005) logam berat memiliki sifat yaitu mudah mengikat bahan anorganik yang nantinya mengendap ke dasar perairan dan bercampur dengan sedimen.

Dari hasil penelitian dari masing-masing titik sampling mempunyai kadar logam berat Pb yang berbeda-beda. Kadar Pb pada titik 2 lebih

tinggi dari pada titik 1. Titik 2 lokasinya berada di aliran limbah menuju muara sungai dengan posisi pipa pembuangan lebih mengarah ke bagian tengah dan terkena aliran limbah. Sedangkan pada titik 1 berlokasi ditepi sungai yang berjarak jauh dari pipa. Faktor suhu dan pH juga mempengaruhi kadar logam Pb pada setiap titik lokasi.

Hasil pengukuran suhu pada titik 1 yaitu 29°C sedangkan di titik 2 yaitu 30°C . Hal ini menunjukkan bahwa pada titik lokasi 2 suhunya lebih tinggi dari pada titik 1. Pada titik 2 mempunyai kadar logam Pb lebih tinggi dari pada titik 1 karena mempunyai suhu lebih tinggi. Menurut Rohma (2017) semakin tinggi suhu pada suatu lokasi maka kadar logam Pb juga semakin tinggi. Menurut Vogel (1990) suhu berpengaruh terhadap proses kelarutan logam berat yang masuk ke dalam perairan. Semakin tinggi nilai suhu di perairan maka semakin tinggi pula kelarutan logam berat didalam perairan. Hal ini karena pengaruh suhu terhadap terjadinya kekuatan ion Pb. Selain suhu pH juga berpengaruh terhadap kelarutan logam berat Pb. Menurut Pelczar and Chan (2008) berdasarkan suhu pertumbuhan bakteri dapat dibagi menjadi bakteri psikofilik, mesofilik dan termofilik. Bakteri psikofilik mampu bertahan hidup pada suhu 15°C , bakteri mesofilik dapat bertahan hidup pada suhu $25-40^{\circ}\text{C}$, dan bakteri termofilik dapat bertahan hidup pada suhu tinggi yaitu $40-50^{\circ}\text{C}$.

Hasil pengukuran nilai pH pada penelitian ini bahwa titik 1 sebesar 7 dan pada titik 2 sebesar 8. Berdasarkan hasil pengukuran bahwa dititik 2 memiliki nilai kadar logam Pb yang tinggi, hal ini karena pH dititik 2 bersifat basah. Menurut Suwanto (2014) bahwa apabila kondisi pH

mendekati bersifat basa, kelarutan logam berat relatif stabil dan akan berikatan dengan anion sehingga logam berat tersebut akan membentuk logam organik dan anorganik yang mengendap didasar perairan. Pendapat tersebut diperkuat oleh Rochyatun (2003) bahwa pada nilai pH basa, logam berat sukar larut dan akan mengendap di dasar perairan.

4.2 Isolasi Bakteri Tahan Logam Pb

Pengambilan sampel dilakukan pada 2 titik yang berbeda di sungai Porong, Sidoarjo yang didalamnya terkandung logam berat Pb. Pada penelitian ini metode isolasi yang digunakan yaitu metode *spread plate*. Penggunaan metode ini bertujuan untuk menumbuhkan bakteri pada cawan petri yang berisi media padat. Media yang digunakan yaitu media NA (*Nutrient Agar*) yang merupakan media umum untuk pertumbuhan bakteri. Isolat bakteri agar yang tumbuh hanya resisten pada logam berat Pb maka media NA ditambahkan larutan logam berat Pb dengan konsentrasi 10 ppm. Bakteri dimurnikan dengan metode 16 *streak plate* dengan goresan bertingkat untuk mempermudah pemisahan tiap koloni yang nantinya didapatkan koloni tunggal.

Hasil penelitian didapatkan 6 isolat dengan kode sesuai sampel dimasing-masing titik. Pengenceran 10^{-2} didapatkan isolat bakteri pada sampel air di titik 1 yaitu A1B1, sedangkan sampel sedimen pada pengenceran 10^{-2} yaitu isolat S1B2 dan S1B3. Pengenceran 10^{-2} didapatkan isolat bakteri pada sampel air di titik 2 yaitu isolat A2B1 dan A2B2, sedangkan pengenceran 10^{-2} pada sampel sedimen yaitu isolat S2B3 (Gambar 4.1). Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Fahrudin

4.3.1 Pengamatan Makroskopik

Morfologi isolat bakteri berdasarkan karakteristiknya meliputi warna, bentuk, ukuran, tepi koloni, dan sudut elevasi pada cawan petri. Berdasarkan hasil penelitian koloni bakteri menunjukkan karakteristik yang berbeda-beda antara isolat satu dengan isolat lainnya.

