

**BIOAKUMULASI SELENIUM OLEH BAKTERI RESISTEN SELENIUM
YANG DIISOLASI DARI PANTAI UTARA (DESA CAMPUREJO
KECAMATAN PANCENG GRESIK)**

SKRIPSI

Oleh :

WAFIATUN AMALIA

NIM. 13620026



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI

MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2018

**BIOAKUMULASI SELENIUM OLEH BAKTERI RESISTEN SELENIUM
YANG DIISOLASI DARI PANTAI UTARA (DESA CAMPUREJO
KECAMATAN PANCENG GRESIK)**

SKRIPSI

Diajukan Kepada:

Fakultas Sains Dan Teknologi

Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan

dalam Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Oleh:

WAFIATUN AMALIA

NIM.13620026

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI

MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2018

**BIOAKUMULASI SELENIUM OLEH BAKTERI RESISTEN SELENIUM
YANG DIISOLASI DARI PANTAI UTARA (DESA CAMPUREJO
KECAMATAN PANCENG GRESIK)**

SKRIPSI

Oleh :

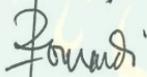
WAFIATUN AMALIA

NIM. 13620026

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:

Tanggal:

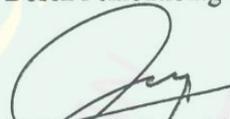
Dosen Pembimbing I,



Romaidi, M.Si.,D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019

Dosen Pembimbing II,



M. Mukhlis Fahrudin, M.Si

NIPT. 201402011409

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M.Si.,D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019

**BIOAKUMULASI SELENIUM OLEH BAKTERI RESISTEN SELENIUM
YANG DIISOLASI DARI PANTAI UTARA (DESA CAMPUREJO
KECAMATAN PANCENG GRESIK)**

SKRIPSI

Oleh :

WAFIATUN AMALIA

NIM. 13620026

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

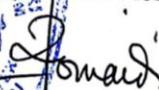
Tanggal:

Penguji Utama	<u>Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si</u> NIP. 19650509 199903 2 002	
Ketua Penguji	<u>Prilya Dewi Fitriyani, M.Sc</u> NIDT. 19900428 20160801 2 062	
Sekretaris Penguji	<u>Romaidi, M.Si.,D.Sc</u> NIP. 19810201 200901 1 019	
Anggota Penguji	<u>M. Mukhlis Fahrudin, M.Si</u> NIPT. 201402011409	



Mengesahkan,

Ketua Jurusan Biologi


Romaidi, M.Si.,D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019

PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Wafiatun Amalia

NIM : 13620026

Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi

Judul Penelitian : Bioakumulasi Selenium Oleh Bakteri Resisten Selenium yang Diisolasi dari Pantai Utara (Desa Campurejo Kecamatan Panceng Gresik).

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali secara tertulis dikutip dalam naskah dan disebutkan dalam sumber kutipan atau daftar pustaka. Apabila pernyataan hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur penjiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 28 Desember 2017

Yang Membuat Pernyataan



Amalia

Wafiatun Amalia

NIM.13620026

MOTTO

وَأَنْ لَّيْسَ لِلْإِنْسَانِ إِلَّا مَا سَعَىٰ ﴿٣٩﴾

“ Dan bahwasanya seorang manusia tiada memperoleh selain apa yang Telah diusahakannya ” (QS. An-Najm ayat 39).



HALAMAN PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas kekuatan, kesabaran, cobaan dan nikmat dalam menuntut ilmu, shalawat dan salam senantiasa atas junjungan kita nabi besar Muhammad SAW yang selalu kami tunggu syafaatnya.

Kupersembahkan karya sederhana ini kepada orang yang sangat kukasih dan kusayangi.

Bapak dan emak tercinta (bpk. Masjid dan ibu Siti Rohmah), adikku tersayang Moh. Wafa As'adi, pak wek Samusi, Mak Masliqah, keluargaku, yang telah memberikan kasih sayang, motivasi dan nasehat, serta cinta kasih yang tiada terhingga. Semoga ini menjadi langkah awal untuk membuat bapak dan emak bahagia karena, Wafi sadar selama ini belum bisa membahagiakan bapak dan emak.

Semua guru dan dosen yang telah memberi ilmu, pengalaman, dan tidak pernah lelah memberi bimbingan.

Sahabat biologi 2013, teman seperjuangan micro lab squad, keluarga IKMAS Malang, aina maya shofi dan afifah yang selalu mengingatkan untuk selalu semangat dikala lelah.

Untuk jutaan impian yang harus dikejar, untuk ribuan tujuan yang harus dicapai, untuk hidup yang lebih bermanfaat bagi orang lain, untuk sebuah pengharapan, teruslah berjalan, terus berusaha, berdo'a, bertawakal, dan terus belajar untuk menggapainya, jangan takut bermimpi. Cepatlah berdiri jika kau jatuh, coba lagi jika kau gagal, bangkit lagi jika kau kalah. Ingatlah ada orang tua yang selalu ingin anaknya sukses, ada orang tua yang harus di bahagiakan.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis haturkan kehadiran Allah SWT, karena hanya dengan rahmat dan hidayah-Nya SKRIPSI yang berjudul **“Bioakumulasi Selenium Oleh Bakteri Resisten Selenium yang Diisolasi dari Pantai Utara (Desa Campurejo Kecamatan Panceng Gresik)”** dapat terselesaikan.

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian laporan SKRIPSI ini, khususnya kepada:

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Bapak Romaidi, M.Si.,D.Sc, selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Bapak Romaidi, M.Si.,D.Sc, selaku dosen pembimbing yang telah sabar memberikan bimbingan, arahan dan waktu untuk membimbing penulis.
5. Bapak M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I, selaku dosen pembimbing integrasi sains dan islam yang telah memberikan bimbingan, arahan dan waktu untuk memberikan arahan pandangan sains dalam prospektif islam.
6. Ibu Hj. Ulfah Utami, M.Si, Prillya Dewi M,Sc, Bapak Bayu Agung Prahardika, M,S,i, yang selalu memberikan masukan dan ilmu yang representatif dengan topik penelitian.
7. Bapak/Ibu dosen Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmunya selama masa studi.
8. Laboran Biologi, mas Basyar, mas Ismail, mbak Lil Hanifah dan mbak Retno.
9. Bapak Masjid, Ibu Siti Rohmah, adikku Moh. Wafa Asadi, serta segenap keluarga yang senantiasa memberikan materi, doa, restu dan semangat kepada penulis dalam menuntut ilmu.
10. Teman-temanku dilaboratorium Mikrobiologi, teman-temanku bimbingan pak Romaidi dan teman angkatan Biologi 2013 yang senantiasa memberikan

semangat dan setia menemani saat suka dan duka. Mbak Nurroqi Dunyana, Magstin Najla, Izzatu, Afifah Rukmini, Aina Mayashofi, Rudini, Kusmafuri, Danang, dan mas Bakhrul Ulum.

11. Semua pihak yang ikut membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan. Akhirnya dengan penuh rasa syukur yang mendalam kehadirat Allah SWT, semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan pada pembaca umumnya. *Amin Ya Robbal Alamin.*

Malang, 28 Desember 2017

Penulis



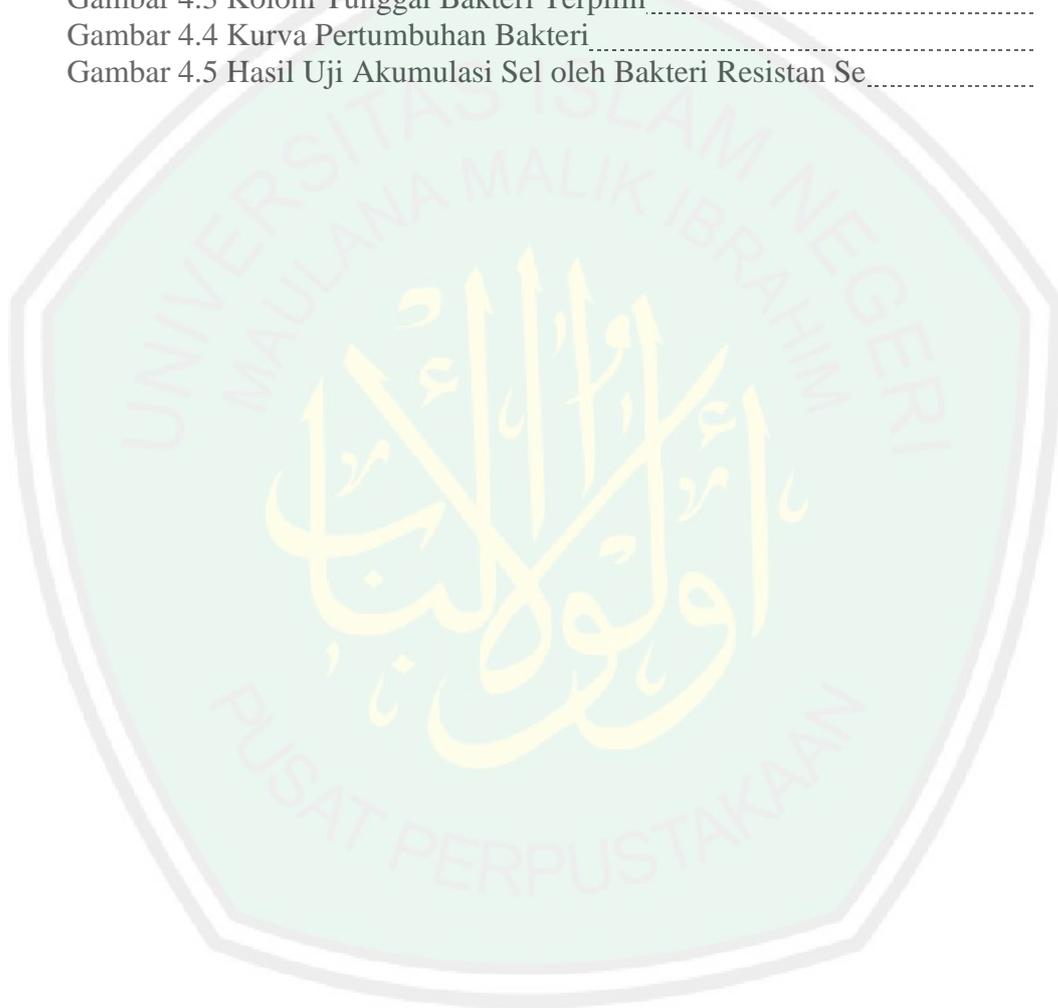
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
المستخلص	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	8
1.3 Tujuan.....	8
1.4 Manfaat.....	8
1.5 Batasan Masalah.....	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1 Pencemaran Lingkungan.....	10
2.2 Deskripsi Selenium.....	12
2.3 Bioremediasi.....	16
2.4 Pemanfaatan Mikroba dalam Bioremediasi Se.....	18
2.5 Mekanisme Resistensi Bakteri Terhadap Logam Berat Se.....	22
2.6 PANTURA (Pantai Utara) Desa Campurejo Gresik.....	24
BAB III METODE PENELITIAN	28
3.1 Waktu dan Tempat.....	28
3.2 Rancangan Penelitian.....	28
3.3 Alat Dan Bahan.....	29
3.3.1 Alat.....	29
3.3.2 Bahan.....	29
3.4 Prosedur Penelitian.....	30
3.4.1 Preparasi Alat dan Bahan.....	30
3.4.2 Preparasi Sampel.....	30
3.4.3 Pembuatan Media.....	32
3.4.4 Isolasi Bakteri.....	33

3.4.5	Identifikasi Bakteri.....	34
3.4.5.1	Identifikasi Bakteri Menggunakan <i>Microbact</i>	34
3.4.6	Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri.....	35
3.4.7	Uji Akumujlasi Se Pada Bakteri Resisten yang Terpilih.....	36
3.5	Analisa Data.....	37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		38
4.1	Isolasi Bakteri Resisten Selenium.....	38
4.2	Identifikasi Bakteri Resisten Selenite Secara Makroskopik dan Mikroskopik.....	43
4.2.1	Identifikasi Bakteri Resisten Se Strain CWB-1 dengan Menggunakan <i>Microbact</i>	53
4.3	Karakteristik Pertumbuhan Bakteri Resisten Se Strain CWB-1 (<i>Bacillus badius</i>) dalam Konsentrasi Selenite yang Berbeda.....	57
4.4	Akumulasi Selenium dengan Bakteri Strain CWB-1.....	61
BAB V PENUTUP.....		62
5.1	Kesimpulan.....	62
5.2	Saran.....	63
DAFTAR PUSTAKA.....		64
LAMPIRAN.....		72

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Siklus Biogeokimia Selenium di Alam.....	14
Gambar 2.2 Transformasi Selenium di Alam.....	15
Gambar 2.3 Mekanisme Reduksi <i>Selenite</i> oleh Mikroorganisme.....	24
Gambar 2.4 Peta Lokasi Pengambilan Sampel.....	27
Gambar 3.1 Stasiun Pengambilan Sampel.....	31
Gambar 4.1 Lama Waktu Inkubasi Bakteri Resistensi <i>Selenite</i>	40
Gambar 4.2 Perbandingan Resistensi Bakteri 10 Mm dari Ketiga Stasiun.....	41
Gambar 4.3 Koloni Tunggal Bakteri Terpilih.....	42
Gambar 4.4 Kurva Pertumbuhan Bakteri.....	54
Gambar 4.5 Hasil Uji Akumulasi Sel oleh Bakteri Resistan Se.....	58



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kemampuan Komponen Selenium Menghasilkan Superoksida.....	22
Tabel 4.1 Resistensi 6 Isolat Bakteri pada Selenite Dengan Inkubasi 7 Hari	42
Tabel 4.2 Karakteristik Isolat Bakteri Terpilih.....	44
Tabel 4.3 Hasil Uji Mikrobact.....	51
Tabel 4.4 Hasil Akumulasi Se.....	59



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Penelitian.....	72
Lampiran 2. Persiapan Sediaan Larutan Selenite dan Selenate.....	74
Lampiran 3. Perhitungan Kombinasi Volume media+ Se+Bakteri.....	76
Lampiran 4. Data jumlah bakteri resisten Se dari ketiga stasiun.....	78
Lampiran 5. Data resistensi 6 isolat terhadap selenat pada inkubasi 7 hari...	79
Lampiran 6. Data akumulasi Se.....	79
Lampiran 7. Data kurva pertumbuhan CWB-1 pada konsentrasi berbeda.....	80
Lampiran 8. Data analisis duncan.....	81
Lampiran 9. Gambar perubahan warna bakteri resisten Se	82
Lampiran 10. Gambar Pengamatan Mikroskopik.....	83
Lampiran 11. Foto dokumentasi pengamatan.....	84
Lampiran 12. Substrat dan Reaksi kit 12A dan 12 B.....	86
Lampiran 13. Data uji pendahuluan analisis logam	88
Lampiran 14. Data hasil uji akumulasi Se dalam tubuh bakteri.....	89
Lampiran 15. Data analisis microbact isolat CWB-1.....	90
Lampiran 16. Bukti konsultasi skripsi.....	92
Lampiran 17. Bukti konsultasi Agama.....	93

ABSTRAK

Amalia, Wafiatun. 2017. Bioakumulasi Selenium Oleh Bakteri Resisten Selenium yang Diisolasi dari Pantai Utara (Desa Campurejo Kecamatan Panceng Gresik). Skripsi, Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Biologi: Romaidi M.Si D.Sc; Pembimbing Agama: M. Mukhlis Fahrudin M.S.I

Kata kunci: Bioakumulasi, Selenium, *Bacillus badius*.

Selenium (Se) merupakan salah satu unsur penting bagi manusia. Se banyak digunakan pada industri pestisida, produksi kaca, cat, dan lain-lain. Selenium dalam bentuk anorganik yaitu: selenate (SeO_4^{2-}), dan selenite (SeO_3^{2-}) dapat menyebabkan efek toksisitas di lingkungan perairan. Kandungan selenium yang ditemukan pada sedimen Pantai utara Campurejo yaitu 400-700 $\mu\text{g/L}$. Kandungan Se tersebut 200 kali lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan maksimum Se menurut (EPA) *Enviromental Protection Agency* yaitu 3,1 $\mu\text{g/L}$. Berdasar hipotesa bahwa bakteri yang memiliki kemampuan dalam meremediasi logam berat dapat diisolasi dari lingkungan yang tercemar, maka penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri resisten Se dari PANTURA Campurejo Panceng Gresik dan menguji kemampuannya dalam mengakumulasi Se.

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif dan eksperimental, berupa eksplorasi dengan cara mengisolasi, mengidentifikasi bakteri resisten selenium, dan menguji akumulasi bakteri resisten selenium dari sedimen Pantai Utara Desa Campurejo, Kecamatan Panceng, Gresik, Jawa Timur. Penelitian ini difokuskan pada toleransi atau resistensi bakteri terhadap sodium selenite dan sodium selenate yaitu: 0 mM, 5 mM, 10 mM. Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA satu jalur (One Way Anova), dan perbedaan diantara dilanjutkan dengan menggunakan DMRT/Uji BNT.

Hasil penelitian terdapat 6 isolat yang resisten terhadap toksisitas selenite dan satu isolat yang resisten terhadap toksisitas selenate. Identifikasi dengan *microbact* diperoleh data bahwa strain CWB-1 (strain dengan kemampuan resisten terhadap 10 mM selenate dan selenite) memiliki kemiripan dengan *Bacillus badius* dengan persen probabilitas 88,00%. Bakteri CWB-1 (*Bacillus badius*) mampu mengakumulasi selenium pada konsentrasi 200 μM sebanyak 79,7%. *Bacillus badius* dalam penelitian sebelumnya telah dijelaskan memiliki potensi akumulasi terhadap nitrit dan pb(II). Penelitian ini menunjukkan bahwa *Bacillus badius* juga sangat berpotensi dalam akumulasi selenium.

ABSTRACT

Amalia, Wafiatun. 2017. Bioaccumulation of Selenium by Se Resistant Bacteria Isolated from PANTURA Campurejo, Panceng, Gresik.
Thesis, Department of Biology Faculty of Science and Technology State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang. Biologist: Romaidi D.Sc; Religious Counselor: M. Mukhlis Fahrudin M.S.I.

Key words: Bioakumulasi, Selenium, *Bacillus badius*.

Selenium (Se) is one important element for human beings. Se is widely used of industries including pesticide, production of glass, paint, and others. Selenium in the form of inorganic: selenate (SeO_4^{2-}), and selenite (SeO_3^{2-}) causes toxicity in the aquatic environment. The content of selenium found in the sediments of the northern coast of Campurejo i.e. 400-700 $\mu\text{g/L}$. the content of Se 200 times higher than the maximum content of Se according to (EPA) Environmental Protection Agency i.e. 3.1 $\mu\text{g/L}$. Based on the hypothesis that bacteria that have the ability to remediate heavy metal can be isolated from polluted environment, this study aims to isolates Se-resistant bacteria from PANTURA Campurejo Panceng Gresik and test their ability to accumulate Se.

This research is qualitative, descriptive research and experimental, in the form of exploration by means of isolating, identifying bacteria resistant selenium, and test the selenium accumulation of resistant bacteria from sediments of the PANTURA, Campurejo, Panceng, Gresik, East Java. This research is focused on bacterial resistance or tolerance against sodium selenite and selenate: 0 mM, 5 mM, 10 mM. The data obtained were analyzed with ANOVA (One Way Anova), and the difference between was continued by using DMRT / BNT Test.

There were 6 isolates resistant to selenite toxicity and one isolate resistant to selenate. Identification with microbact obtained data that strain CWB-1 (strain with resistance ability of 10 mM selenate and selenite) have similarity with *Bacillus badius* with percentage probability 88,00%. Bacteria CWB-1 (*Bacillus badius*) was able to accumulate selenium at a concentration of 200 μM of 79.7%. *Bacillus badius* in previous studies has been described to have potential accumulation of nitrite and pb (II). This study shows that *Bacillus badius* is also highly potential in the accumulation of selenium.

المستخلص

آماليا، وفياتون. ٢٠١٧. السيلينيوم التراكم الأحيائي من البكتيريا المقاومة للبكتيريا السيلينيوم معزولة من الشاطئ الشمالي (قرية كامبوريجو، منطقة بانسنگ غريسك). بحث العلمي. قسم علم الحياة كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف (علم الحياة): راميدي M.Si D.Sc المشرف (علم الدين): محمد مخلص فخرالدين M.S.I

الكلمات الأساسية: التراكم الأحيائي، السيلينيوم، عصية بادبوس *Bacillus badius*

السيلينيوم (Se) هو عنصر مهم للبشر. يستخدم على نطاق واسع في صناعة المبيدات، إنتاج الزجاج، الطلاء، وغيرها. السيلينيوم في شكله غير العضوي هو: سيلينات (SeO_4^{2-})، والسيلينيت (SeO_3^{2-})، قد يسبب تأثيرات سامة (toksisitas) في البيئة المائية. محتوى السيلينيوم الموجود في رواسب شاطئ كامبوريجو الشمالية هو $400-700 \mu g/L$. محتوى Se هو 200 مرة أعلى من الحد الأقصى Se لمحتوى *Environmental Protection Agency* (EPA) هو $3.1 \mu g/L$. استنادا إلى فرضية أن البكتيريا التي لديها القدرة على معالجة المعادن الثقيلة يمكن عزلها عن البيئات الملوثة، وتهدف هذه الدراسة لعزل البكتيريا Se مقاومة من الشاطئ الشمالي كامبوريجو بانسنگ غريسك واختبار قدرتها على تراكم Se.