Isolat bakteri A1B1 dan A2B1 memiliki karakteristik sama yaitu sudut elevasinya *raised*, berwarna putih dan isolat A1B1 berukuran besar sedangkan isolat A2B1 berukuran sedang. Isolat S1B2 dan A2B2 memiliki karakteristik yang sama pada bentuk yaitu *circular*, tepi *entire*, berwarna kuning, dan *elevasi raised* tetapi ukuran kedua bakteri berbeda yaitu isolat S1B2 memiliki ukuran *small* dan sedangkan isolat A2B2 memiliki ukuran sedang. Isolat S1B3 dan S2B3 memiliki ukuran sedang, bentuk *circular*, elevasi *flat* dan warna yang sama yaitu putih, tetapi pada tepi berbeda yaitu isolat S1B3 memiliki tepi *entire* sedangkan isolat S2B3 memiliki tepi *undulate* (Gambar 4.2).

Ukuran isolat bakteri yang terisolasi di lingkungan sungai Porong dikelompokkan menjadi 3 ukuran yaitu kecil (*small*), sedang, dan besar (*large*). Isolat bakteri S1B2 memiliki ukuran kecil (*small*) dibandingkan dengan isolat lainnya. Berdasarkan dari segi warna, isolat bakteri dibedakan menjadi 2 kelompok yaitu putih dan kuning. Sedangkan berdasarkan bentuk dan juga tepi koloni yaitu bentuk *circular*, tepi *entire* dan *undulate*.

begeombang (*undulate*), dan benang (*filamentous*). Adapun sudut elevasi meliputi rata (*flat*), sedikit menonjol (*raised*), melengkung (*convex*) dan seperi bukit (*umbonate*).

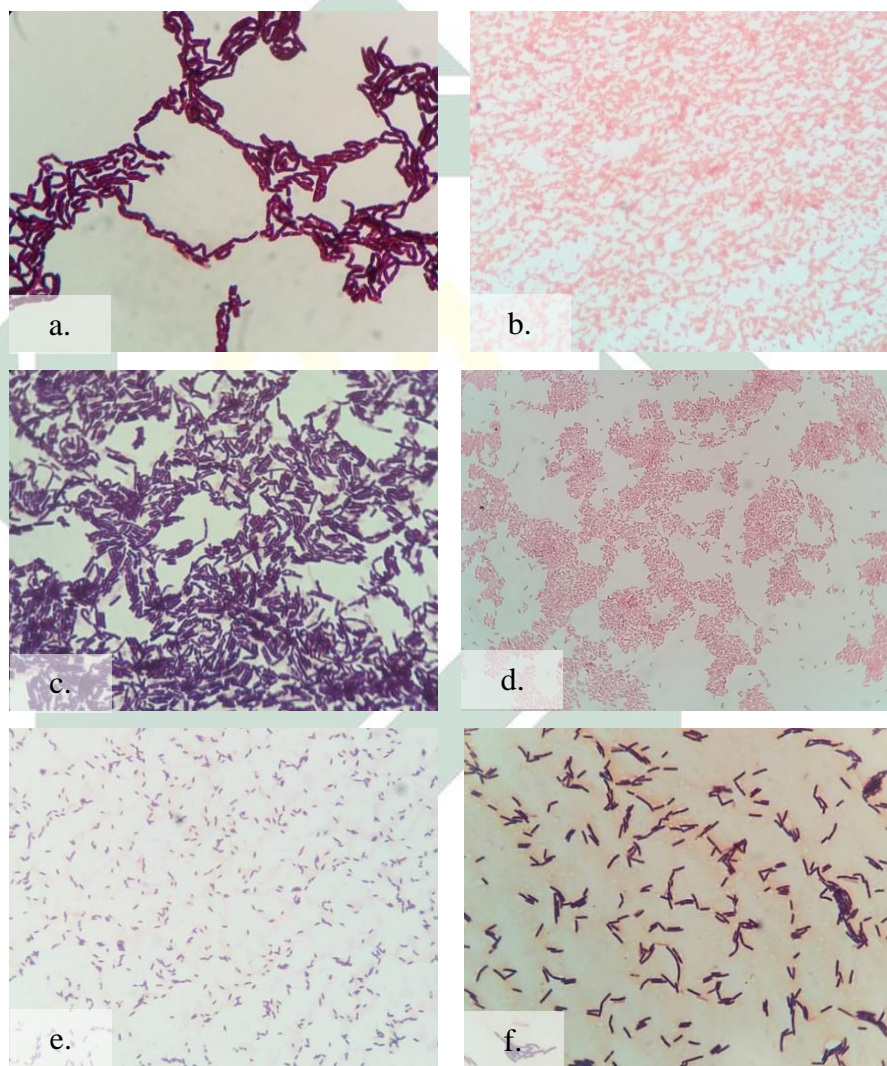
4.3.2 Pengamatan Mikroskopik

Pengamatan mikroskopik dilakukan dengan pewarnaan gram yang bertujuan untuk mengetahui bentuk sel dan kelompok bakteri yang terisolasi. Menurut (Lay, 1994) menyatakan bahwa pewarnaan gram bakteri bertujuan untuk menentukan karakter isolat bakteri berdasarkan pada perbedaan struktur dinding sel bakteri sehingga nantinya akan dikelompokkan menjadi 2 jenis bakteri, yaitu bakteri gram positif dan gram negatif.

Hasil pewarnaan gram bakteri yang memiliki ketahanan terhadap logam berat Pb menunjukkan bahwa terdapat isolat bakteri yang termasuk ke dalam bakteri gram negatif dan positif (Gambar 4.3). Menurut Hoyle dan Beveridge (1989) bahwa bakteri mampu resisten terhadap logam berat Pb dikarenakan permukaan dinding sel bakteri baik gram positif maupun bakteri gram negatif mempunyai ikatan anion sehingga logam berat akan mudah diserap.

Berdasarkan pewarnaan gram yang sudah didapatkan diketahui bahwa isolat bakteri resisten logam berat Pb memiliki kesamaan bentuk sel dan ada pula yang berbeda. Isolat A1B1, S1B3, A2B2 dan S2B3 termasuk gram positif dan memiliki bentuk sel bakteri batang. Isolat S1B2 termasuk gram negatif dan memiliki bentuk sel bakteri *coccobacillus*. Sedangkan isolat A2B1 termasuk bakteri gram negatif

dan memiliki bentuk sel bakteri batang. Perbedaan dari bentuk sel dari ke 6 isolat tersebut mengindikasikan bahwa kemungkinan besar setiap isolat bakteri memiliki jenis yang berbeda. Sebagaimana yang telah dinyatakan oleh Pelczer & Chan (2008) bahwa bakteri memiliki bentuk sel bervariasi, tergantung dari jenis kelompok bakteri itu sendiri.



Gambar 4. 3 Hasil Pewarnaan gram pada isolat bakteri perbesaran 1000x (a). Isolat A1B1; (b). S1B1; (c). S1B3; (d). A2B1; (e). A2B2; (f). A2B3.

Sumber : (Dokumentasi pribadi, 2020)

Perbedaan antara bakteri gram negatif dan bakteri gram positif sebagaimana dijelaskan oleh Lay (1994) dan Entjang (2003) bahwa

bakteri gram negatif memiliki peptidoglikan yang tipis yaitu (10-15 nm) dan kandungan lipid (*lipopolisakarida*) yang tinggi (11-22%). Kandungan lipid yang bersifat larut dalam aseton alkohol sehingga menyebabkan zat warna larutan kristal violet pada bakteri gram negatif tidak dapat dipertahankan, selanjutnya sel bakteri mengikat warna merah safranin sehingga sel bakteri berwarna merah pada saat pengamatan. Sedangkan bakteri gram positif memiliki peptidoglikan tebal yaitu (15-80 nm) dan kandungan lipid yang rendah (1-4%). Peptidoglikan yang lebih tebal ini dapat menyebabkan zat warna kristal violet dapat dipertahankan karena peptidoglikan bersifat tidak larut kedalam aseton alkohol.

Pewarnaan gram pada isolat bakteri memiliki sifat asam dan basa meliputi kristal violet, iodin, etanol 96%, dan larutan safranin. Pewarna kristal violet berfungsi untuk mewarnai seluruh permukaan sel. Iodin merupakan zat warna basa yang mengakibatkan adanya ikatan *CV/(mg-Ribonucleid acid-Crystal violet)* sehingga bakteri gram positif akan membentuk CV iodinribonukleat pada dinding selnya. Etanol merupakan zat warna asam yang akan menyebabkan pori-pori pada dinding sel bakteri memiliki banyak lipid sehingga ikatan CV iodinribonukleat akan terlepas dari permukaan sel bakteri gram negatif dan mengakibatkan sel bakteri menjadi bewarna kuning, sedangkan pada bakteri gram positif ikatan CV iodin tetap menempel pada dinding sel bakteri. Selanjutnya, larutan safranin berfungsi untuk pengontras saat pewarnaan sel bakteri. Bakteri gram

4.3.4 Penentuan Genus Bakteri Resisten Logam Pb

Hasil isolasi bakteri resisten logam berat Pb 10 ppm dari sampel air dan sedimen pada Sungai Porong Sidoarjo Jawa Timur didapatkan 6 isolat bakteri dengan hasil yang berbeda. Berdasarkan proses identifikasi yang mengacu pada buku *Bergey's Manual of Determination Bacteriology* dan *Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria 2nd Edition* (Brenner *et al.*, 1925; Breed *et al.*, 1957; Barrow & A, 1993) didapatkan 3 genus bakteri yaitu genus *Bacillus*, *Acinetobacter*, dan *Pseudomonas*. Pada beberapa penelitian juga didapatkan isolat bakteri resistensi terhadap logam berat Pb. Pada sampel sedimen di perairan sekitar rumah susun Kota Makasar didapatkan isolat bakteri yang termasuk ke dalam bakteri *Alcaligenes faecalis*, *Bacillus thuringiensis*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Anggraeni, 2017).