هذا البحث هو نوعي وصفي والتجريبي، في شكل الاستكشاف من خلال عزل وتحديد البكتيريا المقاومة السيلينيوم واختبار السيلينيوم البكتيريا المقاومة تراكم الرواسب الشاطئ الشمالي قرية كامبوريجو، منطقة بانسنگ غريسك جاوى الشرقية. ركزت هذه الدراسة على التسامح أو مقاومة بكتيري صوديوم سيلينيت و صوديوم سيلينات، وهي: 0 Mm، 5 Mm، 10 Mm. تم تحليل البيانات التي تم الحصول عليها عن طريق أنوفا Anova اتجاه واحد (One Way Anova)، واستمر الفرق بين استخدام باختبار DMRT/اختبار BNT.

كانت هناك ٦ عزلات مقاومة لسمية السيلينات وعزل واحد مقاوم لسمية السيلينيت. التحديد مع microbact أظهر البيانات أن سلالة CWB-1 (سلالة مع قدرة المقاومة إلى 10 Mm سيلينات والسيلينيت) وأوجه التشابه مع *Bacillus badius* باحتمال المئة من $88,000$ ٪. البكتيريا CWB-1 (*Bacillus badius*) كان قادرا على تراكم السيلينيوم بتركيز 200 $79,7 \mu M$ ٪. وقد وصفت عن عصيات بادبوس (*Bacillus badius*) في تراكم من النتريت والخصائص. هذا يشير إلى أن عصية بادبوس هو إمكانات عالية في تراكم لسيلينيوم.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Selenium (Se) merupakan salah satu unsur penting bagi manusia. Dalam jumlah yang sangat sedikit, Se dibutuhkan sebagai elemen fisiologis, sehingga, berpotensi digunakan sebagai campuran makanan dan obat-obatan. Hal ini dikarenakan selenium memiliki kapasitas antioksidan yang bekerja sama dengan vitamin E dalam meningkatkan aktivitas seleno-enzim, *glutathione peroxidase* untuk mencegah radikal bebas dalam merusak sel-sel dan jaringan *in vivo* (Zhang, *et al.*, 2004).

Menurut Kimura, *et al* (2014), Se adalah unsur kimia yang dapat ditemukan dalam bentuk organik dan anorganik. Dalam bentuk organik Se yang dibutuhkan tubuh berupa selenometionin dan selenosistein. Sedangkan dalam bentuk anorganik Se berupa selenida (Se^{2-}), *selenate* (SeO_4^{2-}), dan *selenite* (SeO_3^{2-}). Ketika *selenate* (Se_4^{2-}) dan *selenite* (SeO_3^{2-}) yang berasal dari residu pupuk dan pestisida serta limbah cat masuk ke lingkungan perairan, akan menyebabkan efek toksisitas dan mobilitas yang berbahaya pada ekosistem karena tingkat kelarutan yang tinggi (Ike, *et al.*, 2000).

Kontaminasi selenium dalam lingkungan dapat disebabkan oleh berbagai aktivitas manusia. Aktivitas tersebut berupa praktek-praktek dasar pertanian yaitu: residu pupuk dan pestisida. selain itu, kontaminasi Se di lingkungan dapat

ditimbulkan oleh limbah cat dan aktivitas pertambangan (Wise, 2000; Xia, *et al.* 2007). Kontaminasi Se dianggap serius karena berpotensi sebagai polusi pada permukaan tanah dan air (Knox, *et al.*, 2000).

Efek kontaminasi Se dalam bentuk *selenate* dan *selenite* yang terkandung dalam drainase pertanian dapat menyebabkan kematian dan teratogenik pada unggas air (Ohlendorf, *et al.*, 1986). Efek lain yang ditimbulkan oleh *selenate* dan *selenite* dapat menurunkan tingkat reproduksibilitas ikan yang merupakan indikator kualitas air di kolam yang terpapar Se dari air limbah pembangkit listrik (Gillespie dan Baumann, 1986). Selain menyebabkan efek toksisitas di perairan, Se juga menyebabkan efek toksisitas pada manusia. Penelitian Notodarmojo (2005) membuktikan bahwa Se mempunyai efek racun terhadap manusia berupa efek karsinogenik pada sistem pencernaan, pernafasan, dan kulit. Gejala keracunan Se, dihubungkan dengan asupan Se yang sangat tinggi dalam tubuh, antara 3200 - 6700 $\mu\text{g}/\text{hari}$, sedangkan batas maksimal pada orang dewasa menurut Kusmana (2017), mencapai 400 $\mu\text{g}/\text{hari}$. Allah berfirman dalam Qs. Ar-Rum ayat 41 akan dampak perbuatan manusia:

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ الَّذِي عَمِلُوا لَعَلَّهُمْ يَرْجِعُونَ ﴿٤١﴾

Artinya :

“Telah nampak kerusakan didarat dan dilaut akibat ulah tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (kejalan yang benar) (Qs. 30:41).

Al-Qurthubi (2009), menjelaskan makna (kerusakan) adalah kekeringan, yaitu sedikitnya hasil tanaman dan hilangnya berkah. Seperti pendapat yang

dikemukakan oleh Ibnu Abbas RA. Beliau berkata, ”kurangnya berkah pada pekerjaan hamba, agar mereka bertobat”. Dalam hal ini manusia diperintahkan untuk memenuhi kebutuhan hidupnya dengan baik dan tidak merusak lingkungan, salah satunya dengan menghindari terjadinya pencemaran lingkungan dalam bentuk apapun. Mukono (2005), mengatakan limbah merupakan bahan pencemar yang menyebabkan kondisi lingkungan berubah dari bentuk asalnya. Allah memerintahkan hambanya untuk mengadakan perbaikan pada lingkungan dalam Qs. Al-Baqoroh ayat 11:

وَإِذَا قِيلَ لَهُمْ لَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ قَالُوا إِنَّمَا نَحْنُ مُصْلِحُونَ ﴿١١﴾

Artinya:

“Apabila dikatakan kepada mereka janganlah membuat kerusakan dimuka bumi. Maka mereka menjawab sesungguhnya kami mengadakan perbaikan”. (Qs. 02:11).

Al-Qurthubi (2009), menjelaskan makna لا adalah larangan. *Lafadz al fasaad* adalah lawan *ash- shalaah*, arti *al fasad* adalah berpaling dari perbaikan/ istiqomah maknanya adalah kerusakan. Maka yang di maksud kerusakan adalah kekufuran nikmat dan tidak mau menjaga nikmat. Sehingga, perlu adanya perbaikan agar lingkungan yang rusak dapat kembali berubah seperti bentuk asalnya. Membuat kerusakan di muka bumi juga menjauhkan manusia dari beriman kepada Nabi Muhammad SAW.

Akibat bahaya yang ditimbulkan dari pencemaran Se, maka berbagai metode alternatif baik secara fisik maupun kimiawi sudah banyak digunakan untuk mengurangi konsentrasi logam berat yang akan dibuang ke perairan. Secara fisik

yaitu dengan pengalihan, pengangkutan, dan pembakaran. Pembakaran dapat menghancurkan hidrokarbon dengan cepat dan meninggalkan sisa pembakaran yang memerlukan penanganan lebih lanjut (Shukla, *et al.*, 2010; Zam, 2011). Secara kimiawi dilakukan dengan bahan kimia yang mampu meremediasi logam berat. Namun, cara ini memiliki kekurangan yaitu metode kimia memerlukan teknologi dan peralatan canggih untuk menarik kembali bahan kimia dari lingkungan agar tidak menimbulkan dampak negatif yang lain serta terbukti sangat mahal (Aliyanta dkk, 2012).

Shukla, *et al* (2010) mengatakan untuk memperbaiki kontaminasi logam di India secara kimiawi diperlukan biaya \$ 3 milyar. Penggunaan teknologi secara kimiawi dalam jangka waktu yang lama juga dapat merusak lingkungan. Hal ini diakibatkan dari akumulasi logam berat yang tidak sebanding dengan masa perbaikan dari lingkungan (Kessi dan Hanselmann, 2004; Kristianingrum, 2006). Oleh sebab itu, teknologi akumulasi secara biologi (bioremediasi) perlu diterapkan sebagai metode alternatif dalam mengakumulasi Se. Bioremediasi diharapkan menjadi cara yang efektif, efisien, ekonomis serta tidak merusak lingkungan untuk mengatasi pencemaran selenium.

Bioremediasi adalah proses penguraian secara biologi suatu polutan organik yang beracun menjadi senyawa lain yang lebih sederhana dan tidak beracun. Agen bioremediasi yang biasa digunakan untuk membersihkan tanah dan air yang terkontaminasi berupa tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme. Mikroorganisme yang biasa digunakan sebagai agen bioremediasi adalah ragi, jamur, dan bakteri (Strong dan Burgess, 2008).

Karigar (2011) mengatakan bahwa bakteri telah membuktikan kemampuannya dalam mendegradasi polutan dengan cepat. Penggunaan bakteri untuk bioremediasi merupakan salah satu cara yang tepat, efektif, dan hampir tidak ada efek samping terhadap lingkungan, karena tidak menghasilkan racun atau blooming (Dharmawibawa, 2004). Crawford dan Don (1998) mengemukakan, beberapa spesies bakteri yang memiliki kemampuan dalam meremediasi logam berat dapat diisolasi dari lingkungan yang tercemar. Selain itu, Chojnacka (2010) mengatakan, bakteri yang diisolasi dari lingkungan yang tercemar logam berat sangat potensial digunakan sebagai agen bioremediasi karena memiliki toleransi dan resistensi logam berat yang ada disekitarnya.

Mikroba memiliki peran penting dalam proses biogeokimia selenium di alam dalam proses biotransformasi yakni dengan mengubah senyawa toksik menjadi non toksik secara enzimatik. Pearce, *et al* (2008) melaporkan bahwa bakteri anaerobik *Veillonella atypical* dapat mengurangi oksanion selenium sehingga terurai menjadi Se elemental. Beberapa jenis bakteri yang terbukti mampu mengurangi toksisitas Se diantaranya: *Bacillus licheniformis* mampu mereduksi selenite sekitar 90% pada konsentrasi 400 µg/ml, *Bacillus subtilis* mampu mereduksi selenite 85% dari konsentrasi awal selenit 200 g/ml. *Comamonas testosteroni* S44, *Pseudomonas fluorescens* dan *Pseudomonas stutzeri* memiliki kemampuan mereduksi hingga 5 mM selenat menjadi selenit dalam kondisi anaerob dalam waktu 7 hari, *Ralstonia metallidurans* CH34 yaitu bakteri yang berasal dari tanah yang terkontaminasi logam, dapat resisten terhadap selenite hingga konsentrasi 6 mM, *Rhodospirillum rubrum* dan *Shewanella oneidensis*

yang dapat mereduksi 2 mM selenite secara aerobik (Ike, *et al.*, 2000; Roux, *et al.*, 2001; Kessi, 2004; Klonowska, *et al.*, 2005; Zheng, *et al.*, 2014; Javed, *et al.*, 2016). Hal ini merupakan dasar dari pendekatan yang menjanjikan untuk bioremediasi selenium.

Penelitian tentang akumulasi Se di Indonesia masih jarang dilakukan, sehingga perlu dilakukan eksplorasi tentang kemampuan resistensi bakteri yang berasal dari Indonesia. Upaya mengurangi jumlah Se di lingkungan perairan salah satunya dengan cara menggunakan bantuan bakteri pengakumulasi yang diisolasi dari lingkungan yang tercemar. Isolasi bakteri yang mampu mengakumulasi selenite dan selenate dianggap penting untuk mengembangkan strategi yang efisien untuk bioremediasi di lingkungan perairan yang terkontaminasi Se.

Uji pendahuluan yang dilakukan di BPKI (Balai Penelitian dan Konsultasi Industri) Surabaya terhadap 5 gram sedimen pada Pantai utara Desa Campurejo yang telah terbukti terdapat kontaminasi Se dengan kandungan Se 400-700 µg/L. Kandungan Se tersebut 200 kali lipat lebih tinggi jika dibandingkan dengan kandungan maksimum Se menurut (EPA) *Enviromental Protection Agency* (2016) yaitu perairan lotik sebesar 3,1 µg/L.

Pantai utara Desa Campurejo adalah satu diantara pantai yang berada di kabupaten Gresik yang memiliki kondisi sangat memprihatinkan. Hal ini terlihat dari perairan yang sangat tercemar, kotor, serta dipenuhi oleh limbah rumah tangga dan industri. Wahyudi (2009), mengatakan Pantai utara Desa Campurejo memiliki nilai kerentanan tertinggi dari tiga Pantai utara di daerah Panceng yaitu Dalegan dan Mulyorejo dengan nilai IKP $155 > 75$ maka, nilai kerentanan

pantainya dikatakan sangat tinggi. Hasil perhitungan indeks kerentanan pantai (IKP) didasarkan pada 10 variabel yaitu: perubahan garis pantai (PP), pengamatan visual kerusakan (K), panjang kerusakan (PK), lebar kerusakan (LK), lebar sabuk hijau (SH), litologi (L), tinggi gelombang (H) jarak pasang surut (PS) penggunaan lahan (PL) dan kemiringan pantai (β). Tingginya nilai kerentanan Pantai utara Desa Campurejo dipengaruhi oleh aktivitas penduduknya yang sebagian besar bekerja sebagai nelayan. Pada proses pembuatan perahu nelayan biasa menggunakan bahan industri seperti cat yang mengandung Se dan kemudian akan masuk ke perairan dan mengendap pada sedimen. Hal ini tentu dapat mengkontaminasi biota yang ada pada lingkungan perairan. Karena kondisi dengan tingkat kerentanan pantai yang tinggi inilah yang menyebabkan Pantai Utara Desa Campurejo sangat beresiko terjadi kontaminasi Se.

Penelitian ini merupakan penelitian dasar, sehingga belum terlihat manfaatnya jika dipandang dari segi ekonomis. Namun, jika dilihat dari penelitian tentang kontaminasi Se di Indonesia yang masih jarang dilakukan dan bakteri resisten Se masih sangat sedikit, maka, berdasarkan latar belakang yang telah di paparkan di atas, penelitian ini dianggap penting untuk dilakukan guna mengeksplor bakteri resisten selenium yang diisolasi dari sedimen Pantai Utara, Desa Campurejo, Kecamatan Panceng, Gresik. Dengan harapan dapat menjadi alternatif dalam menanggulangi masalah kontaminasi Se di lingkungan.

1.2 RUMUSAN MASALAH

Rumusan Masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apa saja jenis isolat terpilih bakteri resisten Se yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari Pantai Utara Campurejo, Panceng, Gresik?
2. Bagaimana kemampuan isolat bakteri resisten selenium dari Pantai Utara Campurejo, Panceng, Gresik dalam mengakumulasi selenium?

1.3 Tujuan

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui jenis isolat terpilih bakteri resisten Se yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari Pantai Utara Campurejo, Panceng, Gresik.
2. Untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri resisten selenium dari Pantai Utara Campurejo, Panceng, Gresik dalam mengakumulasi selenium.

1.4 Manfaat

Manfaat yang didapat dari penelitian ini adalah:

1. Memberi informasi tentang bakteri yang resisten terhadap selenium.
2. Mengeksplorasi bakteri yang memiliki kemampuan dalam mengakumulasi selenium.
3. Memberi informasi tentang kemampuan bakteri resisten selenium dalam mengakumulasi selenium.
4. Memberi informasi solusi dalam menanggulangi pencemaran selenium dengan bioakumulasi bakteri resisten selenium.

5. Secara teori penelitian ini dapat digunakan sebagai referensi untuk pengembangan penelitian selanjutnya.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Sampel sedimen berasal dari Pantai Utara Desa Campurejo Kecamatan Panceng Gresik dengan kedalaman 0,5-1 meter dari permukaan air laut.
2. Penelitian ini hanya mengidentifikasi bakteri yang resisten terhadap selenium dengan konsentrasi selenium tertinggi.
3. Konsentrasi selenium yang digunakan adalah 0 mM, 5 mM, 10 mM.
4. Media yang digunakan adalah media BSM (*Basal Salt Medium*).
5. Teknik isolasi yang digunakan adalah pengenceran bertingkat yang diinokulasikan pada media agar dengan cara dituang secara merata (*spread plate*).
6. Identifikasi secara makroskopis dan mikroskopis menggunakan microbact.
7. Uji akumulasi selenium dalam bakteri dengan AAS.
8. Stasiun Pengambilan sampel didasarkan pada perbedaan sumber kontaminasi Se dan konsentrasi Se.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pencemaran Lingkungan

Pencemaran lingkungan adalah satu diantara penyebab dari kerusakan dan merubah tatanan lingkungan, dikarenakan bahan pencemar semakin hari semakin meningkat dalam lingkungan. Bahan pencemar adalah bahan yang ada dilingkungan, merupakan hasil aktivitas manusia, dan memiliki efek racun (toksik) bagi organisme hidup (Mukono, 2005). Menurut Undang-Undang No. 32 tahun 2009, pencemaran lingkungan hidup adalah masuknya makhluk hidup, zat, energi, dan/atau komponen lain ke dalam lingkungan hidup oleh kegiatan manusia sehingga melampaui baku mutu lingkungan hidup yang telah ditetapkan. Kerusakan lingkungan telah dijelaskan dalam Al-Qur'an surah asyu'ara ayat 152 yaitu:



Artinya:

*“Yang membuat kerusakan di muka bumi dan tidak mengadakan perbaikan”
(QS. Asyu'ara ayat 152).*

Ayat asyu'ara ayat 152 menjelaskan bahwa penyebab kerusakan lingkungan adalah ulah tangan manusia sendiri tanpa berbuat perbaikan. Tanpa adanya partisipasi manusia dalam masalah konservasi lingkungan. Maka, manusia akan menanggung hasil perbuatannya sendiri dalam bentuk bencana alam yang akan ditanggung oleh orang yang berbuat kerusakan maupun tidak melakukan

kerusakan. Dalam bahasa arab dikenal dengan istilah, *iza nazalat 'azab amma as-shaleh wa at-thaleh* (tatkala azab atau bencana melanda, dia tidak pernah membedakan kelompok yang saleh ataupun toleh/jahat). Hal ini bisa dipahami secara eksplisit dalam Al-Qur'an, Surah Hud, ayat 61:

وَالِى ثَمُودَ أَخَاهُمْ صَالِحًا قَالَ يَنْقُومِ اعْبُدُوا اللَّهَ مَا لَكُمْ مِّنْ إِلَهٍ غَيْرُهُ هُوَ أَنشَأَكُمْ مِّنَ الْأَرْضِ وَأَسْتَعْمَرَكُمْ فِيهَا فَاسْتَغْفِرُوهُ ثُمَّ تَوْبُوا إِلَيْهِ إِنَّ رَبِّي قَرِيبٌ مُّجِيبٌ

Artinya:

"Dan kepada Tsamud (Kami utus) saudara mereka shaleh. Shaleh berkata: "Hai kaumku, sembahlah Allah, sekali-kali tidak ada bagimu Tuhan selain Dia. dia telah menciptakan kamu dari bumi (tanah) dan menjadikan kamu pemakmurnya. Karena itu mohonlah ampunan-Nya, kemudian bertobatlah kepada-Nya, Sesungguhnya Tuhanku amat dekat (rahmat-Nya) lagi memperkenankan (doa hamba-Nya)." (QS. Al-hud ayat 61).

Maksudnya: manusia dijadikan penghuni dunia untuk menguasai dan memakmurkan dunia. Dalam ayat diatas dijelaskan bahwa tugas manusia sebagai kholifah di bumi harus dengan bijak memakmurkan bumi. Oleh sebab itu, upaya pelestarian lingkungan ini juga termasuk sebagian dari iman.

Satu diantara pencemaran lingkungan adalah pencemaran logam berat. Logam berat adalah logam dengan masa jenis 5 atau lebih dengan nomor atom 22-92 (Ridhowati, 2013). Menurut Kurniasari (2005) logam berat bersifat racun, mudah terakumulasi dalam tubuh organisme, sulit mengalami degradasi, pada konsentrasi tinggi bersifat toksik karena sukar terurai. Apabila logam berat masuk ke perairan, akan terakumulasi dalam sedimen dan terikat sebagai senyawa organik dan anorganik.

Logam berat memiliki kriteria yang sama dengan logam yang lain. Perbedaannya terletak pada pengaruh yang dihasilkan. Bila logam berat masuk ke dalam tubuh organisme akan menimbulkan efek – efek khusus pada makhluk hidup yang bersifat racun. Contohnya: timbal (Pb), merkuri/air raksa (Hg), Cromium (Cr), dan kadmium (Cd). Meskipun semua logam berat adalah toksik namun, dalam jumlah yang sangat sedikit logam berat tersebut tetap dibutuhkan tubuh dan apabila kebutuhan logam berat tidak terpenuhi ataupun berlebihan dalam tubuh, maka akan berakibat fatal bagi organisme. Logam jenis ini disebut logam esensial. Contohnya: selenium (Se), tembaga (Cu), seng (Zn), besi (Fe), Nikel (Ni), dan Magnesium (Mg) (Palar, 1994).

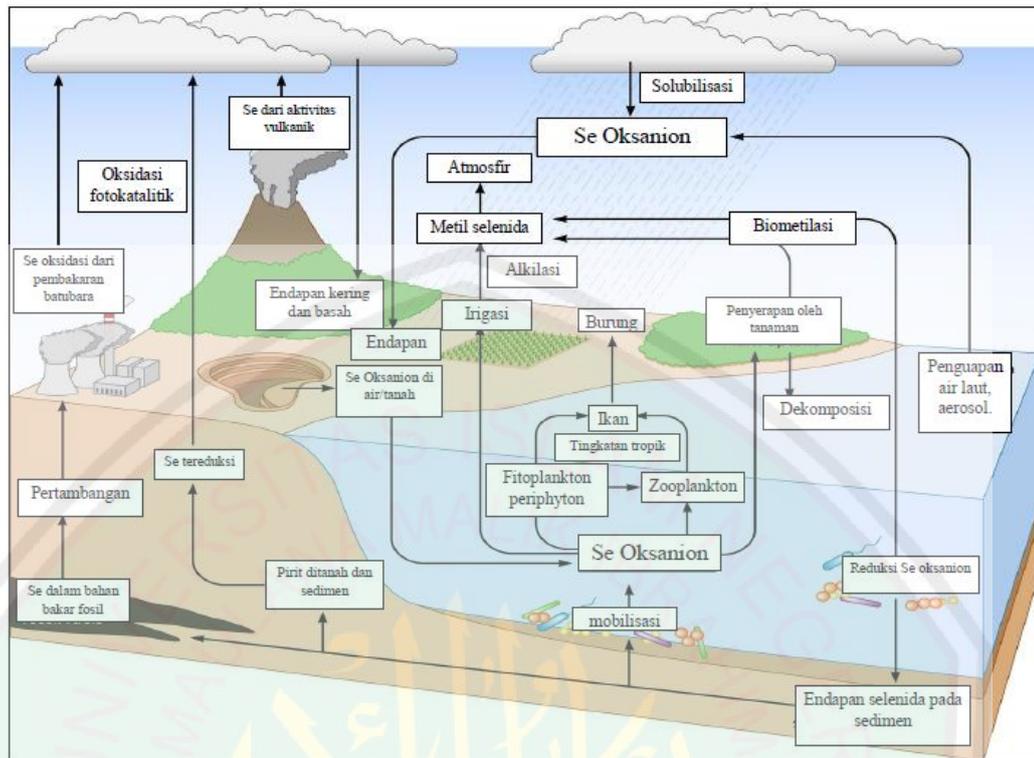
2.2 Deskripsi Selenium

Selenium (Se) terkenal dengan sifat fotolistrik dan semikonduktornya yang telah berhasil digunakan dalam sel surya (*solar cell*), penyearah gelombang (*rectifier*), meter pemaparan fotografi (*light meters*), pewarna kaca, mesin fotokopi, dan *xerografi* (Zhang, *et al.*, 2004; Bodnar, *et al.*, 2012; Kimura, *et al.*, 2014). Selain itu, dalam jumlah yang sangat sedikit Se dibutuhkan sebagai elemen fisiologis, sehingga, berpotensi digunakan sebagai makanan dan obat-obatan. Hal ini dikarenakan selenium memiliki kapasitas antioksidan yang bekerja sama dengan vitamin E dalam meningkatkan aktivitas seleno-enzim, *glutathione peroxidase* untuk mencegah radikal bebas dalam merusak sel-sel dan jaringan in vivo (Zhang, *et al.*, 2004).

Madigan, et al (2010) mengatakan, selenium (Se) dalam tabel periodik memiliki sifat kimia dan fisik yang berada di antara logam dan non-logam. Selenium terletak bersebelahan dengan sulfur dalam daftar elemen penting, seperti H, O, C, N, P, S. Menurut Boyd (2011), Se merupakan komponen yang dominan pada seluruh sistem kehidupan dan tersedia dalam unsur kimia yang berbeda (organik dan inorganik) dan bentuk padat, cair, dan gas.

Selenium yang umumnya ditemukan di alam adalah 6 isotop stabil yaitu: ^{74}Se , ^{76}Se , ^{77}Se , ^{78}Se , ^{80}Se , dan ^{82}Se , selenium yang distribusinya bervariasi dalam lingkungan tergantung kondisi redoks yang berlaku adalah jenis ^{80}Se dan ^{78}Se . Umumnya, oxanion selenium (SeO_4^{2-} dan SeO_3^{2-}) sangat larut, stabil dan berpotensi ditemukan dalam lingkungan yang toksik (Boyd, 2011). Selain itu, Lenz dan Lens, (2009) mengatakan, selenat (SeO_4^{2-}) dan selenit (SeO_3^{2-}) dominan ditemukan pada kondisi lingkungan aerob seperti permukaan air dan sedimen.

Selenium dapat ditemukan di seluruh lingkungan alam (gambar 2.1). Seperti bebatuan, mineral, tanah, aktifitas vulkanis, kandungan sulfur dan sulfida, batu bara, debu batu bara, dan debu (Bodnar, *et al.*, 2012). Se dilepaskan oleh sumber yang kaya akan kandungan Se, seperti batu fosfat dan batu bara, melalui siklus biogeokimia yang kompleks (Fordyce, 2013). Kadar maksimum selenium yang di bolehkan di dalam air menurut WHO minimum yakni 0,01 mg/l, dan menurut peraturan pemerintah Republik Indonesia no: 20 tahun 1990, kadar maksimum selenium dalam air minum yang di bolehkan adalah 0,01 mg/l (Herlambang, 2011).



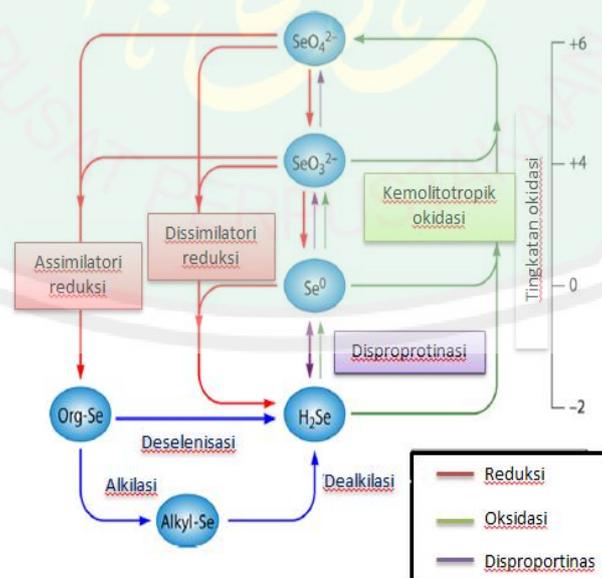
Gambar 2.1 Siklus Biogeokimia Selenium di Alam. Sumber: Nancharaiyah dan Lens (2015).

Kontaminasi selenium menurut Myers (2013), dapat dihasilkan dari pertambangan, pemurnian logam, gas buangan, dan aktivitas industri lainnya. Selain itu, aktifitas pertambangan fosfat yang berlebihan di kaki sungai Idaho telah meningkatkan kandungan Se. Akibat kontaminasi Se telah tercatat dalam Kesterson National Wildlife Reservoir di California dapat menyebabkan tingginya tingkat cacat embrio, kematian satwa liar, dan kematian hewan air.

Kontaminasi selenium secara alami dapat berasal dari pelapukan tanah seleniferous dan bebatuan (Bodnar, *et al.*, 2012). Fordyce (2013) mengatakan, konsentrasi selenium pada tanah sangat rendah, yaitu antara 0.01 sampai 2 mg kg⁻¹. Namun, pada tanah seleniferous konsentrasi selenium mencapai 1,200 mg kg⁻¹. Pada perairan alami, konsentrasi selenium terlarut telah dilaporkan pada kisaran

<0.1 hingga 100 $\mu\text{g liter}^{-1}$, konsentrasi kontaminasi selenium yang tinggi yang pernah terjadi telah dilaporkan, terjadi di china dengan konsentrasi 275 $\mu\text{g liter}^{-1}$ pada tanah seleniferous, sedangkan konsentrasi selenium yang ditemukan di Montana adalah 1,000 $\mu\text{g liter}^{-1}$, dan konsentrasi 2,000 $\mu\text{g liter}^{-1}$ telah ditemukan di beberapa perairan pantai.

Siklus selenium di alam diusulkan sejak tahun 1964 oleh Shrift. Siklus biokimia selenium menerima perhatian yang meningkat karena selenium adalah unsur jejak yang penting, polusi selenium dapat menyebabkan kerusakan ekologi yang signifikan, dan *selenium respiring bacteria* (SeRB) telah tersebar luas di alam dan memiliki metabolisme yang dapat mempengaruhi siklus C, N dan P di alam. Transformasi selenium di alam (oksidasi dan reduksi) dimediasi oleh mekanisme kimia dan biologi. Oleh karena itu, peran mikroorganisme sangat penting untuk melakukan proses oksidasi dan reduksi dalam siklus selenium di lingkungan (Shrift, 1964).



Gambar 2.2 Transformasi selenium di alam . Sumber: Nancharaiah dan Lens

(2015).

Gambar 2.2. Menjelaskan tentang transformasi Se di alam. Menurut Nancharaiah dan Lens (2015), dalam kondisi geologi dan antropogenik sumber Se dilepaskan ke lingkungan berupa bentuk SeO_4^{2-} . Secara alami SeRB yang terdapat di alam akan berperan sebagai kunci dalam siklus biokimia selenium. SeRB memiliki kemampuan untuk menggunakan selenate atau selenite sebagai terminal elektron akseptor dalam respirasi anaerob. Reduksi SeO_4^{2-} dan SeO_3^{2-} akan digabungkan dengan degradasi bahan organik lain dalam sedimen anaerob.

SeO_4^{2-} dan SeO_3^{2-} dapat direduksi oleh bakteri menjadi Se^0 secara anaerob menjadi senyawa organik yaitu selenoprotein. Perubahan SeO_4^{2-} menjadi Se^0 menjadi fokus utama untuk reduksi sedimen yang terkontaminasi Se. Pada proses oksidasi unsur Se dapat terjadi pada tanah dan sedimen, meskipun Se^0 pada tingkat yang lebih rendah dari SeO_4^{2-} dan SeO_3^{2-} . Namun, dapat direduksi lebih lanjut oleh mikroorganisme (contoh: *Bacillus selenitireducens*) yang akan menghasilkan selenida yang kemudian dioksidasi secara aerobik oleh bakteri pengoksidasi Se (SeOB) contohnya: *Thiobacillus*, *Thiothrix*, dll. Selanjutnya reaksi alkilasi akan menghasilkan volatile $(\text{CH}_3)_2\text{Se}$ dan $(\text{CH}_3)_2\text{Se}_2$, dan reaksi dealkilasi berperan sebagai proses mediasi mikroorganisme di dalam tanah dan air (Nancharaiah dan Lens, 2015).

2.3 Bioremediasi

Bioremediasi didefinisikan sebagai teknologi yang menggunakan mikroba untuk mengolah (*cleaning*) dari kontaminan melalui mekanisme biodegradasi secara alamiah (*intrinsic bioremediation*) atau untuk meningkatkan mekanisme

biodegradasi alamiah dengan penambahan mikroba, nutrien, donor elektron dan akseptor donor elektron (*enhanced bioremediation*) (Nugroho, 2006). Bioremediasi adalah proses stimulasi mikroorganisme secara tepat untuk menurunkan polutan organik yang berbahaya ke tingkat yang aman bagi lingkungan di tanah, sedimen, zat, bahan, dan air tanah (Fulekar, 2009). Mikroorganisme yang digunakan sebagai agen bioremediator adalah khamir, jamur (mycoremediasi), ragi, alga, dan bakteri. Selain dengan memanfaatkan mikroorganisme bioremediasi juga dapat menggunakan tanaman air. Secara umum tanaman air mampu menetralkan komponen-komponen tertentu di dalam perairan dan bermanfaat dalam proses pengolahan limbah cair (Singh, *et al.*, 2014).

Proses bioremediasi diantaranya adalah biotransformasi, biodegradasi, dan biokatalis. Biotransformasi adalah senyawa toksik menjadi senyawa yang kurang toksik atau tidak toksik. Pada proses ini enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme memodifikasi polutan beracun dengan mengubah struktur kimia polutan tersebut sehingga menjadi tidak beracun (Singh, *et al.*, 2014). Proses bioremediasi bergantung pada mikroorganisme yang secara enzimatik untuk menyerang polutan dan mengubahnya menjadi produk yang tidak berbahaya. Karena bioremediasi hanya bisa efektif bila kondisi lingkungan memungkinkan untuk pertumbuhan dan aktivitas mikroba, penerapannya seringkali melibatkan manipulasi parameter lingkungan untuk memungkinkan pertumbuhan mikroba dan laju degradasi berlanjut menjadi lebih cepat (Karigar, 2011).

Biotransformasi pada banyak kasus berujung pada biodegradasi. Degradasi senyawa kimia oleh mikroba di lingkungan merupakan proses yang sangat penting untuk mengurangi kadar bahan-bahan berbahaya di lingkungan. Mikroba mendegradasi melalui suatu seri reaksi kimia yang cukup kompleks dan akhirnya menjadi metabolit yang tidak berbahaya dan tidak beracun (Singh, *et al.*, 2014).

Teknik bioremediasi dibagi menjadi tiga kategori menurut Shukla, *et al* (2010) yaitu: *in situ*, *ex situ* padat dan *ex situ* bubuk (*slurry*). Bioremediasi *in situ* yaitu proses pengelolaan limbah di lokasi limbah itu berada dengan mengandalkan kemampuan mikroorganisme yang telah ada di lingkungan tercemar untuk mendegradasinya, sedangkan Bioremediasi *ex situ* yaitu bioremediasi yang dilakukan dengan mengambil limbah di suatu lokasi lalu ditreatment di tempat lain, setelah itu baru dikembalikan ke tempat asal. Kemudian diberi perlakuan khusus dengan memakai mikroba.

Bioremediasi *ex situ* menurut Shukla, *et al* (2010) bisa lebih cepat dan mudah dikontrol dibanding *in situ*. Bioremediasi *ex situ* mampu meremediasi jenis kontaminan pada jenis tanah yang lebih beragam. Pemilihan teknologi yang tepat untuk strategi pengembangan bioremediasi bergantung pada tiga prinsip dasar, yaitu amenabilitas polutan terhadap transformasi biologis (biokimia), aksesibilitas kontaminan terhadap mikroorganisme (bioavailabilitas) dan kesempatan untuk optimalisasi Aktivitas biologis (bioaktivitas).

2.4 Pemanfaatan Mikroba dalam Bioremediasi Se

Mikroorganisme adalah agen utama yang dapat membersihkan dan memodifikasi molekul organik lipofilik kompleks menjadi produk sederhana.

Mikroorganisme dapat berasal dari daerah yang terkontaminasi atau dapat diisolasi dari tempat lain dan dibawa ke tempat yang terkontaminasi. Senyawa yang terkontaminasi ditransfer oleh organisme hidup melalui reaksi yang terjadi sebagai bagian dari proses metabolisme mereka (Gupta dan Mohapatra, 2003).

Adanya kontaminan yang berupa logam berat di lingkungan dapat menekan fungsi enzimatik dari mikroba. Sebagian mikroorganisme mampu tumbuh dengan baik dalam kondisi tercekam logam berat. Kemampuan ini sangat bergantung pada komunitas mikroba selektif dan juga pada kelompok struktural dan fungsional dari senyawa beracun (Singh, *et al.*, 2014).

Penggunaan mikroba dalam mengurangi bahaya pencemaran logam berat dapat dilakukan dengan cara detoksifikasi, biohidrometalurgi, bioleaching, dan bioakumulasi (Atlas dan Bartha, 1981; Baldi, *et al.*, 1990; Rai dan Mallick, 1992):

- a. Detoksifikasi (biosorpsi), pada prinsipnya mengubah ion logam berat yang bersifat toksik menjadi senyawa yang bersifat tidak toksik. Proses ini umumnya berlangsung dalam kondisi anaerob dan memanfaatkan senyawa kimia sebagai akseptor elektron.
- b. Biohidrometalurgi, pada prinsipnya mengubah ion logam yang terikat pada suatu senyawa yang tidak dapat larut dalam air menjadi senyawa yang dapat larut dalam air.
- c. Bioleaching merupakan aktivitas mikroba untuk melarutkan logam berat dari senyawa yang mengikatnya dalam bentuk ion bebas. Biasanya mikroba menghasilkan asam dan senyawa pelarut untuk membebaskan ion logam

dari senyawa pengikatnya. Proses ini biasanya langsung diikuti dengan akumulasi ion logam.

- d. Bioakumulasi merupakan interaksi mikroba dan ion-ion logam yang berhubungan dengan lintasan metabolisme.

Proses akumulasi oleh bakteri juga didasarkan oleh absorpsi logam berat. Absorpsi logam berat oleh mikroorganisme dibagi menjadi 2 yaitu: *passive uptake* dan *active uptake*. *Passive uptake* dikenal sebagai proses biosorpsi. Proses ini terjadi ketika ion logam berat mengikat dinding sel dengan dua cara yang berbeda, yaitu pertukaran ion-ion monovalent dan divalent seperti Na, Mg, Ca pada dinding sel digantikan dengan ion logam berat dan formasi kompleks antara ion-ion logam berat dengan grup fungsional seperti *amino*, *carbonyl*, *thio*, *hydroxyl*, *phosphate* dan *hydroxycarbonyl* yang berada pada dinding sel. Proses absorpsi ini bersifat bolak balik dan dapat terjadi di suatu biomassa pada sel mati dan sel hidup (Suhendrayatna, 2001).

Nana dan Adi (2012) mengatakan, *Active uptake* dapat terjadi pada berbagai tipe sel hidup. Mekanisme ini secara simultan terjadi sejalan dengan konsumsi ion logam untuk pertumbuhan mikroorganisme dan akumulasi intraseluler ion logam tersebut. Proses ini tergantung pada energi yang terkandung dan sensitifitasnya terhadap parameter yang berbeda seperti : pH, suhu, kekuatan ikatan ionik, dan cahaya.

Unsur selenium dapat diakumulasi lebih lanjut secara mikrobiologi untuk melarutkan selenida, yang dikombinasi dengan ion logam membentuk selenida logam tidak larut. Selenida dapat juga dipancarkan sebagai volatil dan gas H₂Se

yang sifatnya sangat reaktif, dalam interaksi antara selenium dan oksigen harus secara spontan karena cepat teroksidasi. Spesies organoselenium dan metil selenium juga mengandung selenida (Stolz, *et al.*, 2006).

Disimilasi reduksi oksianion selenium (SeO_4^{2-} dan SeO_3^{2-}) dalam lingkungan secara signifikan melibatkan konservasi energi metabolisme oleh mikroorganisme (Knight, *et al.*, 2002). Dalam kondisi aerobik atau mikroaerofilik, oksianion selenium dapat direduksi ke dalam unsur selenium menggunakan varian strain bakteri, baik melalui detoksifikasi atau homeostatis redox dalam bakteri fototrofik (Prakash, *et al.*, 2009). Huber, *et al.* (2000) mengatakan, anggota Archaeobacteria domain dapat menggunakan oksianion selenium (SeO_4^{2-} dan SeO_3^{2-}) sebagai akseptor elektron terminal dan mengurangi selenate dan selenit dan untuk unsur selenium tidak larut melalui disimilatori dalam kondisi anaerob.

Beberapa bakteri yang resisten terhadap Se telah berhasil diisolasi diantaranya: (1) *Ralstonia metallidurans* CH34, yaitu bakteri yang berasal dari tanah yang terkontaminasi logam, dapat resisten terhadap selenite hingga konsentrasi 6 mM. Pada dasarnya Se terakumulasi di sitoplasma sel sebagaimana yang terlihat pada mikroskop elektron dan analisis X-ray. Bakteri ini memiliki kemampuan resisten paling tinggi dibandingkan *Rhodobacter sphaeroides*, *Rhodospirillum rubrum* dan *Bacillus subtilis* dengan kisaran sekitar 2-5 mM, (2) *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis*, memiliki kemampuan untuk mereduksi selenite, kemampuan reduksi selenite akan meningkat apabila kondisi pH meningkat. *Bacillus licheniformis* mereduksi sekitar 90% pada konsentrasi 400 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan *Bacillus subtilis* mereduksi sekitar 85% dari konsentrasi

awal selenit 200 g/ml, (3) *Bacillus* sp. strain SF-11 hasil isolasi dari sedimen yang terkontaminasi Se dari limbah industri, mampu mereduksi selenate dalam kondisi anaerob (Roux, *et al.*, 2001; Kashiwa, *et al.*, 2001; Javed, *et al.*, 2016).