Penelitian oleh Marzan *et al.* (2017) dengan mengambil sampel tanah pertanian yang terkontaminasi logam berat Pb dari limbah industri di kota Chittagong, Bangladesh menemukan 3 isolat bakteri yaitu *Gemella*, *Micrococcus*, dan *Hafnia*. Bakteri resisten juga ditemukan di saluran pembuangan limbah industri di Kabupaten Gowa, didapatkan bakteri dari genus *Bacillus* dan *Pseudomonas* (Hasyimuddin, *et al.*, 2018). Selain itu, penelitian Junopia (2015) menemukan bakteri resistensi terhadap logam berat Pb di danau Tempe Kabupaten Wajo Sulawesi Selatan dari spesies *Pseudomonas*

S1B2 menunjukkan bahwa isolat termasuk dalam bakteri gram negatif berbentuk *coccobacillus*, nonmotil, hasil uji sitrat positif, uji urease positif.

Menurut Cowan and Stell (1993) dalam buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 2nd* hasil pengamatan tersebut memiliki kesamaan dengan bakteri genus *Acinetobacter* yang berbentuk *coccobacillus* atau batang pendek, gram negatif dan bersifat nonmotil (Holt, 1994; Buchanan & Gibbons, 1970).

Genus *Acinetobacter* dapat bersifat aerobik, non motil dan tidak dapat memfermentasikan glukosa, sukrosa, laktosa, manitol, dan juga maltosa (Barrow & A, 1993). Forbes *et al.* (2007) menyatakan bahwa genus *Acinetobacter* pada uji urease positif mampu memproduksi enzim urease. Selain itu pernyataan oleh Tauran *et al.* (2013) bahwa bakteri dari genus *Acinetobacter* bersifat positif pada uji sitrat, uji H₂S negatif, uji indol negatif, uji ornithin negatif, dan juga uji VP negatif. Adapun klasifikasi dari genus *Acinetobacter* yaitu sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Filum : Protobacteria
Kelas : Gammaproteobacteria
Ordo : Pseudomonadales
Family : Moraxellaceae
Genus : *Acinetobacter* (Holt, 1994)

4.4 Potensi Bakteri Toleran Sebagai Bioremediasi

Bakteri diisolasi di wilayah yang tercemar logam berat Pb memiliki daya resisten terhadap logam berat Pb. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat 3 bakteri dari genus yang berbeda, yaitu genus *Bacillus*, *Acinetobacter*, dan *Pseudomonas*. Hasil penelitian terdahulu membuktikan bahwa, kelompok bakteri Gram negatif berbentuk *coccobacillus* atau *coccus* yang resisten terhadap logam berat Pb merupakan kelompok bakteri dari genus *Acinetobacter*, *Phenylobacterium*, dan *Morococcus*, sedangkan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang (*bacill*) berasal dari genus *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, dan *Xanthobacter* (El-Sayed, 2016; Hussein *et al.*, 2004; Wulandari *et al.*, 2005).

Bakteri yang memiliki resisten terhadap logam berat Pb dapat digunakan sebagai agen bioremediasi yang diisolasi dari lingkungan yang terkontaminasi logam berat Pb (Arrizal *et al.*, 2013). Lingkungan yang memungkinkan ditemukan adanya bakteri resisten terhadap logam Pb tersebut bisa ditemukan di tanah dan perairan. Hal tersebut berdasarkan penelitian Zulaika *et al.* (2012) juga menemukan bakteri resisten logam berat Pb, hasilnya menunjukkan bahwa bakteri dari kelompok Gram positif selnya berbentuk batang, bakteri tersebut dari genus *Bacillus*. Sedangkan penelitian oleh Widiatmono, *et al.* (2020) menemukan bakteri sebagai bioremediasi logam berat timbal (Pb) pada tanah tercemar air lindi di TPA supit Urang Kota Malang, bakteri yang ditemukan yaitu bakteri

Gram positif yang memiliki bentuk sel *streptobacil* yang termasuk dari genus *Bacillus*.

Hasyimuddin, (2018) bahwa menemukan bakteri dari genus *Bacillus* dan *Pseudomonas* yang resisten dan mampu mengakumulasi logam Pb pada tanah saluran pembuangan limbah industri di Kabupaten Gowa. Penurunan konsentrasi Pb tertinggi pada isolat 5mPB dari genus *Bacillus* sebesar 11 mg/L sedangkan penurunan terendah terdapat pada isolat 1mTR dari genus *Bacillus* dan 5mTR dari genus *Pseudomonas* sebesar 7 mg/L. Penelitian lainnya yang pernah dilakukan identifikasi bakteri yang resisten terhadap logam berat Pb ditemukan di danau Tempe Kabupaten Wajo Sulawesi Selatan yaitu dari spesies *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri tersebut mampu mendegradasi logam berat Pb dari konsentrasi 1 ppm menjadi 0,45 ppm (Junopia, 2015).