2. 5 Mekanisme Resistensi Bakteri Terhadap Logam Berat Se

Studi *in vitro* menunjukkan bahwa dosis asam selenium yang bersifat provokatif yaitu selenate dan selenite dapat memprovokasi sel kanker (Schrauzer dan Ishmael, 1974). Beberapa bakteri terbukti memiliki resistensi terhadap Se. Resistensi selenium tergantung pada reduksi selenate dan selenite kedalam bentuk selenida. Se dalam bentuk anion metil selenida atau selenol telah terbukti mampu menginduksi apoptosis pada sel tumor dan dalam bentuk selenometionin serta selenosistein telah terbukti mampu menginduksi apoptosis pada sel kanker melalui aktivasi kapsul. Hal ini menunjukkan bahwa selenometionin dan selenosistein tidak toksis jika dibandingkan dengan selenate dan selenite.

Tabel 2.1 Kemampuan komponen selenium untuk menghasilkan superoksida secara *in vitro*

Produk superoksida	Produk non superoksida
Selenite	Selenomethionine
Selenium dioksida	Selenate
Diselenodipropionate	Elemental selenium
Diphenylselenide	Selenobetaine
Selenocystine	Potassium-selenocyanate

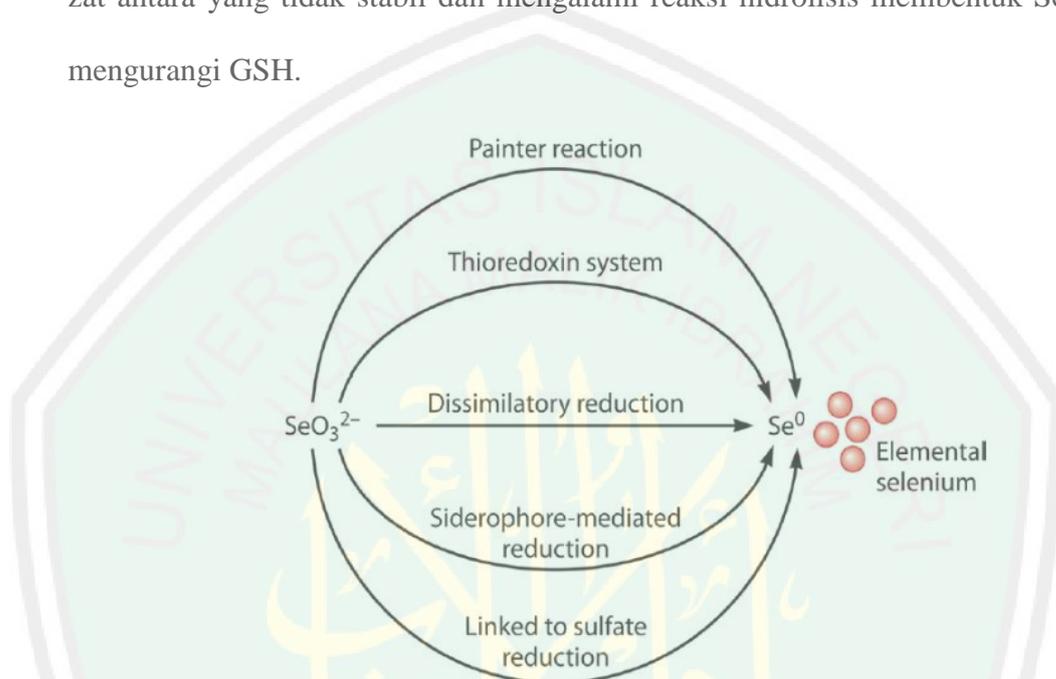
Sumber: Surai (2006).

Mekanisme molekuler toksisitas selenium tetap tidak jelas namun, ada database yang menyatakan bahwa apabila selenium bentuk selenite dalam konsentrasi berlebih akan terjadi aktivitas prooksidan (Mézes dan Balogh, 2009). Prooksidan adalah antioksidan dalam konsentrasi tinggi. Secara invitro senyawa selenium memiliki kemampuan yang berbeda untuk menghasilkan superoksida seperti ditunjukkan pada tabel 2.1.

Bentuk anorganik dari Se akan bereaksi dengan jaringan tiol di sitoplasma seperti *glutathione* untuk membentuk selenotrisulfida dan berikatan dengan tiol lainnya melalui katalis redoks untuk membentuk oksigen radikal bebas contohnya anion superoksida. Selenite akan bereaksi dengan glutathione secara endogen di dalam sel atau ekstraselular sel dan menyebabkan toksisitas oleh pembentukan superoksida dan elemen selenium (Seko, *et al.*, 1989) sedangkan, dalam bentuk organik yaitu selenosintin dan selenosistamin diubah menjadi selenol (RSeH) dengan adanya tiol yang juga menghasilkan oksigen radikal bebas. Selama proses reduksi superoksida dikatalis di bawah kondisi aerobik di dalam tiol (Mézes dan Balogh, 2009). Reaksi ini bisa berperan dalam toksisitas diselenida dan alkilselenol (Chaudiere, *et al.*, 1992).

Nancharaiah (2015) mengatakan bahwa mekanisme reduksi SeO_3^{2-} ke elemental Se dimediasi oleh tiol di sitoplasma sebagai bagian dari strategi detoksifikasi mikroba. Caranya dapat dilihat dari gambar 2.3 (i) *Painter-type reactions*, untuk mengamati reaktivitas yang tinggi antara SeO_3^{2-} dengan thiol dalam pembentukan selenotrisulfida (RS-Se-SR). (ii) *system reduktase thioredoxin*. (iii) mediasi reduksi siderophore. (iv) mediasi reduksi sulfide. (v)

reduksi disimilasi. SeO_3^{2-} Bereaksi dengan GSH dan membentuk selenodigluthione (GS-Se-SG) direduksi menjadi selenopersulfide glutathione (GS-Se⁻) Oleh NADPH glutathione reduktase. Selenopersulfida glutathione adalah zat antara yang tidak stabil dan mengalami reaksi hidrolisis membentuk Se^0 dan mengurangi GSH.



Gambar 2.3 Mekanisme reduksi *selenite* oleh mikroorganisme
Sumber: Nancharaiah (2015).

2. 6 PANTURA (Pantai Utara) Desa Campurejo Gresik

Kabupaten Gresik berada di antara 7^0 dan 8^0 Lintang Selatan serta antara 112^0 dan 113^0 Bujur Timur. Sepertiga bagian wilayah Kabupaten Gresik adalah daerah pesisir pantai sepanjang 140 Km dengan luas wilayah perairan $5.773,80 \text{ Km}^2$. Di Kabupaten Gresik mengalir dua sungai besar, yaitu Bengawan Solo di sebelah Utara dan Sungai Brantas di sebelah Selatan. Sebagian besar wilayahnya merupakan dataran rendah dengan ketinggian antara 2-12 meter di atas permukaan

laut kecuali sebagian kecil di bagian utara (Kecamatan Panceng), yang mempunyai ketinggian sampai 25 meter di atas permukaan laut (Wiweka, 2008).

Kabupaten Gresik dibatasi oleh beberapa wilayah menurut Wiweka (2008) yaitu:

Bagian Utara : Laut Jawa.

Bagian Timur : Selat Madura.

Bagian Selatan : Kabupaten Sidoarjo, Kabupaten Mojokerto, Kota Surabaya.

Bagian Barat : Kabupaten Lamongan.

Desa Campurejo merupakan satu diantara nama desa yang berada di Kecamatan Panceng, Kabupaten Gresik. Jarak antara Kota Gresik menuju Desa Campurejo \pm 45 km, jika ditempuh dengan kendaraan kira-kira dalam jangka waktu 1 jam. Luas wilayah desa campurejo adalah 4,38 km² atau 7 % dari keseluruhan luas kecamatan panceng yaitu 62,95 km². Secara administratif, desa Campurejo dibagi menjadi 3 dusun yaitu dusun Sidorejo, dusun Rejodadi, dan dusun Karang Tumpuk (Aziz, 2014). Lokasi pengambilan sampel sedimen dapat dilihat pada gambar 2.4 adalah sebagai berikut:

- | | |
|-----------------------------|--------------------------|
| a. Jalan : pantai campurejo | d. Kecamatan : Panceng |
| b. Kode Pos : 61156 | e. Kabupaten : Gresik |
| c. Desa : Campurejo | f. Provinsi : Jawa Timur |

Keadaan geografis dari pantai utara campurejo menurut Dinas Kelautan, Perikanan, Dan Peternakan Kab. Gresik (2013) adalah:

Jenis Tanah : Lapisan lempung lanau berpasir batu karang warna abu-abu lapisan lebih dari 5 meter adalah lapisan batu karang.

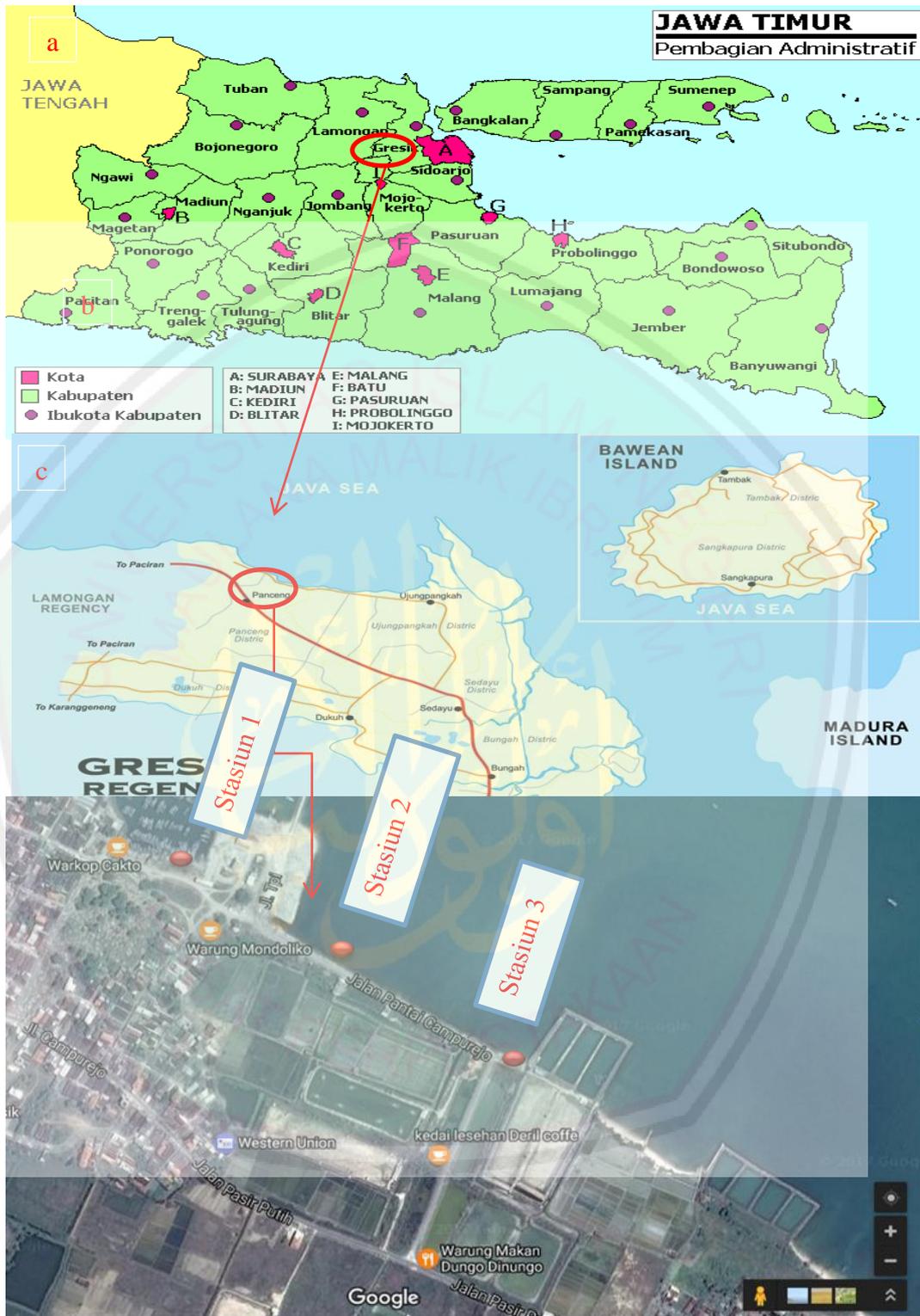
Arah Angin : Dominan menuju timur laut dan sebagian menuju tenggara dengan kecepatan 3-5 knots. Pada bulan Januari- Maret angin bertiup hingga 25 knots dan gelombang besar.

Gelombang : Gelombang harian pantai campurejo sebesar 0,9-1 m.

Pasang Surut : Tinggi pasang surut sebesar 2,1 m.

Sedimentasi : di dominasi oleh material pasir dan lumpur dengan sedikit lanau 40%, pasir 37% dan lempung 23%.





Gambar 2.4 a. peta provinsi jawa timur, b. peta kabupaten Gresik, c. peta lokasi pengambilan sampel. Sumber: Google maps.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada tanggal Juli - November 2017, Bertempat dilaboratorium Mikrobiologi dan laboratorium Biokimia, Jurusan Biologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Uji *microbact* dilakukan dilaboratorium Biologi Universitas Airlangga Surabaya. Analisis logam Se dilakukan di Balai Pelatihan Dan Konsultasi Industri Surabaya.

3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif dan eksperimental, berupa eksplorasi dengan cara mengisolasi, mengidentifikasi bakteri resisten selenium, dan menguji akumulasi bakteri resisten selenium dari sedimen Pantai Utara Desa Campurejo, Kecamatan Panceng, Gresik, Jawa Timur dengan perlakuan penambahan sodium selenite dan selenate yaitu: 0 mM, 5 mM, 10 Mm.

Perlakuan diatas masing- masing dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Setelah diperoleh koloni bakteri yang dapat hidup pada media yang mengandung selenium selanjutnya dilakukan uji resistensi dan uji akumulasi. Data yang diperoleh disajikan secara deskriptif kualitatif yang meliputi karakteristik mikroskopis, karakteristik makroskopis, uji *microbact*, serta data hasil uji resistensi dan uji akumulasi selenium. secara eksperimental dilalukan untuk

mengetahui pengaruh variasi konsentrasi selenium terhadap jumlah isolat bakteri yang dapat mengakumulasi selenium.

3.3 Alat dan bahan

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah: botol sampel, botol semprot, *ice box*, gunting, corong gelas, cawan petri, tabung reaksi, pipet tetes, rak tabung reaksi, penjepit tabung reaksi, *beaker glass*, erlenmeyer, gelas ukur, aluminium foil, neraca analitik, spatula, *hot plate*, ose, keranjang alat, oven, korek api, bunsen, spidol, stirer, inkubator, *shaker incubator*, *Laminar Air Flow* (LAF), *Atomic Absorbansi Spectrofotometer* (AAS), panci destruksi, autoklaf, kulkas, *bluetipe*, mikropipet, mikroskop, *cover glass*, *objek glass*, dan swap.

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Basal Salt Medium (BSM) menurut Ayano, *et al* (2014) dalam 1 L terdiri dari komposisi: K_2HPO_4 0.5 g, NH_4CL 1 g, $NaCl$ 0.05 g, $MgCl_2 \cdot 7H_2O$ 0.2 g, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 0.01 g, $CaCl_2$ 0.01 g, Na_2SO_4 0.05 g, H_3BO_3 0.06 g, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 0.1 g, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.12 mg, $ZnCl_2$ 0.07 mg, $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.025 mg, $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.015 mg, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 0.025 mg, *Bacto Yeast Extract* 0.02 g dan nitrilotriacetic acid 0.216 g, Na_2SeO_3 (sodium selenit), Na_2SeO_4 (sodium selenat), media standart menurut Romaidi dan Ueki

(2016) dalam 1 L terdiri dari komposisi: *Bacto Yeast Extract* 25 g, pepton 50 g, dan glukosa 10 g, pewarnaan gram (larutan gentian violet, larutan iodium, larutan safranin, alkohol 96%), mineral oil, reagen Nitrat A dan B, Aquadest steril, Alkohol 70%, plastik wrap, tisu, spirtus, kapas, kasa, kertas label, plastik, karet gelang, sampel sedimen dari Pantai Utara Desa Campurejo, Kecamatan Panceng, Gresik.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian harus disterilisasi terlebih dahulu agar terhindar dari kontaminasi. Sterilisasi dilakukan dengan cara mencuci alat-alat sampai bersih kemudian dikeringkan. Alat-alat gelas kemudian dimasukkan ke dalam plastik dan diikat dengan rapat agar uap air dan kontaminan lain tidak masuk di dalamnya, untuk cawan petri harus dibungkus dengan kertas terlebih dahulu sebelum dimasukkan ke dalam plastik dan diikat rapat. Langkah selanjutnya semua alat dan bahan dimasukkan ke dalam autoklaf dengan temperatur 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit (Rohmah, 2017).

3.4.2 Preparasi Sampel

Metode pengambilan sampel sedimen dalam penelitian ini menggunakan (Sekhar, *et al.*, 2012) yaitu pada kedalaman 0,5-1 meter dari permukaan pantai yang berasal dari Pantai Utara Desa Campurejo, Kecamatan Panceng, Gresik.

Pada penelitian ini ditentukan tiga titik sampling yang berbeda. Titik sampling 1 berada di PPI (Pangkalan Pendaratan Ikan) Campurejo, titik sampling 2 berada di jalan pantai indah Campurejo, dan titik sampling ke tiga berada di jalan pantai Campurejo.



Gambar 3.1 a) stasiun 1, b). stasiun 2, c) stasiun 3.

Doc. Pribadi.

Pengambilan dilakukan di tiga titik sampling tersebut dikarenakan memiliki kandungan Se yang berbeda yaitu titik sampling (1) sebesar $480 \mu\text{g/L}$ Se, titik sampling (2) sebesar $670 \mu\text{g/L}$ Se, dan titik sampling (3) sebesar $570 \mu\text{g/L}$ Se, sehingga dimungkinkan bakteri resistensi Se akan beragam pula. Untuk titik sampling pada masing-masing sampling diambil sampel sedimen menggunakan

grab sampel. Sampel sedimen tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam botol sampel steril secara aseptik dengan cepat untuk mencegah kontaminasi bakteri dari udara. Sampel disimpan menggunakan *ice box* dengan suhu 4°C sampai digunakan untuk analisis di laboratorium (Narasingarao dan Häggblom, 2007).

3.4.3 Pembuatan Media

Media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri pada penelitian ini adalah media BSM (*Basal Salt Medium*). Media yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam *beaker glass*, kemudian ditambahkan aquades sampai 1 liter, dipanaskan di atas *hotplate* sampai mendidih dan dihomogenkan menggunakan stirer. Setelah homogen, media dituang ke dalam erlemeyer dan ditutup dengan aluminium foil dan plastik, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm. Media yang sudah steril kemudian didiamkan dalam kulkas selama 1 x 24 jam untuk melihat adanya kontaminasi atau tidak. Selanjutnya media yang steril di panaskan dengan *hotplate* sampai mencair dan dituangkan ke cawan petri sesuai dengan perlakuan. Media di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk mengetahui adanya kontaminan. Setelah itu, media yang tidak terdapat kontaminan dipilih untuk digunakan pada prosedur selanjutnya.

Media yang digunakan untuk uji kurva pertumbuhan dan uji bioakumulasi yaitu media cair standart. Media yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam *beaker glass*, kemudian ditambahkan aquades sampai 1 liter, dipanaskan di atas *hotplate*

sampai mendidih dan dihomogenkan menggunakan stirer. Setelah homogen, media dituang ke dalam erlemeyer dan ditutup dengan aluminium foil dan plastik, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm. Media yang sudah steril kemudian didiamkan dalam kulkas selama 1 x 24 jam untuk melihat adanya kontaminasi atau tidak. Selanjutnya media yang tidak terdapat kontaminan dipilih untuk digunakan pada prosedur selanjutnya.

3.4.4 Isolasi Bakteri Resisten Se

Proses isolasi bakteri pada penelitian ini menggunakan pengenceran bertingkat dengan mengambil 1 g sampel sedimen ditambahkan pada 10 ml aquades steril. Pengenceran bertingkat dilakukan sampai 10^{-5} (Al-Zereini, 2014). Kemudian pada pengenceran 10^{-5} diambil 20 μ l untuk diinokulasikan dalam media BSM yang mengandung Se (sodium selenite) dengan konsentrasi yang berbeda yaitu: 0 mM, 5 mM, 10 mM dengan cara dituang secara merata (*spread plate*) dan dilakukan sebanyak 3 x ulangan. Kemudian di inkubasi selama 7 x 24 jam dalam suhu 25°C. Media dinyatakan positif terdapat bakteri resisten Se jika terbentuk koloni berwarna merah, koloni yang berwarna putih dinyatakan negatif (Avendaño, *et al.*, 2016). Koloni yang tumbuh kemudian diamati dan dihitung setiap 1 x 24 jam dengan menggunakan *colony counter*.