Sedangkan hasil penelitian Rohma (2017) bahwa menemukan bakteri yang mampu hidup di lumpur Lapindo yang mengandung logam berat Pb dan mampu menurunkan kandungan logam berat Pb di 3 titik pengambilan sampel. Bakteri ditemukan tersebut di bak penampungan yakni dari spesies *Acinetobacter baumani* dengan persentase 77,2% dan spesies *Bacillus subtilis* dengan persentase 93%, titik berikutnya di pipa saluran pembuangan dari spesies *Brevibacillus laterosporus* dengan persentase 69,2%, titik terakhir di dekat pusat semburan lumpur dari spesies *Pseudomonas pseudomallei* dengan persentase 86,13%. Menurut Hughes & Rolle (1989) bakteri Gram negatif umumnya menunjukkan toleransi lebih tinggi terhadap logam berat, hal ini karena bakteri Gram

- Ancol, Teluk Jakarta. *Skripsi*. Fakultas perikanan Dan Ilmu Kelautan. Intitut Pertanian Bogor.
- Barrow, G. & A, F. R., 1993. *Cowan and Steel's Manual for The Identification of Medical Bacteria*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Breed, R., Murray, E. & R.S, N., 1957. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 7th ed penyunt. USA: The Williams & Wilkins Company.
- Brenner, D., Krieg, N. & J.T, S., 1925. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd penyunt. USA(Department of Microbiology and Molecular Genetics Michigan State University): s.n.
- Brock, T., M.T, M., J.M, M. & J, P., 1991. *Biology Of Mikroorganisms*, Seventh Edition. *Prentice-Hall Internasional, Inc, Wisconsin*.
- Buchanan, R. & Gibbons, N., 1970. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. s.l.:William's and Wilkins Company.
- Cappuccino, J. G. & Sherman, N., 1987. *Microbiology*. 4th ed penyunt. Redwood City: The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.
- Chojnacka, K., 2010. Biosorption and Bioaccumulation - the prospects for practical applications. *Environment International*, 36(3), pp. 299-307.
- Cote, C., Heffron, J., Bozue, J. & Susan, L., 2015. *Bacillus anthracis and Other Bacillus Species*, Molecular Medical Microbiology: Second Edition. *USAMRIC*.
- Cowan, 1993. *Cowan and Steel's Manual for The Identification of Medical Bacteria*. Third Edit penyunt. Cambridge: Cambridge University Press.
- Dadag, E. & Sukoso, 2015. Isolation and Characterization of A3 and S3 Isolate Thermophilic Bacteria from Lapindo Sidoarjo Mud, East Java. *International Journal of ChemTech Research*, 8(2), pp. 541-548.
- Darmono, 2001. *Lingkungan Hidup dan Pencemaran: Hubungan dengan Toksikologi Senyawa Logam*. Jakarta: UI Press.
- Diliyana, Y. F., 2008. Studi Kandungan Merkuri (Hg) Pada Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) Di Tambak Sekitar Perairan Rejoso Kaupaten Pasuruan. *Skripsi*. Universitas Hasanuddin Mksar.
- Dwidjoseputro, D., 1989. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Surabaya: Djambatan.
- Effendi, H., 2003. *Telaah Kualitas Air*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- El-Sayed, M., 2016. Multiple Heavy Metal and Antibiotic Resistance of *Acinetobacter baumannii* Strain HAF – 13 Isolated from Industrial Effluents. *American Journal of Microbiological Research*, 4(1), pp. 26-36.
- Entjang, I., 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi*. Bandung: PT. Citra Aditya Bakti.