Uji selanjutnya yaitu uji resistensi bakteri terhadap sodium selenate. Tujuannya untuk menyeleksi isolat bakteri yang dapat resisten terhadap Se pada oksidasi yang lebih tinggi. Uji ini dilakukan dengan dipilih isolat yang resisten

terhadap sodium selenit pada konsentrasi 10 mM yang menghasilkan warna koloni merah secara acak untuk diinokulasikan kembali dalam media BSM agar miring 3 ml yang mengandung Se (sodium selenate) dengan konsentrasi yang berbeda yaitu: 0 mM, 5 mM, 10 mM dengan cara gores pada tabung reaksi. Dilakukan sebanyak 3 x ulangan. Kemudian di inkubasi selama 7 x 24 jam dalam suhu 25°C. Media dinyatakan positif terdapat bakteri resisten Se jika terbentuk koloni berwarna merah, koloni yang berwarna putih dinyatakan negatif (Avendaño, *et al.*, 2016). Koloni yang tumbuh kemudian diamati dan dihitung setiap 1 x 24 jam dengan menggunakan *colony counter*.

3.4.5 Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri dilakukan dengan koloni bakteri yang tumbuh pada media BSM yang mengandung Se dengan konsentrasi paling tinggi yaitu 10 mM dan dipilih secara acak dan diidentifikasi dengan menggunakan *microbact* yang mengacu pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th* yang meliputi karakteristik makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis berupa pengamatan bentuk, warna, tepi, dan permukaan koloni. Pengamatan mikroskopik yang dilakukan meliputi pewarnaan gram.

3.4.5.1 Identifikasi Bakteri Menggunakan *Microbact*

Hasil identifikasi dari masing-masing isolat diidentifikasi menggunakan kit *Microbact* 12A/ 12E atau 24E dan mengacu pada buku *Bergey's Manual of Determination Bacteriology 9th*. Sebelum menentukan menggunakan kit *Microbact* 12A/ 12E atau 24E, koloni bakteri terlebih dahulu diuji oksidasinya.

Jika hasil uji oksidasi negatif, maka menggunakan kit *Microbact* 12A/12E, sedangkan jika hasil oksidatifnya positif maka menggunakan 24E (Oxoid, 2001-2007)

Isolat bakteri yang telah di inkubasi selama 18-24 jam diambil dengan ose kemudian dilarutkan ke dalam 5 ml garam fisiologis 0,9% pada tabung reaksi steril dan di vortex hingga homogen. Suspensi bakteri yang homogen diteteskan ke dalam sumur *Microbact* sebanyak 100 µl, untuk sumur Lysin, Omitin, dan H₂S, ditambah dengan 1-2 tetes *mineral oil*. Setelah itu *Microbact* diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. *Microbact* yang telah diinkubasi diambil kemudian diteteskan 2 tetes reagen Nitrat A dan B pada sumur 7, pada sumur 8 dengan *Indol Kovact* sebanyak 2 tetes, sumur 10 dengan VP I dan VP II asing-masing satu tetes, dan sumur 12 ditambahkan satu tetes TDA (Oxoid, 2001-2007).

Uji fermentasi karbohidrat pada *Microbact* 12B, tanpa ada penambahan reagen (hasil dari sumuran) langsung bisa dibaca hasilnya. Evaluasi hasil dilihat melalui sumur-sumur *Microbact* apakah positif atau negatif dengan cara membandingkan tabel warna dan hasilnya ditulis pada formulir *Patient Record*. Jika fermentasi positif menunjukkan warna kuning, sedangkan hasil negatif tidak ada perubahan warna, tetap biru. (Bridson, 1998).

3.4.6 Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri

Bakteri resisten Se diperkaya dengan media standart tanpa penambahan Se diinkubasi pada suhu 25°C selama 24 jam. Dilakukan subkultur pada media

standart dengan perlakuan Se (sodium selenit) 0 mM, 5 mM, dan 10 mM. Pengukuran pertumbuhan bertujuan untuk mengetahui karakter pertumbuhan bakteri dan waktu optimal dalam mengakumulasi Se. Pengamatan dilakukan dengan selang waktu 8 jam hingga menemukan fase kematian selanjutnya, diukur *Optical density* (OD)₆₀₀ (Romaidi dan Ueki, 2016).

3.4.7 Uji Akumulasi Selenium Pada Bakteri Resisten Se yang Terpilih

Uji akumulasi menggunakan metode dari (Romaidi dan Ueki, 2016). Sel bakteri resisten yang terpilih diremajakan pada media BSM cair. Setelah mencapai fase lag suspensi sel bakteri diukur *Optical density* (OD)₆₀₀. Sel bakteri resisten digunakan sebagai inokulum untuk di sub kultur dalam media dengan volume 10 mL standart cair yang mengandung sodium selenit 0 μ M, 100 μ M, dan 200 μ M. Setiap konsentrasi diulang dengan 3 kali ulangan. Konsentrasi ini mengacu pada penelitian Tanaka, *et al* (2016) yaitu: bakteri resisten Se mampu mengakumulasi Se sebanyak 100 μ M. Sehingga peneliti ingin mengetahui kemampuan akumulasi Se pada konsentrasi yang lebih tinggi. Isolat bakteri kemudian diinkubasi menggunakan shaker inkubator dengan kecepatan 130 rpm pada suhu 25°C selama 24 jam. Diambil 10 ml sampel bakteri dan disaring menggunakan kertas saring bebas abu. Residu yang diperoleh dikeringkan dan diabukan pada suhu 400-600°C. Ditambah 50 ml 6HCL dan 1 ml HNO₃ 60% kemudian disaring kembali. filtrat jernih yang diperoleh dimasukkan AAS menggunakan pipa kapiler dan dibakar

sampai warna bakar biru. Diukur kadar selenium dengan menggunakan *atomic absorption spectrometry* (AAS).

3.5 Analisa Data

Data tentang isolasi bakteri resisten Se disajikan secara deskriptif kualitatif yang meliputi jenis isolat bakteri dari sedimen Pantai Utara Campurejo yang berpotensi sebagai agen bioremediasi Se, karakteristik makroskopis, karakteristik mikroskopis dan hasil uji biokimia menggunakan *microbact*, sedangkan data akumulasi yang diperoleh dari penelitian ini disajikan dengan analisis penurunan konsentrasi logam berat dengan One Way Anova dan dilanjut dengan DMRT atau BNT jika ada perbedaan.

Data hasil pengamatan dianalisis secara nalar islam dan diintegrasikan dengan Al-Qur'an dan Hadist. Dalam hal ini nilai-nilai islam yang berdialog dengan hasil penelitian menjadi bukti akan kebenaran firman Allah yang termuat dalam Al-Qur'an, sebagai landasan berfikir dan berperilaku.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Bakteri Resisten Selenium

Sampel yang digunakan berasal dari sedimen pantai utara Campurejo yang telah terbukti terdapat kontaminasi Se dengan kandungan Se 400-700 $\mu\text{g/L}$. Kandungan Se tersebut 200 kali lebih tinggi jika dibandingkan dengan standart konsentrasi selenium pada perairan lotik yaitu 3,1 $\mu\text{g/L}$ (EPA) *Enviromental Protection Agency* (2016). Oleh karena itu, kondisi lingkungan pantai utara Campurejo yang sedimennya banyak mengandung Se merupakan kondisi yang mendukung untuk pertumbuhan bakteri resisten Se. Sampel sedimen selanjutnya diencerkan secara bertingkat sampai 10^{-5} , selanjutnya sampel diambil untuk diinokulasikan dalam media BSM padat yang mengandung sodium selenite (Na_2SeO_3) dengan perlakuan konsentrasi 0 mM, 5 mM, dan 10 mM. Warna orange-merah yang dibentuk oleh koloni menunjukkan bahwa bakteri tersebut resisten dan mampu mengakumulasi selenium (Avendaño, *et al.*, 2016).

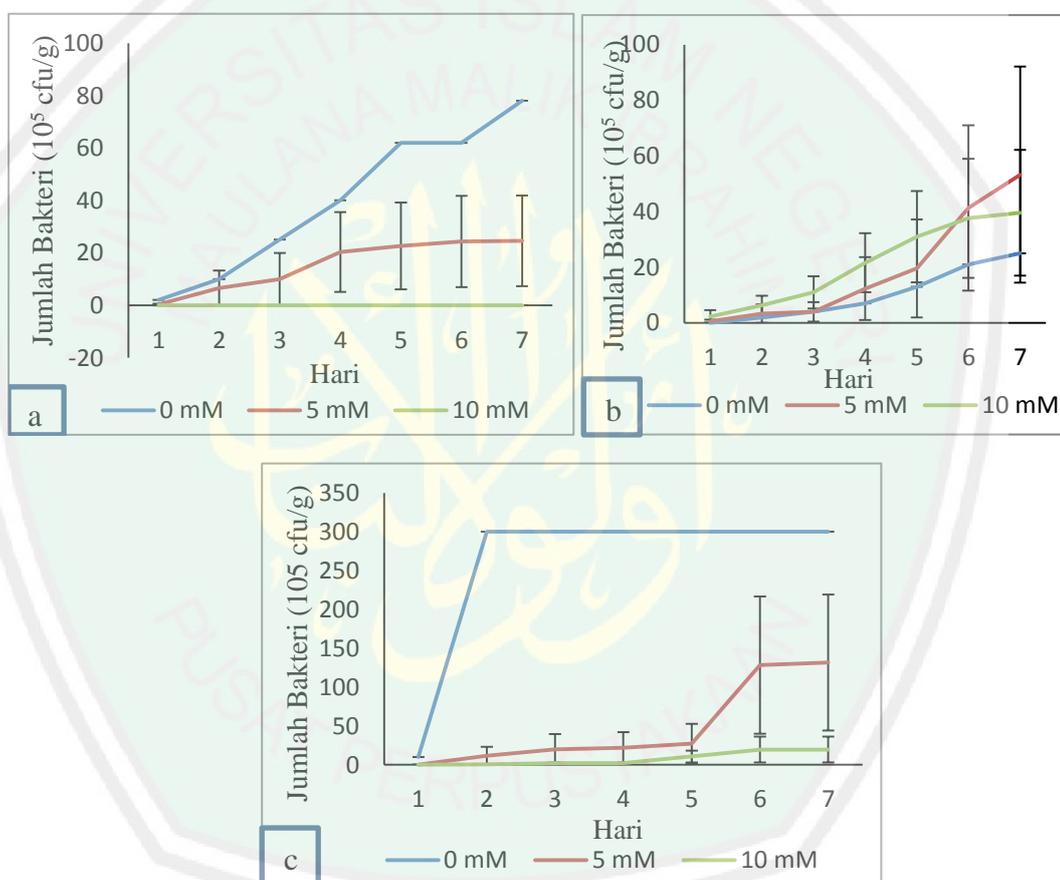
Skrining awal sampel setelah masa inkubasi 7 hari menunjukkan bahwa semua sampel sedimen yang berasal dari tiga stasiun positif memiliki kemampuan resistensi terhadap Se. Hasil yang didapatkan setelah masa inkubasi 7 hari yaitu pada konsentrasi 0 mM Se atau kontrol menunjukkan koloni bakteri warna putih. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak memiliki kemampuan dalam akumulasi

Se. Sedangkan, isolat bakteri yang resisten terhadap selenium mampu tumbuh dengan baik pada konsentrasi yang diberikan yaitu pada konsentrasi 5 mM, dan 10 mM. Untuk mengubah sodium selenit menjadi Se elemental dibutuhkan waktu 6-7 hari ditandai dengan terbentuknya warna merah. Perubahan warna bakteri dapat dilihat pada lampiran 9.

Avendaño, *et al* (2016) mengatakan, warna merah tersebut mengindikasikan selenium telah dirubah menjadi Se elemental dalam tubuh bakteri. Kemampuan mengakumulasi Se diindikasikan dengan kepekatan warna merah yang dibentuk oleh isolat bakteri sesuai dengan tingkat perubahan selenat (SeO_4^{2-}) dan selenit (SeO_3^{2-}) menjadi Se elemental (Se^0). Oleh karena itu, semakin banyak selenat (SeO_4^{2-}) dan selenit (SeO_3^{2-}) yang diakumulasi oleh bakteri menjadi bentuk Se elemental (Se^0) maka, warna yang terbentuk pada koloni bakteri akan semakin merah. Bakteri yang resisten selenite memiliki sifat aerob dan bakteri yang resisten selenate bersifat anaerob.

Pertumbuhan bakteri dapat terhambat karena adanya logam dalam lingkungan. Selenate dan selenite yang bersifat racun akan menghalangi kerja enzim. Keadaan ini akan memengaruhi proses metabolisme sel yang berakibat pada jumlah sel yang dihasilkan. Berdasarkan waktu pertumbuhannya, isolat bakteri yang resisten pada ke tiga titik sampling dengan konsentrasi 0 mM, 5 mM, 10 mM pengenceran 10^{-5} dapat dilihat pada lampiran 4 dan gambar 4.1 memiliki waktu pertumbuhan yang berbeda serta memiliki kemampuan akumulasi Se yang berbeda. Pada konsentrasi selenite 10 mM dari ketiga stasiun jumlah bakteri resisten Se paling banyak ditemukan pada stasiun 2. Hal ini menunjukkan bahwa

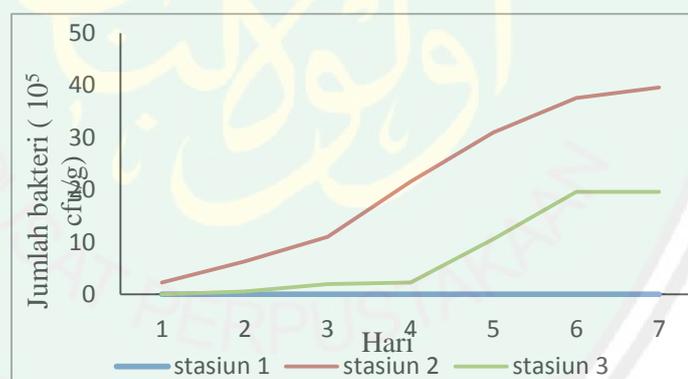
bakteri pada stasiun 2 memiliki resistensi tertinggi daripada stasiun 1 dan 3. Bakteri resisten pada media BSM yang mengandung sodium selenite dengan konsentrasi 10 mM pada stasiun 2 mulai tumbuh pada hari ke-1. Pertumbuhan bakteri pada stasiun 2 terus meningkat jumlahnya pada masa inkubasi 4 hari. Sedangkan, pada stasiun 3 bakteri mulai tumbuh pada hari ke-1, dan pada stasiun 1 tidak ditemukan koloni yang tumbuh.



Gambar 4.1. Pengaruh lama inkubasi dan konsentrasi selenite terhadap jumlah bakteri resisten Se pada masing-masing stasiun. a) stasiun 1, b) stasiun 2, c) stasiun 3.

Pada gambar 4.1 stasiun 1 dan 3 menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri resisten Se akan menurun seiring dengan bertambahnya konsentrasi Se yang ditambahkan dalam media. Pada konsentrasi 0 mM dan 5 mM jumlah bakterinya

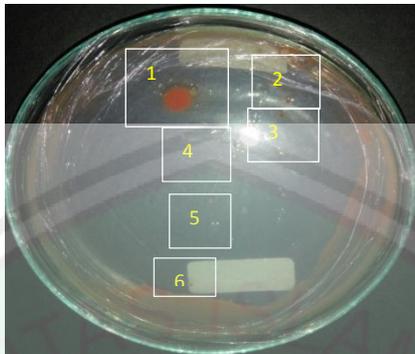
cenderung lebih padat jika dibandingkan pada konsentrasi 10 mM. Hal ini mengindikasikan bahwa toksisitas Se yang cukup tinggi dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Pada stasiun 2 bakteri memiliki resistensi Se tertinggi dikarenakan arus pantai yang tenang membuat kontaminasi Se pada sedimen lebih tinggi daripada stasiun 1 dan 3, sehingga bakteri yang ada pada stasiun 2 cenderung lebih resisten terhadap Se untuk mempertahankan kehidupannya. Perbandingan jumlah bakteri resisten selenite berdasarkan lama inkubasi pada konsentrasi 10 mM dapat dilihat pada gambar 4.2. Crawford dan Don (1998) mengatakan bahwa mikroorganisme memiliki mekanisme perlindungan terhadap logam beracun untuk mempertahankan hidupnya. Mekanisme ini melibatkan pembentukan kompleks logam dengan protein dalam membran sel, sehingga logam dapat terakumulasi dalam sel tanpa mengganggu pertumbuhannya.



Gambar 4.2. Perbandingan lama inkubasi bakteri resisten Se pada konsentrasi 10 mM dari ketiga stasiun dari PANTURA Campurejo. Resistensi tertinggi ditunjukkan pada stasiun 2.

Jumlah bakteri yang diperoleh dari stasiun 2 lebih tinggi dari stasiun 1 dan 3 yaitu mencapai 39,6 cfu/g. namun, karena koloni yang terbentuk terlalu kecil dan menyatu dibagian tepi cawan maka, hanya dipilih 6 isolat bakteri yang tumbuh pada cawan hasil isolasi dari stasiun 2 secara acak yang dapat dilihat dari

gambar 4.3 selanjutnya diisolasi kembali dalam sodium selenate (Na_2SeO_4) untuk melihat kemampuan resistensi bakteri tersebut terhadap sodium selenate.



Gambar 4.3 Koloni tunggal bakteri terpilih yang akan diisolasi pada media BSM yang mengandung sodium selenate pada konsentrasi yang berbeda. (1) CWB-1, (2) CWB-2, (3) CWB-3, (4) CWB-4, (5) CWB-5, dan (6) CWB-6. Sumber: Doc. Pribadi.

Fujita, *et al* (1997) mengatakan selenite lebih mudah dikurangi daripada selenate dikarenakan nilai oksidasi selenate yang lebih tinggi dari pada selenite, sehingga bakteri yang resisten terhadap sodium selenate dapat dipastikan mampu mengakumulasi Se dalam bentuk sodium selenite. Hasil isolasi 6 isolat bakteri tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil Resistensi 6 isolat bakteri terhadap sodium selenate pada konsentrasi yang berbeda dengan lama waktu inkubasi 7 hari.

Strain	0 mM sodium selenate	5 mM sodium selenate	10 mM sodium selenate
CWB-1	+	++	++
CWB-2	+	-	-
CWB-3	+	+	+
CWB-4	+	-	-
CWB-5	+	-	-
CWB-6	+	+	-

Keterangan: ++ (Tumbuh dan berubah warna menjadi merah)
 + (Tumbuh)
 - (Tidak tumbuh).

Berdasarkan hasil isolasi pada media yang mengandung sodium selenate dengan konsentrasi 0 mM, 5 mM, dan 10 mM setelah masa inkubasi 7 hari pada konsentrasi 0 mM Se atau kontrol menunjukkan semua koloni bakteri berwarna

putih. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak memiliki kemampuan dalam akumulasi Se. Hasil isolasi pada media yang mengandung sodium selenate menunjukkan bahwa hanya strain CWB-1 dan CWB-3 yang mampu tumbuh pada media yang mengandung sodium selenate pada konsentrasi 10 mM. Namun, strain CWB-3 menunjukkan warna koloni putih dengan jumlah CFU 2×10^5 dan hanya strain CWB-1 yang menunjukkan warna koloni merah dengan CFU 39×10^5 . Hal ini menunjukkan bahwa hanya isolat CWB-1 yang positif memiliki kemampuan resistensi terhadap selenate dan mampu mengakumulasi selenate menjadi Se elemental.

Isolat CWB-1 membutuhkan waktu 4 hari untuk mengubah sodium selenate menjadi Se elemental. Perubahan tersebut ditandai dengan terbentuknya warna merah. Menurut Silverberg, *et al* (1976) dan Tomei, *et al* (1992), bakteri dapat mengurangi selenate menjadi selenium elemental dan menyimpannya sebagai granula diskrit dalam sitoplasma. Berdasarkan penelitian sebelumnya pada bakteri *Aeromonas sp*, *Escherichia coli*, *Flavobacterium sp*, dan *Pseudomonas sp* deposit minimum selenium terbukti berada di dalam sitoplasma bakteri.

4.2 Identifikasi Bakteri Resisten Selenite Secara Makroskopik dan Mikroskopik

Bakteri yang resisten terhadap Se pada konsentrasi tertinggi yaitu 10 mM pada cawan yang sudah diisolasi dengan sodium selenite selanjutnya dipurifikasi untuk memperoleh isolat murni. Pemurnian dilakukan dengan mengambil satu *single colony* secara aseptis dan diinokulasikan ke permukaan media BSM dengan konsentrasi 10 mM sodium selenite. Pemurnian dilakukan dengan teknik cawan

gores pada agar miring. Menurut Amelia (2016) Pemindahan dilakukan sampai koloni yang tumbuh memiliki penampakan seragam yang menandakan koloni bakteri yang tumbuh merupakan bakteri dari jenis yang sama. Setelah itu dilakukan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis.

Pemeriksaan dengan sifat kasar atau makroskopis adalah pemeriksaan yang dapat diketahui secara jelas melalui panca indera, baik dengan penglihatan, penciuman dan sebagainya secara langsung tanpa menggunakan alat bantu. Pemeriksaan makroskopis koloni dinilai dari bentuk (*round, round with raised margin, complex, irregular, filamentous*, atau *rhizoid*), permukaan (*flat, raised*, atau *convex*). Karakteristik makroskopik bakteri resisten selenium hasil isolasi dari stasiun 2 pantai utara Campurejo, Panceng, Gresik dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Karakteristik isolat Bakteri Hasil Isolasi dari Sedimen PANTURA Campurejo Panceng Gresik

Kode Isolat	Karakteristik					
	Warna koloni	Permukaan koloni	Tepi koloni	Bentuk Sel	Ukuran Sel (μm)	Jenis Gram
CWB-1	Merah pekat	Timbul datar	Utuh	Basil	3	+
CWB-2	Merah	Rata	Utuh	Basil berantai	4,87	-
CWB-3	Tepi merah muda, tengah merah	Rata	Utuh	Coccus	1	+
CWB-4	Merah	Rata	Utuh	Basil	3,9	-
CWB-5	Tepi merah muda, tengah merah	Cembung	Utuh	Basil panjang berantai	3,6	+
CWB-6	Tepi merah muda, tengah merah	Rata	Utuh	Basil pendek	1,7	+

Keterangan: (+) positif, (-) negative

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa berdasarkan pengamatan morfologi koloni tersebut memiliki kesamaan yaitu tepi utuh (entire). Bentuk koloni CWB-1, CWB-2, CWB-4 bulat, bentuk koloni CWB-3, CWB-5 dan CWB-6 bulat dengan bulatan ditengah. Warna koloni CWB-1 merah pekat, warna koloni CWB-2 dan CWB-4 merah, warna koloni CWB-3, CWB-5 dan CWB-6 tepi merah muda, tengah merah. Permukaan CWB-1 timbul datar (raised), CWB-2, CWB-3, CWB-4 dan CWB-6 permukaannya rata (flat) dan CWB-5 memiliki permukaan cembung. Ukuran koloni CWB-1 yaitu: 6,31 mm, ukuran koloni CWB-2 yaitu: 1,10 mm, CWB-3: 1,30 mm, CWB-4: 0,46 mm, CWB-5: 1,41 mm, dan ukuran koloni CWB-6: 1,06 mm selanjutnya, dilakukan pengamatan secara mikroskopik.

Pengamatan secara mikroskopik dilakukan dengan pewarnaan gram. Pewarnaan diferensial ini memerlukan 4 jenis reagen. Isolat bakteri diambil satu ose dan disuspensikan dengan aquades yang ada diatas objek glas secara aseptis. Preparat difiksasi diatas api bunsen sampai kering. Preparat ditetesi reagen pewarna dasar yaitu gentian violet, didiamkan selama 1 menit, dan dicuci dengan aquades secara mengalir dan dikeringkan. Preparat ditetesi larutan pengikat warna dasar yaitu larutan iodium (lugol), didiamkan selama 1 menit, dicuci dengan aquades secara mengalir dan dikeringkan. Preparat ditetesi larutan pencuci warna dasar yaitu alkohol 96% atau decolorizing sampai warna ungu menghilang. Preparat ditetesi larutan pembanding yaitu safranin, didiamkan selama 1 menit, dicuci dengan aquades secara mengalir dan dikeringkan. Selanjutnya diamati dibawah mikroskop. Hasil pengamatan mikroskopik dapat dilihat pada lampiran 10. Dalam QS. Yunus ayat 61 Allah berfirman:

وَمَا تَكُونُ فِي شَأْنٍ وَمَا تَتْلُوا مِنْهُ مِنْ قُرْءَانٍ وَلَا تَعْمَلُونَ مِنْ عَمَلٍ إِلَّا كُنَّا عَلَيْكُمْ شُهُودًا إِذْ تُفِيضُونَ فِيهِ ۗ وَمَا يَعْزُبُ عَنْ رَبِّكَ مِنْ مِثْقَالِ ذَرَّةٍ فِي الْأَرْضِ وَلَا فِي السَّمَاءِ وَلَا أَصْغَرَ مِنْ ذَلِكَ وَلَا أَكْبَرَ إِلَّا فِي كِتَابٍ مُبِينٍ ﴿٦٦﴾

Artinya:

“Kamu tidak berada dalam suatu keadaan dan tidak membaca suatu ayat dari Al Quran dan kamu tidak mengerjakan suatu pekerjaan, melainkan kami menjadi saksi atasmu di waktu kamu melakukannya. tidak luput dari pengetahuan Tuhanmu biarpun sebesar zarrah (atom) di bumi ataupun di langit. tidak ada yang lebih kecil dan tidak (pula) yang lebih besar dari itu, melainkan (semua tercatat) dalam Kitab yang nyata (Lauh mahfuzh).

Berdasarkan ayat diatas dapat diketahui bahwa semua yang ada di bumi tidak luput dari pengetahuan Allah meskipun sekecil apapun. *Lafadz zarrah* dalam bahasa arab artinya benda kecil yang tidak dapat dibagi-bagi. Namun, dalam biologi *lafadz zarrah* diartikan sebagai makhluk hidup yang berbentuk kecil dan tidak dapat diamati dengan mata telanjang (Mubarakfuri, 2007). Dalam hal ini dapat diartikan sebagai bakteri, termasuk juga bakteri resisten selenium yang berasal dari sedimen pantai utara Campurejo. Sel bakteri dapat diamati dengan menggunakan mikroskop dengan cara pewarnaan gram. Dalam hal ini dapat diartikan bahwa Allah menciptakan segala sesuatu tiada yang sia-sia, begitu pula terhadap bakteri yang sangat kecil juga terdapat manfaat didalamnya jika manusia mau mempelajarinya.

Berdasarkan pewarnaan gram didapatkan bahwa bakteri strain CWB-1 adalah gram positif, membentuk spora, berbentuk batang, ukuran 3 μm . strain CWB-2 adalah gram negatif, berbentuk batang berantai, ukuran 4,87 μm . strain CWB-3 adalah gram positif, berbentuk coccus, ukuran 1 μm . Strain CWB-4 adalah gram negatif, berbentuk batang, ukuran 3,9 μm . Strain CWB-5 gram

positif, berbentuk batang panjang berantai, ukuran 3,6 μm dan straint CWB-6 gram positif, basil pendek, panjangnya 1,7 μm . Bakteri gram positif ditandai dengan penampakan warna sel bakteri yang bewarna ungu dan bakteri gram negatif ditandai dengan penampakan sel bakteri yang bewarna merah. Perbedaan warna sel tersebut disebabkan oleh perbedaan komposisi dinding sel masing-masing bakteri.

Menurut Pratiwi (2012) bentuk-bentuk bakteri, yaitu bulat (tunggal: *coccus*, jamak: *cocci*), batang atau silinder (tunggal: *bacillus*, jamak: *bacilli*), dan spiral yaitu berbentuk batang melengkung atau melingkar-lingkar. Bentuk dan warna sel bakteri dapat diketahui setelah dilakukan pewarnaan gram, pengecekan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x10. Bakteri berbentuk basil merupakan bakteri yang mempunyai bentuk tongkat pendek atau batang kecil dan silindris. Basil dapat bergandengan dua, atau terlepas satu sama lain (Dwidjoseputro, 1994). *Bacilli* membelah hanya melalui sumbu pendeknya. Sebagian besar *bacilli* tampak sebagai batang tunggal. Beberapa *bacilli* tampak menyerupai *cocci*, dan disebut *coccobacilli*.

Berdasarkan penelitian terdahulu diketahui bahwa bakteri gram positif menghasilkan spora dalam kondisi yang kurang menguntungkan untuk pertumbuhan bakteri tersebut. Contoh bakteri gram positif yang resisten terhadap selenium yaitu *Bacillus licheniformis*, *Bacillus insolitus*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus alvei* dan *Bacillus polymyxa*. Hal tersebut menunjukkan bahwa genus *Bacillus* memiliki distribusi yang luas (Javed, *et al.*, 2016).

Hasil pengamatan secara mikroskopik menunjukkan bahwa bakteri yang merupakan gram negatif adalah strain CWB-2 yang berbentuk batang berantai berukuran 4,87 μm dan strain CWB-4 yang berbentuk batang berukuran 3,9 μm . Berdasarkan penelitian sebelumnya bakteri gram negatif yang resisten terhadap selenium yaitu *Ralstonia metallidurans*, *Rhodospirillum rubrum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas stutzeri*, dan *Shewanella oneidensis* (Ike, et al., 2000; Javed, et al., 2016). Perbedaan ukuran koloni tersebut telah dijelaskan dalam QS. An-Nahl ayat 13:

وَمَا ذَرَأَّا لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَذَّكَّرُونَ ﴿١٣﴾

Artinya:

“Dan dia (menundukkan pula) apa yang dia ciptakan untuk kamu di bumi ini dengan berlain-lainan macamnya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran”.

Lafadz *wa* maknanya *sakh-khara lakum* artinya menundukkan, lafadz *maa dzara-a* maknanya *khalaq* yaitu menciptakan, sedangkan lafadz *lakum fil al-ardl* maknanya semua yang ada di bumi baik berupa hewan, tumbuhan, benda mati, dan lain-lain (Jalaluddin, 1990). Dalam hal ini diketahui bahwa Allah SWT telah mengingatkan atas tanda-tanda yang ada di langit dalam surah an-nahl ayat 12, Allah mengingatkan atas apa yang Dia ciptakan di bumi, berupa benda-benda yang menakjubkan dan berbagai macam sesuatu, di antaranya binatang-binatang, benda-benda tambang, tumbuh-tumbuhan dan lain-lain, dengan berbagai macam warna dan bentuknya termasuk kegunaan dan keistimewaannya. Makna lingkungan telah disebutkan dalam lafadz *al-ardl* (bumi), termasuk di dalamnya

adalah kawasan pantai utara, Desa Campurejo, Panceng, Gresik yang didalam sedimen pantainya diketahui mengandung Se. Dalam lingkungan yang mengandung Se terdapat potensi bakteri resisten Se untuk mengurangi kontaminasi Se dalam lingkungan. Bakteri resisten selenium merupakan hewan bersel satu yang memiliki perbedaan ukuran, bentuk, dan warna antara spesies satu dan lainnya. Perbedaan ukuran, warna dan bentuk telah disesuaikan dengan kebutuhan bakteri tersebut dalam proses metabolismenya. Perbedaan warna bakteri mengindikasikan bahwa bakteri tersebut dalam dua kelompok yaitu: gram positif ataupun negatif, perbedaan warna ini diakibatkan oleh tebal tipisnya susunan dinding sel bakteri tersebut. *Inna fii dzaalika la-aayaatal liqaaumiy yadzdzakkaruun* (“Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda kekuasaan Allah bagi kaum yang mengambil pelajaran”). Sehingga mengali potensi akumulasi bakteri terhadap selenium sebagian dari tauhid dan membuat orang akan lebih mensyukuri nikmat dan anugerah yang telah diberikan oleh Allah.

4.2.1 Identifikasi Bakteri Resisten Se Isolat CWB-1 dengan Menggunakan *Microbact*

Berdasarkan hasil pewarnaan gram yang telah dilakukan pada 6 isolat bakteri, selanjutnya dipilih satu strain isolat bakteri yaitu CWB-1 yang memiliki bentuk bulat dengan diameter yang lebih besar dari yang lainnya serta memiliki warna merah pekat untuk diuji biokimianya menggunakan mikrobact.

Microbact™ gram-negatif produk terdiri dari dua substrat terpisah strip, 12A dan 12B. Setiap strip terdiri dari 12 substrat biokimia yang berbeda. 12A strip dapat digunakan sendirian untuk identifikasi glukosa oksidase-negatif, positif nitrat sedangkan 12B strip dapat digunakan dalam hubungannya dengan jalur 12A untuk identifikasi oksidase-positif, negatif nitrat (Oxoid, 2001-2007).

Hasil uji menggunakan *microbact* pada isolat CWB-1 menunjukkan bahwa pada uji lysine, ornithine, H₂S, Glucose, Mannitol, Xylose, Indole, Urease, VP, Citrate, TDA, Gelatin, Malonate, Inositol, Sorbitol, Rhamnose, Sucrose, Lactose, Arabinose, Adonitol, Raffinose, Salicin, dan Arginine menunjukkan hasil negatif, sedangkan pada uji ONPG menunjukkan hasil positif.

Tujuan uji oksidase adalah untuk mengetahui ada tidaknya enzim oksidase pada bakteri dengan menggunakan paper oksidase yang dapat dilihat perubahan warna yang terjadi pada paper oksidase (Rohmah, 2017). Hasil uji oksidase pada isolat CWB-1 adalah positif artinya, terdapat perubahan warna pada paper oksidase.

Uji motilitas bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut motil atau tidak dan untuk mengetahui produksi indol dari Tryptophane. Uji ini menggunakan media MIO (*Motility Indole Ornitin*). Jika bakteri yang tumbuh pada media menyebar maka, positif motil (Rohmah, 2017). Bakteri CWB-1 tumbuh sesuai dengan tusukan yang dibuat sehingga hasil motilitas dikatakan negatif karena tidak adanya pergerakan oleh isolat bakteri. Hasil uji *microbact* bakteri CWB-1 selengkapnya dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3. Hasil uji isolat CWB-1 menggunakan kit microbact GNB 12A/E dan 12B

No	Karakteristik	Hasil Pengamatan
1	Oxidase	+
2	Motilitas	-
3	Nitrate	-
4	Lysine	-
5	Ornithine	-
6	H ₂ S	-
7	Glucose	-
8	Mannitol	-
9	Xylose	-
10	ONPG	+
11	Indole	-
12	Urease	-
13	VP	-
14	Citrate	-
15	TDA	-
16	Gelatin	-
17	Malonate	-
18	Inositol	-
19	Sorbitol	-
20	Rhamnose	-
21	Sucrose	-
22	Lactose	-
23	Arabinose	-
24	Adonitol	-
25	Raffinose	-
26	Salicin	-
27	Arginine	-
28	Pewarnaan gram	Positif
29	Bentuk	Batang

Keterangan: (+) hasil uji positif,

(-) hasil uji negatif

Hasil identifikasi menggunakan mikrobact menunjukkan bahwa bakteri teridentifikasi memiliki kemiripan dengan spesies *Bacillus badius* dengan persen probabilitas 88,00%. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa *Bacillus badius*

merupakan bakteri Gram positif, berbentuk batang, sel tersusun membentuk rantai panjang dan membentuk endospora. Hal ini sesuai dengan pernyataan Whitman (1989) bahwa, *Bacillus badius* adalah bakteri berbentuk batang, bersifat aerobik, gram positif, membentuk endospora pada akhir fase stasioner, optimum tumbuh pada suhu antara 25 °C sampai 30 °C. Menurut Jumiarni (2010) Bakteri aerobik yang dominan dalam sedimen diantaranya: *Bacillus pumilus*, *Pseudomonas sp*, *Bacillus brevis* dan *Bacillus badius*.

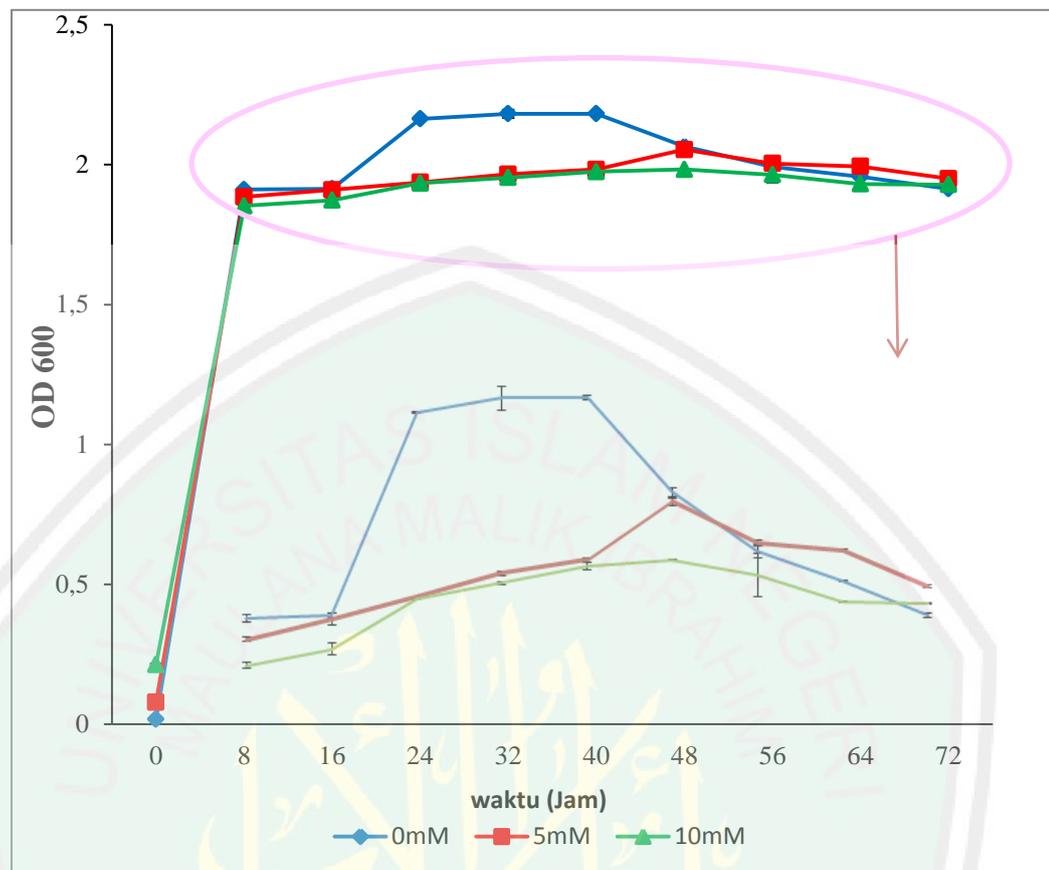
Bacillus badius memiliki kemiripan dengan *Bacillus brevis*. Karakteristik yang membedakan *Bacillus badius* dengan *Bacillus brevis* adalah diameter sel *Bacillus badius* lebih besar dan membentuk rantai panjang dengan ujung rata (Jumiarni, 2010). Dinding sel bakteri *Bacillus badius* menurut Vishan, *et al* (2017) terdiri dari peptidoglikan, lipopolisakarida, dan asam teichoat, yang merupakan ciri khas tempat penting kelompok fungsional (Fosfat, alanin, N-asetilglukosamin, dan hidroksil kelompok) untuk pertukaran ion, khelasi, dan mekanisme pengikatan logam.

Menurut Rajendran, *et al* (2010) *Bacillus badius* adalah spesies bakteri pembuat penisilin asilase. hal ini juga dapat diketahui dari bau yang dihasilkan oleh strain isolat CWB-1 saat memasuki fase stasioner menghasilkan bau penisilin. Dalam Rajendran, *et al* (2010) juga dikatakan bahwa *Bacillus badius* memproduksi penisilin asilase optimum pada fase stasioner.

4.3 Karakteristik Pertumbuhan Bakteri Resisten Selenite Strain CWB-1 (*Bacillus badius*) dalam Konsentrasi Selenite yang Berbeda

Hubungan antara jumlah sel dengan waktu pertumbuhan dapat dinyatakan dalam kurva pertumbuhan. Kurva pertumbuhan bakteri dibuat dengan menggunakan spektrofotometer untuk melihat jumlah bakteri (OD) yang terbaca melalui nilai absorbansi. Bakteri yang dilakukan pengukuran kurva pertumbuhannya adalah bakteri strain CWB-1 (*Bacillus badius*).

Pada penelitian ini digunakan panjang gelombang 600 nm karena paling optimal dalam membaca densitas dari suspensi bakteri. Purwoko (2007) mengatakan pertumbuhan bakteri memiliki empat fase diantaranya fase adaptasi (*lag phase*), fase perbanyakan (*log phase* atau *exponential phase*), fase statis (*stationer phase*), dan fase kematian (*death phase*). Pada pengamatan kurva pertumbuhan bakteri resisten selenium dilakukan sampai 72 jam dengan interval waktu pengamatan 8 jam untuk mengetahui keempat fase pertumbuhan bakteri. Bakteri yang diamati fase pertumbuhannya menggunakan standart medium cair pada konsentrasi 5 mM dan 10 mM dan dibandingkan dengan kontrol. Standart medium adalah media sederhana. Penggunaan standart medium pada pengujian dikarenakan bakteri tidak memerlukan nutrient yang terlalu banyak untuk pertumbuhannya. Hasil kurva pertumbuhan bakteri resisten selenium dapat dilihat pada gambar 4.4.



Gambar 4.4. Kurva pertumbuhan bakteri CWB-1 dengan konsentrasi Se yang berbeda pada OD 600 nm..

Berdasarkan gambar 4.4 pada interval waktu ke 8 jam bakteri strain CWB-1 (*Bacillus badius*) mengalami fase lag atau fase adaptasi. Bakteri pada fase lag tidak mengalami pertumbuhan populasi. Namun, sel mengalami perubahan komposisi kimia, penambahan substansi intraseluler dan bertambah ukuran (Pelczar, 2008). Proses adaptasi meliputi sintesis enzim baru yang sesuai dengan media yang diberikan, pemulihan terhadap metabolit yang bersifat toksik pada media lama. Metabolit yang toksik misalnya alkohol, asam dan basa. Setelah memperoleh kondisi ideal dalam pertumbuhannya. Sel akan melakukan pembelahan sel yang disebut fase log atau eksponensial (Purwoko, 2007).