- Fahrudin, N. H., Slamet, S. & S. W., 2019. Uji Kemampuan Tumbuh Isolat Bakteri dari Air dan Sedimen Sungai Tallo Terhadap Logam Timbal (Pb). *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*, 10(2), pp. 58-64.
- Farida, A., 2013. Jalan Panjang Penyelesaian Konflik Kasus Lumpur Lapindo. *Jurnal Ilmu sosial dan Ilmu Politik*, 17(2), pp. 144-162.
- Fitriani, A., Sulfikar & Dini, I., 2014. Analisis Kandungan Logam Timbal (Pb) pada Sedimen dan Udang Windu (*Penaeus monodon*) di Pantai Biringkassi Kecamatan Bungoro Kabupaten Pangkep. *Sainsmat*, III(2), pp. 191-202.
- Fobes, S. & Weissfeld, 2007. *Bailey & Scoot's Diagnostic Microbiology*. St. Louis, Mo: Mosby, Inc.
- Gurave, N. A., Korde, V. V., Dhas, . S. S. & Disale, M., 2015. Isolation and identification of heavy metal resistant bacteria from petroleum soil of Loni, Ahmednagar. *European Journal of Experimental Biology*, 5(12), pp. 6-11.
- Hadioetomo, R., 1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek: Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Hafsan, S., 2014. Penuntun Praktikum Mikrobiologi Dasar. *Universitas Alaudin Press*.
- Hardani, H., Kardiansyah, T. & Sugesty, S., 2016. Bioremediasi Logam Timbal (Pb) Dalam Tanah Terkontaminasi Limbah Sludge Industri Kertas Proses Deinking. *Jurnal Selulosa*, Juni, 1(1), pp. 31-41.
- Hardiani, H., Teddy, K. & Susi, S., 2011. Bioremediasi Logam Timbal (Pb) Dalam Tanah Terkontaminasi Limbah Sludge Industri Kertas Proses Deinking. *Balai Besar Pulp dan Kertas*.
- Harlyan, L. i. & Sari, S. H. J., 2015. Konsentrasi Logam Berat Pb, Cu, dan Zn Pada Air dan Sedimen Permukaan Ekosistem Mangrove di Muara Sungai Porong, Sidoarjo, Jawa Timur. *Perikanan Dan Kelautan*, 20(1), pp. 53-60.
- Harniza, Y., 2009. Pola Resistensi Bakteri yang Diisolasi dari Bangsal Bedah Rumah Sakit Umum Pusat Nasional Cipto Mangunkusumo. *Skripsi*. Universitas Indonesia. Depok.
- Hassen, A., Saidi & M. Cherif, A., 1998. Resistance of Environmental Bacteria to Heavy Metals. *Bioresource Technology*, 7(15).
- Hasyimuddin, Nur, F. & I., 2018. Isolasi Bakteri Pengakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) pada Saluran Pembuangan Limbah Industri di Kabupaten Gowa. *Biotropic The Journal of Tropical Biology*, 2(2), pp. 126-132.
- Hendrawan, D., 2010. Kualitas Air Sungai Dan Situ Di Dki Jakarta. *Makara of Technology Series*, 9(1), pp. 13-19.

- Herawati, N., 2007. Analisis Risiko Lingkungan Aliran Air Lumpur Lapindo ke Badan Air. *Thesis*. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Herlambang, A. & Pangkajian, B., 2006. Pencemaran Air Dan Strategi Penanggulangannya. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 2(1).
- Hidayati, E. N., Alauhdin, M. & Prasetya, A. T., 2014. Perbandingan Metode Destruksi Pada Analisa Pb Dalam Rambut Dengan AAS. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 3(1).
- Holguin, G., Vazquez, P. & Bashan, Y., 2001. The Role of Sediment Microorganisms in The Productivity, Conservation, and Rehabilitation of Mangrove Ecosystems. *Biology and Fertility of Soils*, 33(4), pp. 265-278.
- Holt, e. a., 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriologi*. 9th penyunt. USA: Williams and Wilkins Baltimore.
- Hoyle, M. & R.K, P., 1989. Metal and Microorganism. *Chapman and Hall*.
- Hughes, M. & Rolle, R., 1989. *Metals and Micro-organism*, p.277. London: Chapman & Hall.
- Husseuin, H., Ibrahim, S., Kendeel, K. & Moawa, H., 2004. Biosorption of Heavy Metals From Waste Water using *Pseudomonas* sp.. *J. Biotechnol*, 7(1).
- Hutagulung, 1996. Inventariasi dan Evaluasi Lingkungan Pesisir. *Pusat Penelitian Dan Pengembangan Oseanologi*.
- Ika, I., Tahril, T. & Said, I., 2012. Analisis Logam Timbal (Pb) dan Besi (Fe) Dalam Air Laut Di Wilayah Pesisir Pelabuhan Ferry Taipa Kecamatan Palu Utara (The Analysis of Lead (Pb) and Iron (Fe) Metals in The Sea Water of Coastal Area of Taipaâs Ferry Harbor Subdistrict of North Palu). *Jurnal Akademika Kimia*, 1(4), pp. 181-186.
- Jarostawiecka, A., Zofia, P. & Seget, 2014. Lead Resistance in Microorganism. Volume 160, pp. 12-25.
- Jumani, 2011. Hubungan Perilaku Pengguna Air Sumur dengan Keluhan Kesehatan dan Pemeriksaan Kualitas Air Sumur Pada Pondok Pesantren di Kota Dumai. *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara.
- Junopia, A. C., 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Logam Timbal (Pb) Yang Bersumber Dari Danau Tempe Kabupaten Wajo Sulawesi Selatan. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Alauddin. Makasar.
- Kementerian Lingkungan Hidup Republik Indonesia, 2004. Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Republik Indonesia Nomor 5.