Fase log bakteri pada gambar 4.4 pada konsentrasi Se 0 mM memiliki pertumbuhan yang pesat sedangkan pada konsentrasi 5 mM dan 10 mM berjalan dengan lambat, hal ini dikarenakan konsentrasi Se yang tinggi. Fase log adalah fase dimana bakteri mengalami pertumbuhan populasi atau perkembangbiakan paling cepat. Pada fase ini sel bakteri akan membelah dalam laju yang konstan, aktivitas metabolit konstan, massa akan menjadi dua kali lipat dengan laju yang sama dan pertumbuhan seimbang (Pelczar, 2008). Pada fase log sel mengkonsumsi nutrient dan melakukan proses fisiologis, sehingga jumlah sel akan meningkat pada tanda batas tertentu dan akan memasuki fase statis.

Fase stasioner adalah kondisi dimana terjadinya penumpukan produk beracun (hasil akumulasi metabolit yang toksik), kehabisan nutrient untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya, penurunan kadar oksigen, penurunan jumlah air pada media (Dwidjoseputro, 1994). Pada fase ini sel akan melakukan adaptasi terhadap kondisi yang kurang menguntungkan. Akibat dari proses adaptasi inilah sebagian sel akan mati dan sebagian akan tumbuh dan membelah. Pada fase ini menunjukkan jumlah bakteri yang hidup sama dengan bakteri yang mati, sehingga, jika dilihat kurva menunjukkan garis yang hampir horizontal. Pada fase ini pertumbuhan bakteri isolat CWB-1 konsentrasi 0 mM terjadi pada interval waktu 24 jam sampai 40 jam, sedangkan pada konsentrasi 5 mM dan 10 mM terjadi pada interval waktu 48 jam namun, pada konsentrasi 10 mM hanya berlangsung sebentar dan segera memasuki fase kematian sel. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri dapat terhambat karena adanya Se dalam lingkungan.

Se akan menghalangi kerja enzim pada bakteri yang akan mempengaruhi kerja metabolisme sel yang berakibat pada jumlah sel yang dihasilkan.

Fase yang terakhir adalah fase death atau fase kematian. Pada fase ini sel akan mengalami kematian lebih cepat dari pada terbentuknya sel baru (Pelczar, 2008). Penyebab kematian sel adalah autolisis sel dan penurunan energi seluler. Beberapa bakteri hanya mampu bertahan selama beberapa jam pada fase stasioner sebelum memasuki fase death, beberapa lagi mampu bertahan selama beberapa hari atau minggu pada fase stasioner sebelum memasuki fase death, dan beberapa bakteri mampu bertahan bertahun-tahun pada fase stasioner sebelum mengalami fase death dengan mengubah sel menjadi spora. Untuk menghindari masuknya fase stasioner ke fase death, bakteri dapat diisolasi kembali ke dalam media baru dengan konsentrasi yang sama dengan media sebelumnya dan akan mengalami fase adaptasi kembali (Purwoko, 2007).

Berdasarkan gambar 4.4. diketahui bahwa pertumbuhan bakteri strain CWB-1 (*Bacillus badius*) menurun seiring dengan bertambahnya konsentrasi Se yang diberikan dalam media. Hal ini mengindikasikan bahwa toksisitas Se yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Crawford dan Don (1998) bahwa, umumnya mikroorganisme memiliki mekanisme perlindungan terhadap logam untuk mempertahankan hidupnya. Mekanisme resistensi ini melibatkan pembentukan kompleks logam dengan protein dalam membran sel, sehingga logam dapat terakumulasi dalam sel tanpa mengganggu pertumbuhan bakteri tersebut. Jika konsentrasi logam tinggi,

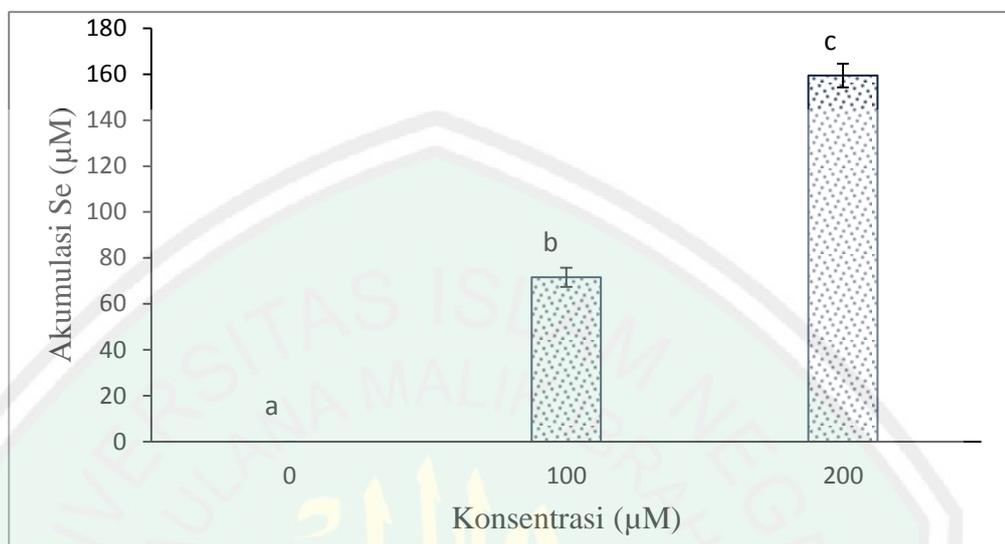
pertumbuhan sel dapat terhambat karena sistem perlindungan pada sel bakteri tidak mampu lagi mengimbangi efek toksisitas logam tersebut.

4.4 Akumulasi Selenium dengan Bakteri Isolat CWB-1

Resistensi bakteri terhadap logam dapat melalui mekanisme biosorpsi dan bioakumulasi. Menurut Chojnacka (2010), mekanisme biosorpsi merupakan proses pasif sehingga logam tidak meracuni bakteri. Sedangkan mekanisme bioakumulasi merupakan proses aktif dimana logam berat dapat meracuni sel bakteri. Mekanisme toleransi mikroba terhadap logam berat menurut Saraswati dan Yuniarti (2007), dengan cara kompleksasi meliputi produksi polisakarida ekstraselular yang memiliki anion dan berfungsi sebagai bioakumulator yang efisien, produksi metabolit organik yang memiliki sifat pengkelat dan membentuk kompleks dengan logam, presipitasi, serta kristalisasi ekstraselular.

Salah satu strategi untuk meningkatkan efektifitas bioremediasi lingkungan adalah mencari mikroorganisme baru yang memiliki kapasitas serapan terhadap logam berat. Dalam penelitian ini telah dilakukan pemeriksaan kemampuan *Bacillus badius* untuk mengakumulasi selenium. Sel bakteri *Bacillus badius* yang mampu tumbuh pada konsentrasi 10 mM Se, kemudian ditumbuhkan pada media standart yang mengandung 100 μM dan 200 μM Na_2SeO_3 dan diukur kadar selenium dengan menggunakan AAS. Media standart adalah media yang umum digunakan untuk menghitung total bakteri karena komposisinya yang mengandung yeast pepton dan glukosa yang dibutuhkan bakteri untuk metabolisme bakteri sehingga pertumbuhan bakteri pada media standart akan

lebih cepat jika dibandingkan dengan bakteri pada media BSM cair. Hasil dari uji akumulasi dapat dilihat pada gambar 4.5.



Gambar 4.5 Pengaruh pemberian konsentrasi Se pada isolat CWB-1 terhadap jumlah akumulasi Se. Keterangan: notasi huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$). a) tidak terjadi akumulasi. b). mengakumulasi 71,6 µM. c) mengakumulasi 159,45 µM.

Kemampuan akumulasi bakteri *Bacillus badius* dalam mengakumulasi selenium dengan konsentrasi 100 µM dan 200 µM menunjukkan hasil yang signifikan $p < 0,05$. Selenium yang terakumulasi pada perlakuan 100 µM mencapai 71,6 µM dengan persentase mencapai 71,6% sedangkan selenium yang terakumulasi pada perlakuan 200 µM yaitu 159,45 µM dengan persentase mencapai 79,7%. Berdasarkan penelitian sebelumnya (Oremland, *et al.*, 1994; Oremland, *et al.*, 1999) bakteri *Sulfurospirillum barnesii* 60% dan *Thauera selenatis* mampu mengakumulasi selenite 50%. Hal ini menunjukkan kemampuan akumulasi bakteri *Bacillus badius* sangat tinggi. Hasil akumulasi selengkapnya dapat dilihat pada tabel 4.4.

Tabel 4.4. Persentase Akumulasi Se Oleh Bakteri Resisten Selenat/Selenit Strain CWB-1 (*Bacillus badius*).

Konsentrasi Se (μM)	Konsentrasi Se terakumulasi (μM) \pm SE	% akumulasi Se
100	71,6 \pm 2,402	71,6%
200	159,45 \pm 2,980	79,7%.

Berdasarkan penelitian sebelumnya (Javed, *et al.*, 2016) bakteri genus *Bacillus* yang dapat mengakumulasi Se yaitu *Bacillus licheniformis* dan *Bacillus subtilis* yang mampu mengakumulasi 40% dan 43% tersebut masih rendah jika dibandingkan dengan hasil akumulasi oleh *Bacillus badius*. Penelitian sebelumnya tentang *Bacillus badius* telah dijelaskan bahwa dapat mengakumulasi nitrit dan Pb(II) (Sakai, *et al.*, 1996; Vishan, *et al.*, 2017) namun, dalam akumulasi Se belum pernah ditemukan. Sehingga *Bacillus badius* dapat dikatakan sangat potensial untuk digunakan dalam bioremediasi Se dilingkungan.

Akumulasi selenium pada media kultur juga dapat dilihat dengan adanya perubahan warna media menjadi orange kemerahan. Hal ini dikarenakan adanya perubahan SeO_3^{2-} yang bersifat toksik menjadi Se^0 yang tidak toksik (Rathgeber, 2002; Avendano, 2016). Warna merah tersebut mengindikasikan selenium telah direduksi menjadi Se elemental dalam tubuh bakteri.

Bakteri yang resisten terhadap selenium mampu digunakan untuk mendetoksifikasi selenium dalam lingkungan. Menurut Farisna (2015) beberapa bakteri telah mengembangkan beberapa sistem yang efisien untuk detoksifikasi logam. Mekanismenya dapat digolongkan ke dalam 5 kategori, yaitu: (1) penyerapan intraseluler, (2) mengekspor, (3) mereduksi, (4) absorpsi ekstraseluler, dan (5) detoksifikasi ekstraseluler. Hampir semua mekanisme resistensi bakteri

dikode gen yang terdapat pada plasmid dan transposon dan hal itu memungkinkan transfer gen atau mutasi spontan yang menyebabkan bakteri resisten terhadap logam.

Dalam konteks agama Islam, berbagai kerusakan yang terjadi di darat maupun di laut sesungguhnya tidak bisa dilepaskan dari cara pandang dan perilaku manusia terhadap alam (Q.S. Ar-Ruum: 41):

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ الَّذِي عَمِلُوا لَعَلَّهُمْ يَرْجِعُونَ ﴿٤١﴾

Artinya :

“ *Telah nampak kerusakan didarat dan dilaut akibat ulah tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (kejalan yang benar) (Qs. 30:41).* ”

Perilaku merusak alam ini bertentangan dengan tugas dan fungsi manusia sebagai hamba Allah (*abdullah*) dan *khalifatullah fil ardl*, yang berkewajiban untuk melakukan proses pengelolaan dan pemeliharaan alam dan lingkungan sebagai media untuk beribadah kepada Allah dan menjalankan fungsi kekhalifahan. Dalam Shahih Muslim, no.553 Abu Dzar radhiyallahu ‘anhu meriwayatkan bahwa Rasulullah bersabda:

عُرِضَتْ عَلَيَّ أَعْمَالُ أُمَّتِي حَسَنُهَا وَسَيِّئُهَا فَوَجَدْتُ فِي مَحَاسِنِ أَعْمَالِهَا الْأَدَى يُمَاطُ عَنِ الطَّرِيقِ

Artinya:

“*Semua amalan umatku ditampakkan kepadaku baik dan buruknya. Aku dapatkan di antara amal kebajikan adalah menghilangkan bahaya dari jalanan.*” (Shahih Muslim, no. 553).

Maksud kata أذى dalam hadits tersebut adalah segala hal yang membahayakan atau mengganggu orang yang lewat, baik itu berupa duri, batu, kotoran dan hal-hal lainnya, sebagaimana dijelaskan oleh Imam Nawawi secara lebih luas hadits diatas bisa dipahami bahwa kita dianjurkan untuk menjaga lingkungan agar selalu bersih. Salah satu bentuk melestarikan lingkungan adalah dengan mengakumulasi Se yang mencemari lingkungan perairan menggunakan bakteri resisten selenium. tindakan pelestarian lingkungan hidup ini adalah sebagian dari tauhid. Nilai tauhid bagi umat muslim harus menjadi spirit bagi setiap tindakan atau perilakunya, baik yang berhubungan dengan orang lain, makhluk hidup serta lingkungan hidupnya. Hal ini mengandung makna bahwa manusia sebagai hamba Allah (*abdullah*) dan *khalifatullah fil ardl* bertanggungjawab kepada-Nya atas semua tindakan yang dilakukannya.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa:

1. Bakteri yang berhasil diisolasi dari PANTURA Campurejo Pancen Gresik berjumlah 6 strain yaitu: CWB-1, CWB-2, CWB-3, CWB-4, CWB-5, dan CWB-6.
2. Bakteri strain CWB-1, CWB-2, CWB-3, CWB-4, CWB-5, dan CWB-6 resisten terhadap sodium selenite dengan konsentrasi 10 mM. Pada resistensi terhadap sodium selenate diperoleh strain CWB-1 yang mampu tumbuh pada sodium selenate dengan konsentrasi 10 mM. Bakteri yang memiliki kemampuan resistensi terhadap selenite dan selenite menghasilkan koloni berwarna merah yang menunjukkan bahwa selenate dan selenite telah diubah menjadi Se elemental. Uji microbact terhadap strain CWB-1 menunjukkan bahwa bakteri teridentifikasi spesies *Bacillus badius* dengan persen probabilitas 88,00%. Bakteri CWB-1 (*Bacillus badius*) mampu mengakumulasi selenium pada konsentrasi 200 μM sebanyak 79,7%. Hal ini menunjukkan bahwa *Bacillus badius* sangat berpotensi dalam bioremediasi selenium selenium dalam lingkungan yang tercemar selenium.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan dapat dikemukakan beberapa saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan identifikasi secara molekuler dengan 16S rRNA untuk mengkonfirmasi hasil uji biokimia menggunakan microbact.
2. Uji resistensi bakteri terhadap selenate dan selenite dengan konsentrasi Se yang lebih tinggi, sehingga dapat dipastikan bahwa bakteri tersebut benar-benar berpotensi sebagai agen bioremediasi selenium.



DAFTAR PUSTAKA

- Aliyanta, B., Sumarlin, L. O., & Mujab, A. S. (2012). Penggunaan Biokompos dalam Bioremediasi Lahan Tercemar Limbah Minyak Bumi. *Jurnal Kimia VALENSI*, 2(3).
- Al-Qurthubi, syeih imam (2009) *Al jami' li ahkam Al-Qur'an*. Jakarta:Pustaka azzam.
- Al-Zereini, W. A. (2014). Bioactive crude extracts from four bacterial isolates of marine sediments from Red Sea, Gulf of Aqaba, Jordan. *Jordan J Biol Sci*, 7, 133-137.
- Amelia, titik fadilah. (2016). Aktivitas Reduksi Merkuri pada Bakteri yang Diisolasi dari Air dan Sedimen di Sungai Musi. *Fishtech – Jurnal Teknologi Hasil Perikanan*. Vol. 5, No.1: 94-106
- Atlas, R. M., & Bartha, R. (1981). *Microbial ecology: fundamentals and applications*. Addison-Wesley Publishing Company.
- Avendaño, R., Chaves, N., Fuentes, P., Sánchez, E., Jiménez, J. I., & Chavarría, M. (2016). Production of selenium nanoparticles in *Pseudomonas putida* KT2440. *Scientific Reports*, 6.
- Ayano, H., Miyake, M., Terasawa, K., Kuroda, M., Soda, S., Sakaguchi, T., & Ike, M. (2014). Isolation of a selenite-reducing and cadmium-resistant bacterium *Pseudomonas* sp. strain RB for microbial synthesis of CdSe nanoparticles. *Journal of bioscience and bioengineering*, 117(5), 576-581.
- Aziz, A. (2014). *Pofil desa campurejo* . Dinas Kelautan, Perikanan, Dan Peternakan Kab. Gresik.
- Baldi, F., Vaughan, A. M., & Olson, G. J. (1990). Chromium (VI)-resistant yeast isolated from a sewage treatment plant receiving tannery wastes. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(4), 913-918.
- Bodnar, M., Konieczka, P., & Namiesnik, J. (2012). The properties, functions, and use of selenium compounds in living organisms. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 30(3), 225-252.
- Boyd, R. (2011). Selenium stories. *Nature chemistry*, 3(7), 570.
- Bridson, EY. (1998). *The oxoid manual 8th edition*. England: oxoid limited hampshire.

- Chaudiere, J., Courtin, O., & Leclaire, J. (1992). Glutathione oxidase activity of selenocystamine: a mechanistic study. *Archives of biochemistry and biophysics*, 296(1), 328-336.
- Chojnacka, K. (2010). Biosorption and Bioaccumulation-The Prospects for Practical Applications. *Environment International* 36(3), 299-307.
- Crawford RL. (1998). *Bioremediation. Principles and application*. Melbourne Cambridge university press.
- Dharmawibawa, I.D. (2004). *Isolasi, Identifikasi dan Uji Kemampuan Bakteri Pengurai Minyak Solar dari Perairan Pelabuhan Benoa Bali*. Bali: Universitas Udayana.
- Dinas Kelautan, Perikanan, Dan Peternakan Kab. Gresik. (2013). *Review total desain ppi campurejo*. Dinas Kelautan, Perikanan, Dan Peternakan Kab. Gresik.
- Dwidjoseputro. (1994). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan. Jakarta.
- EPA. (2016). Aquatic Life Ambient Water Quality Criterion for Selenium in Freshwater 2016 – Fact Sheet. *United states environmental protection agency*.
- Farisna, Septa T. (2015). Resistensi basillus endogenik kalimas SURABAYA terhadap logam besi(Fe). *JURNAL SAINS DAN SENI ITS* Vol. 4, No.2.
- Fordyce, F. M. (2013). Selenium deficiency and toxicity in the environment. In *Essentials of medical geology* (pp. 375-416). Springer Netherlands.
- Fujita, M., Ike, M., Nishimoto, S., Takahashi, K., & Kashiwa, M. (1997). Isolation and characterization of a novel selenate-reducing bacterium, Bacillus sp. SF-1. *Journal of fermentation and bioengineering*, 83(6), 517-522.
- Fulekar, M. H. (2009). Bioremediation of fenvalerate by Pseudomonas aeruginosa in a scale up bioreactor. *Rom Biotechnol Lett*, 14, 4900-4905.
- Gillespie, R. B., & Baumann, P. C. (1986). Effects of high tissue concentrations of selenium on reproduction by bluegills. *Transactions of the American Fisheries Society*, 115(2), 208-213.
- Gupta, R., & Mohapatra, H. (2003). Microbial biomass: an economical alternative for removal of heavy metals from waste water.
- Herlambang, A. (2011). Pencemaran air dan strategi penggulungannya. *Jurnal Air Indonesia*, 2(1).

- Huber, R., Sacher, M., Vollmann, A., Huber, H., & Rose, D. (2000). Respiration of arsenate and selenate by hyperthermophilic archaea. *Systematic and Applied Microbiology*, 23(3), 305-314.
- Ike, M., Takahashi, K., Fujita, T., Kashiwa, M., & Fujita, M. (2000). Selenate reduction by bacteria isolated from aquatic environment free from selenium contamination. *Water Research*, 34(11), 3019-3025.
- Jalaluddin, as-suyuti. (1990). *Tafsir Jalalain*. Pustaka Al Kausar.
- Javed, S., Sarwar, A., Tassarar, M., & Faisal, M. (2016). Conversion of selenite to elemental selenium by indigenous bacteria isolated from polluted areas. *Chemical Speciation & Bioavailability*, 27(4), 162-168.
- Jumiarni, dewi. (2010). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Sedimen Waduk. *Jurnal exacta vol. 8(1)*
- Karigar, C. S., & Rao, S. S. 2011. Role of microbial enzymes in the bioremediation of pollutants: a review. *Enzyme research*, 2011.
- Kashiwa, M., Ike, M., Mihara, H., Esaki, N., & Fujita, M. (2001). Removal of soluble selenium by a selenate-reducing bacterium *Bacillus* sp. SF-1. *BioFactors*, 14(1-4), 261-265.
- Kessi, J., & Hanselmann, K. W. (2004). Similarities between the abiotic reduction of selenite with glutathione and the dissimilatory reaction mediated by *Rhodospirillum rubrum* and *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry*, 279(49), 50662-50669.
- Kimura, H., Arima, T. H., Oku, T., & Sakaguchi, T. (2014). Selenium recovery and conversion by a filamentous fungus, *Aspergillus oryzae* strain RIB40. *Asia Pacific Journal of Sustainable Agriculture, Food and Energy*, 2(2), 5-8.
- Klonowska, Agnieszka. Heulin Thierry., Vermeglio Andre. (2005). Selenite and tellurite reduction by *Shewanella oneidensis*. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 71, No. 9:5607-5609
- Knight, V. K., Nijenhuis, I., Kerkhof, L. J., & Häggblom, M. M. (2002). Degradation of aromatic compounds coupled to selenate reduction. *Geomicrobiology Journal*, 19(1), 77-86.
- Knox, A. S., Seaman, J., Pierzynski, G., & Adriano, D. C. (2000). Chemophytostabilization of metals in contaminated soils. *ENVIRONMENTAL SCIENCE AND POLLUTION CONTROL SERIES*, 811-836.