- Khoiroh, Z., 2014. Bioremediasi Logam Berat Timbal (Pb) Dalam Lumpur Lapindo Menggunakan Campuran Bakteri (*Pseudomonas pseudomallei* dan *Pseudomonas aeruginosa*). *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Kurniasari, R., 2005. Pengaruh Logam Berat Terhadap Pertumbuhan Mikroorganisme Pendegradasi Minyak Diesel. *Thesis*. IPB. Bogor.
- Lay, B., 1994. *Analisis Mikrobiologi Dan Laboratorium*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Lewaru, S., Riyantini, I. & Mulyani, Y., 2012. Identifikasi Bakteri Indigenous Pereduksi Logam Berat Cr (VI) Dengan Metode Molekuler Di Sungai Cikijing Rancaekek, Jawa Barat. *Jurnal Perikanan dan Kelautan Unpad*, 3(4), pp. 81-92.
- MacFaddin, J., 1980. *Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria*. Second Ed penyunt. s.l.:Baltimore: Williams & Wilkins.
- Mahon, C., 2015. *Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5th penyunt. Philadelphia: Saunders Elsevier.
- Marzan, L. W. et al., 2017. Isolation and biochemical characterization of heavy-metal resistant bacteria from tannery effluent in Chittagong city, Bangladesh: Bioremediation viewpoint. *Egyptian Journal of Aquatic Research*.
- Mastang, 2016. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Pengakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) Pada Endapan Sedimen Kanal Sekitar Rumah Susun Kota Makasar. *Skripsi*. UIN Alauddin Makasar.
- Maulana, M. I. & Suprayitno, A. E., 2018. Uji Kelayakan Kandungan Unsur Air Tanah Daerah Terdampak Lapindo Kecamatan Porong Menggunakan XRF. *Inoteks*, 21(2), pp. 154-162.
- Naria, E., 2005. Mewaspada Dampak Bahan Pencemar Timbal (Pb) di Lingkungan Terhadap Kesehatan. *Jurnal Komunikasi Penelitian*, 17(4), pp. 66-72.
- Nath, A., Dutta, S. & Chowdhury, R., 2012. Micro and Macrokinetics of Di-auxic Microbial Growth in the Presence of Lactose and Glucose. Experimental and modeling. *World Congress on Biotechnology*.
- Nyabakken, 1992. *Biologi Laut*. Jakarta: Gramedia.
- Panuntun, M. S., 2014. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Toleran Timbal (Pb) dari Tanah Bekas Cetakan Pengecoran Logam di Desa Jeblokan, Kecamatan Ceper, Kabupaten Klaten. *Skripsi*. UIN Sunan Kalijaga.
- Parawita, D., Insafitri & Nugraha, W. A., 2009. Analisis Konsentrasi Logam Berat Timbal (Pb) Di Muara Sungai Porong. *Jurnal Kelautan*, 2(2), pp. 117-124.

- Pelczar, M. & Chan, E., 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: UI Press.
- Pradan, P., 2014. *Voges Proskauer Test (VP Test): Principle, Procedure, Interpretation and Quality Control*. [Online] Available at: <<https://microbeinfo.com>> [Diakses 15 Agustus 2020].
- Prescott, L., Harley, J. & Klein, D., 2005. *Microbiology*. New York: Mc.Graw-Hill.
- Priadie, B., 2012. Teknik Bioremediasi Sebagai Alternatif dalam Upaya pengendalian Pencemaran Air. *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 10(1).
- Purwoko, T., 2007. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Putra, R. V., 2015. Kandungan Logam Berat (Pb) Pada Mangrove *Avicennia alba* Di Kawasan Muara Porong Desa Kedungpandan Sidoarjo Jawa Timur. *Thesis*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Ranjani, Uday, T. J. & Babu, K. R., 2016. Heavy Metal Risk Assessment in Bhavanapadu Creek Using Three Potamidid Snails - *Telescopium telescopium*, *Cerithidea obtusa* and *Cerithidea cingulata*. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*, 6(4).
- Ratna, S., 2012. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*. Jakarta: PT. Gramedia.
- Rifqianingrum, M. A., 2010. Pengaruh Konsentrasi Tawas Terhadap Lisis Sel Bakteri untuk Melihat Kemampuan Merusak Dinding Sel Bakteri. *Thesis*. Universitas Muhammadiyah. Semarang.
- Rochyatun, E. E. & A, R., 2003. Kandungan Logam Berat Pb, Cd, Cu, Zn, Ni, Cr, Mn, dan Fe dalam Air Laut dan Sedimen di Perairan Kalimantan Timur. *Oseanologi dan Limnologi di Indonesia*, Volume 35, pp. 51-71.
- Rohma, N. S., 2017. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Yang Berpotensi Sebagai Agen Bioremediasi Timbal (Pb) Dari Lumpur Lapindo. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Sari, N., 2014. Isolasi dan Karakteristik Bakteri tanah di Kecamatan Pattallasang Kabupaten Gowa. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Alauddin Makasar.
- Shihab, Q., 2002. *Tafsir Al-Misbah: Pesan Kesan dan Keserasian Al-Qur'an/M. Quraish Shihab*. Volume 15 penyunt. Jakarta: Katalog Dalam Terbitan (KDT).
- Sugiyarto, H. K. & Suyanti, D. R., 2010. *Kimia Anorganik Logam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Sumardjo, D., 2009. *Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Sastra 1 Fakultas Bioeksakta*. Jakarta: EGC.

- Suprpto, S. J., Gunardi, R. & Ramli, Y. R., 2007. Geokimia Sebaran Unsur Logam Pada Endapan Lumpur Sidoarjo. *Buletin Sumber Daya Geologi*, Volume 2, pp. 4-13.
- Suriani, S., Soemono & Suharjo, 2013. Pengaruh Suhu dan pH Terhadap Laju Pertumbuhan 5 Isolat Bakteri Anggota Genus *Pseudomonas* yang Diisolasi dari Ekosistem Sungai Tercemar Deterjen di Sekitar Kampus Universitas Brawijaya. *J. Pal*, 3(2), pp. 59-60.
- Suriawira, U., 1993. Mikrobiologi Air Dan Dasar-Dasar Pengolahan Buangan Secara Biologis. *Penerbit Alumni*.
- Sutedjo, M., 1996. *Mikrobiologi Tanah*. Jakarta: PT. Rineka Cipta.
- Suwarto & Sarjani, E., 2014. Analisis Spasial Pencemaran Logam Berat Pada Sedimen dan Biota Air Di Muara Sungai. *Geoedukasi Volume*, III(1), pp. 30-37.
- Syahputra, R. F., 2016. Kajian Kerentanan Wilayah Pesisir terhadap Kenaikan Muka Air Laut Untuk Menentukan Upaya Adaptasi Dan Mitigasi Di Kabupaten Sidoarjo. *Thesis*. Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya.
- Tankeshwar, 2014. *Methyl Red (MR) Test: Principle, Procedure and Result*. [Online] Available at: <<https://microbeonline.com>> [Diakses 15 Agustus 2020].
- Tauran, P., Handayani, I. & N, S., 2013. Identifikasi Bakteri Aerob Gram Negatif dan Gram Positif Menggunakan Metode Konvensional dan Otomatik. *Indones. J. Clin. Phatol. Med. Lab*, 19(2), pp. 105-111.
- Umami, A., 2011. Isolasi Bakteri Pengakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) di Perairan Pelabuhan Paotere Makassar. *Skripsi*. Universitas Alauddin Makassar.
- Usman, E., S, M., Ranawijaya, D. & Hutagol, J. P., 2006. Paper Pendukung, Pembuangan Lumpur Porong-Sidoarjo ke Laut. *Simposium Nasional*.
- Vogel, 1990. *Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro*. Jakarta: PT. Kalman Media Pustaka.
- Volk, A. W. & Wheeler, M., 1986. *Mikrobiologi Dasar*. 5 penyunt. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Waluyo, L., 2005. *Mikrobiologi Lingkungan*. Malang: UMM Press.
- Widiatmono, B. R., Dewi, L. S. & Agustianingrum, R., 2020. Bioremediasi Logam Berat Timbal (Pb) Menggunakan Bakteri Indigenous Pada Tanah Tercemar Air Lindih (Leachate). *Jurnal Sumberdaya Alam dan Lingkungan*.
- Winda, L., 2013. Efektifitas Pemberian Soyghurt yang Mengandung Bakteri Asam Laktat Dalam Memperbaiki Kerusakan Jaringan Hati Mencit (*Mus Musculus L.*) yang Dipapar Timbal. *Thesis*, p. 9.

- Wulandari, S., Dewi, N. F. & Suwondo, 2005. Identifikasi Bakteri Pengikat Timbal (Pb) Pad Sedimen di Perairan Sungai Siak. *Jurnal Biogenesis*, 1(2), pp. 62-65.
- Wulan, S. P., Amin, B. & Thamrin, 2013. Konsentrasi, Distribusi dan Korelasi Logam Berat Pb, Cr dan Zn pada Air dan Sedimen di Perairan Sungai Siak sekitar Dermaga PT. Indah Kiat Pulp and Paper Perawang–Propinsi Riau. *Jurnal Kajian Lingkungan*, 1(01), pp. 72-92.
- Zarkasyi, H., 2008. Biosorpsi Logam Merkuri (Hg) Oleh *Bacillus megaterium* Asal Hilir Sungai Cisadane. *Skripsi*. UIN Jakarta.
- Zulaika, E., Arif, L., Tutut, A. & Umi, S., 2012. Bakteri resisten Logam Berat yang Berpotensi sebagai Biosorben dan Bioakumulator. *Seminar Nasional Waste Management for Sustainable Urban Development*.