- Kristianingrum, S. (2006). Metode alternatif untuk mengurangi pencemaran logam berat dalam lingkungan. *Prosiding seminar nasional kimia dan pendidikan kimia*. ISBN:979-98-1174-0.
- Kurniasari RM. (2005). Pengaruh logam berat terhadap pertumbuhan mikroorganisme pendegradasi minyak diesel. *Skripsi tidak diterbitkan*. Bogor: IPB.
- Kusmana, Felix. (2017). Selenium: Peranannya Dalam Berbagai Penyakit dan Alergi. *IAI*. Vol. 44. No. 4
- Lenz, M., & Lens, P. N. (2009). The essential toxin: the changing perception of selenium in environmental sciences. *Science of the Total Environment*, 407(12), 3620-3633.
- Madigan, M. T., Clark, D. P., Stahl, D., & Martinko, J. M. (2010). *Brock Biology of Microorganisms 13th edition*. Benjamin Cummings.
- Mézes, M., & Balogh, K. (2009). Prooxidant mechanisms of selenium toxicity—a review. *Acta Biologica Szegediensis*, 53(Suppl 1), 15-18.
- Mubarakfuri, S. (2007). *Tafsir Ibnu Katsir*. Bogor: Pustaka Ibnu Katsir
- Mukono, H. J. (2005). *Toksikologi lingkungan*. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Myers, T. (2013). Remediation scenarios for selenium contamination, Blackfoot watershed, southeast Idaho, USA. *Hydrogeology Journal*, 21(3), 655-671.
- Nana Dyah, S., & Erwan Adi, S. (2012). Reducing ion pb concentration in electroplating waste water with biosorption process and stirring. *Teknik Kimia*, 5(1).
- Nancharaiyah, Y. V., & Lens, P. N. L. (2015). Ecology and biotechnology of selenium-respiring bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(1), 61-80.
- Narasingarao, P., & Häggblom, M. M. (2007). Identification of anaerobic selenate-respiring bacteria from aquatic sediments. *Applied and environmental microbiology*, 73(11), 3519-3527.
- Notodarmojo, S. (2005) *Pencemaran tanah dan air tanah*. Penerbit ITB. Bandung.
- Nugroho, A. (2006). *Bioremediasi hidrokarbon minyak bumi*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Ohlendorf, H. M., Hoffman, D. J., Saiki, M. K., & Aldrich, T. W. (1986). Embryonic mortality and abnormalities of aquatic birds: apparent impacts of selenium from irrigation drainwater. *Science of the Total Environment*, 52(1-2), 49-63.

- Oremland, Ronald., Blum, JS., Bindi, AB., ... & Stolz, JF. (1999). Simultaneous Reduction of Nitrate and Selenate by Cell Suspensions of Selenium-Respiring Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 4385-4392
- Oremland, Ronald., Blum, JS., Culbertson, CW., ... & Strohmaier, FE. (1994). Isolation, Growth, and Metabolism of an Obligately Anaerobic, Selenate-Respiring Bacterium Strain SES-3. *Applied and Environmental Microbiology* 3011-3019
- Oxoid. (2001-2017). Microbact™ 12a (12e) and 24e (12a (12e) + 12b) Gram-Negative Identification System. *Thermo Fisher Scientific Inc*
- Palar, H (1994) *Pencemaran dan toksikologi logam berat*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Pearce, C. I., Coker, V. S., Charnock, J. M., Patrick, R. A., Mosselmanns, J. F. W., Law, N., ... & Lloyd, J. R. (2008). Microbial manufacture of chalcogenide-based nanoparticles via the reduction of selenite using *Veillonella atypica*: an in situ EXAFS study. *Nanotechnology*, 19(15), 155603.
- Pelczar MJ (2008) *Dasar-dasar mikrobiologi 1*. Jakarta: UI Press.
- Prakash, N. T., Sharma, N., Prakash, R., Raina, K. K., Fellowes, J., Pearce, C. I., & Patrick, R. A. (2009). Aerobic microbial manufacture of nanoscale selenium: exploiting nature's bio-nanomineralization potential. *Biotechnology letters*, 31(12), 1857.
- Pratiwi AY. (2012). Penapisan bakteri resisten terhadap merkuri sebagai alternatif agen bioremediasi pada pencemaran tanah pertambangan. *Skripsi tidak diterbitkan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Purwoko. T. (2007). *Fisiologi Mikroba*. Bumi Aksara. Jakarta.
- Rai, L. C., & Mallick, N. (1992). Removal and assessment of toxicity of Cu and Fe to *Anabaena doliolum* and *Chlorella vulgaris* using free and immobilized cells. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 8(2), 110-114.
- Rajendran, karthikeyan., Sekar, S., Mahadevan, S. (2010). Biological real-time reaction calorimeter studies for the production of penicillin G Acylase from *Bacillus badius*. *Appl Biochem Biotechnol*
- Ridhowati, S. (2013). *Mengenal Pencemaran Ragam Logam*. Graha Ilmu Yogyakarta.
- Rohmah, NS. (2017). Isolasi dan identifikasi bakteri yang berpotensi sebagai agen bioremediasi timbal dari lumpur lapindo. *Skripsi tidak diterbitkan*. UIN: Malang.

- Romaidi dan Ueki, T. (2016). Bioaccumulation of vanadium by vanadium-resistant bacteria isolated from the intestine of *Ascidia sydneiensis samea*. *Mar biotechnol* 18:359-371.
- Roux, M., Sarret, G., Pignot-Paintrand, I., Fontecave, M., & Coves, J. (2001). Mobilization of selenite by *Ralstonia metallidurans* CH34. *Applied and environmental microbiology*, 67(2), 769-773.
- Sakai, Kenji., Ikehata, Y., Ikenaga, Y., Wakayama, M., & Moriguchi, M. (1996). Nitrite oxidation by heterotrophic bacteria under various nutritional and aerobic conditions. *Journal of fermentation and bioengineering* vol. 82, no. 6
- Saraswati, R dan E. Yuniarti. (2007). Metode Analisis Biologi Tanah. Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian.
- Schrauzer, G. N., & Ishmael, D. E. B. R. A. (1974). Effects of selenium and of arsenic on the genesis of spontaneous mammary tumors in inbred C3H mice. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 4(6), 441-447.
- Sekhar, M. C., Krishna, R. E., Kumar, S. P., & Mohan, C. H. M. (2012). Isolation and Screening of Antimicrobial Activity of Marine Sediment Bacteria from Bay of Bengal coast, Visakhapatnam. *Journal of Pharmacy Research*, 5(3), 1318-1319.
- Seko, Y., Saito, Y., Kitahara, J., & Imura, N. (1989). Active oxygen generation by the reaction of selenite with reduced glutathione in vitro. In *Selenium in biology and medicine* (pp. 70-73). Springer Berlin Heidelberg.
- Shrift, A. (1964). A selenium cycle in nature?. *Nature*, 201(4926), 1304-1305.
- Shukla, K. P., Singh, N. K., & Sharma, S. (2010). Bioremediation: developments, current practices and perspectives. *Genet. Eng. Biotechnol. J*, 3(8), 1-20.
- Silverberg, B.A., Wong, P.T.S., and Chau, Y.K. (1976). Localization of selenium in bacterial cells using TEM and energy dispersive X-ray analysis. *Arch. Microbiol.* 107: 1-6.
- Singh, R., Singh, P., Sharma, R. (2014). Microorganism as a tool of bioremediation technology for cleaning environment: A review. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences*, 4(1), 1.
- Stolz, J. F., Basu, P., Santini, J. M., & Oremland, R. S. (2006). Arsenic and selenium in microbial metabolism. *Annu. Rev. Microbiol.*, 60, 107-130.
- Strong, P. J., & Burgess, J. E. (2008). Treatment methods for wine-related and distillery wastewaters: a review. *Bioremediation journal*, 12(2), 70-87.

- Suhendrayatna. (2001). *Bioremoval logam berat dengan menggunakan mikroorganisme: suatu kajian kepustakaan. Seminar on-air bioteknologi untuk indonesia*. PPI tokyo institute of technology.
- Surai, P. F. (2006). *Selenium in nutrition and health* (Vol. 974). Nottingham: Nottingham university press.
- Tanaka, M., Knowles, W., Brown, R., Hondow, N., Arakaki, A., Baldwin, S., & Matsunaga, T. (2016). Biomagnetic Recovery and Bioaccumulation of Selenium Granules in Magnetotactic Bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 82(13), 3886-3891.
- Tomei, francisco. A., Barton, LL., Lemanski, CL., & Zocco, TG. (1992). Reduction of selenate and selenite to elemental selenium by *Wolinella succinogenes*. *Can. J. Microbiol*
- Undang-Undang Nomor 32 tahun 2009 Tentang perlindungan dan pengelolaan lingkungan hidup.
- Vishan, isha., Sivaprakasam, S., Kalamdhad, A. (2017). Biosorption of lead using *Bacillus badius* AK strain isolated from compost of green waste (water hyacinth). *Environmental technology*
- Wahyudi. (2009). Analisa Kerentanan Pantai di Wilayah Pesisir Pantai Utara Jawa Timur. *SENTA*.
- Whitman, William B. (1989). *Bergey's manual of systematic bacteriology second edition*. Departement of microbiology 527 biological sciences building university of georgia
- Wikeka. (2008). Resiko banjir kabupaten gresik berdasarkan citra satelit. *Berita dirgantara vol. 9 no. 4 hlm 83-90*.
- Wise, DL., Trantolo, DJ., Cicho, EJ. (2000). *Bioremediation of contaminated soils*. New York: Marcek Dekker Inc. hlm 811-836.
- Xia, X., Enokida, Y., Sawada, K., & Ohnuki, T. (2007). Bioreduction of selenium by sulfate reducing bacterium and its influence on selenium transport in geological environment. In *Proceedings of International Symposium on EcoTopia Science, ISETS07* (pp. 1074-1078).
- Zam, S. I. (2011). Bioremediasi Tanah Yang Tercemar Limbah Pengilangan Minyak Bumi Secara In Vitro Pada Konsentrasi pH Berbeda. *Jurnal Agroteknologi*, 1(2), 1-8.
- Zhang, S. Y., Zhang, J., Wang, H. Y., & Chen, H. Y. (2004). Synthesis of selenium nanoparticles in the presence of polysaccharides. *Materials Letters*, 58(21), 2590-2594.

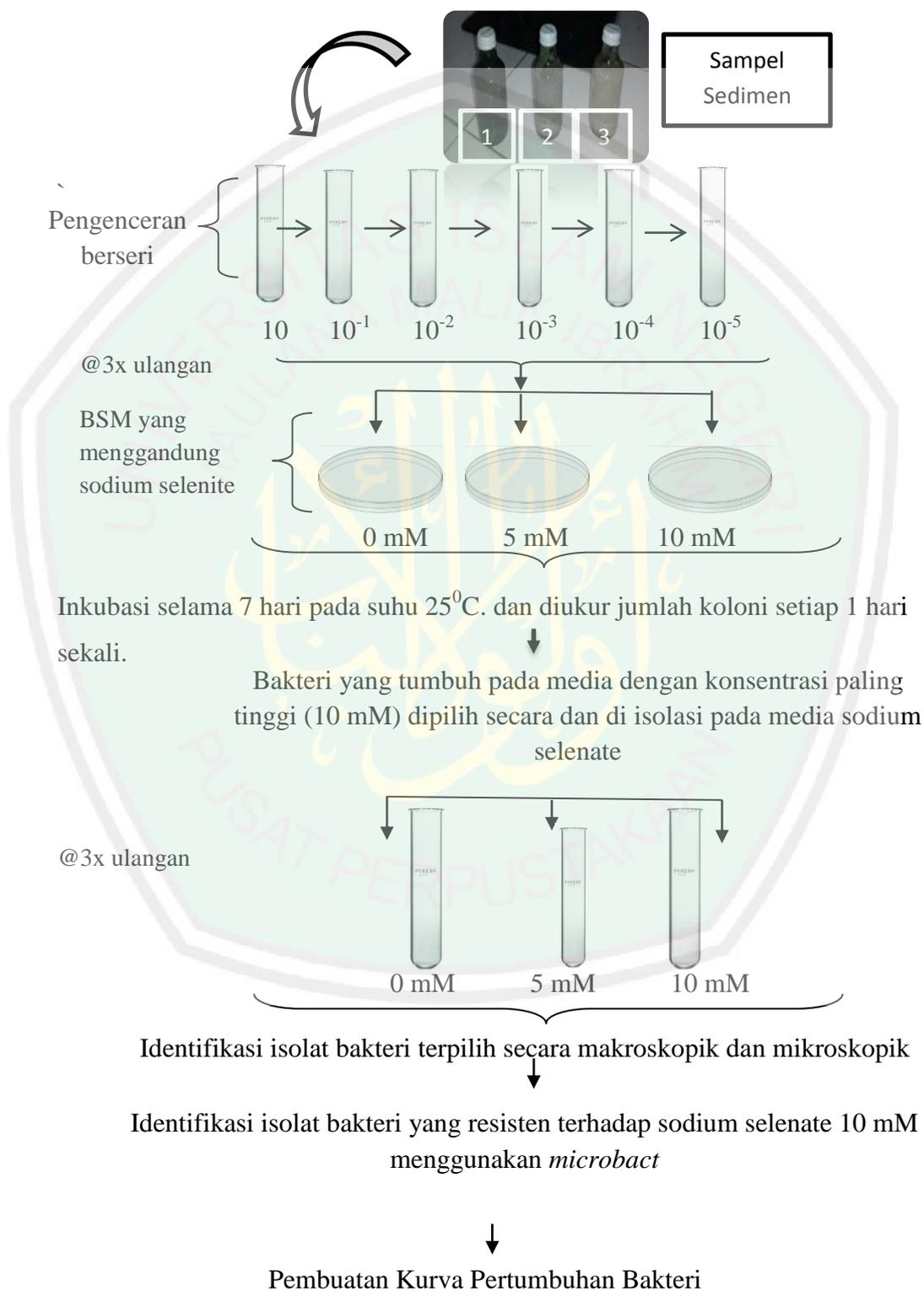
Zheng, S., Su, J., Wang, L., Yao, R., Wang, D., Deng, Y., & Rensing, C. (2014). Selenite reduction by the obligate aerobic bacterium *Comamonas testosteroni* S44 isolated from a metal-contaminated soil. *BMC microbiology*, *14*(1), 204.



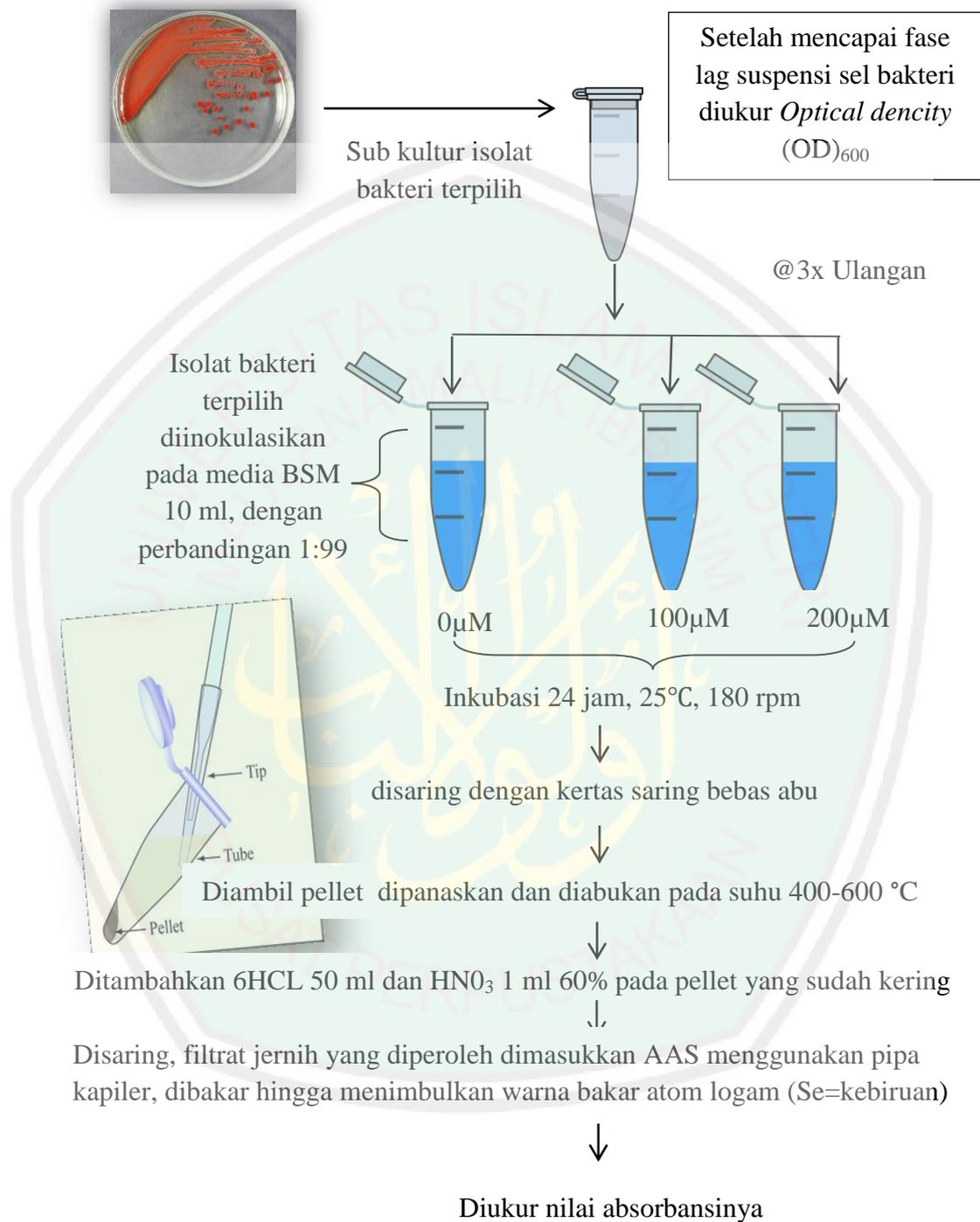
LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Penelitian

a) Isolasi Bakteri



b). Uji Akumulasi Selenium



Lampiran 2. Persiapan Sediaan Larutan Sodium Selenite dan Sodium Selenate

A. Pembuatan stok sodium selenite 100 mM

$$\begin{aligned} \text{Molar masa: } 173 \text{ g/l} \quad 1 \text{ M} &= 1000 \text{ mM} - 173 \text{ g/l} \\ 100 \text{ mM} &= \frac{173 \text{ g/l}}{10} = 17,3 \text{ g/l} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Atau } 1\text{L} &= 1000 \text{ ml} = \frac{17300 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = 17,3 \text{ g/l} \\ 100 \text{ ml} &= \frac{17,3 \text{ g/l}}{10} = 1,73 \text{ g/l} \end{aligned}$$

Jadi, untuk membuat larutan stok 100 mM dalam 100 ml. dengan menimbang sodium selenite sebanyak 1,73 g, kemudian dilarutkan pada aquades steril 100 ml. selanjutnya larutan di sterilkan lagi menggunakan milipore dan spuit dan dipindah ke tabung sentrifus steril, agar terhindar dari kontaminan.

B. Pembuatan stok sodium selenate

$$\begin{aligned} \text{Molar masa: } 188,9 \text{ g/l} \quad 1 \text{ M} &= 1000 \text{ mM} - 188,9 \text{ g/l} \\ 100 \text{ mM} &= \frac{188,9 \text{ g/l}}{10} = 18,9 \text{ g/l} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Atau } 1\text{L} &= 1000 \text{ ml} = \frac{18900 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = 18,9 \text{ g/l} \\ 100 \text{ ml} &= \frac{18,9 \text{ g/l}}{10} = 1,89 \text{ g/l} \end{aligned}$$

Jadi, untuk membuat larutan stok 100 mM dalam 100 ml. dengan menimbang sodium selenate sebanyak 1,89 g, kemudian dilarutkan pada aquades steril 100 ml. selanjutnya larutan di sterilkan lagi menggunakan milipore dan spuit dan dipindah ke tabung sentrifus steril, agar terhindar dari kontaminan.

C. Pembuatan larutan perlakuan natrium selenite

Untuk mendapatkan volume larutan natrium yang akan digunakan sebagai perlakuan pada uji resistensi menggunakan media padat di cawan petri dapat dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

Keterangan:

V1= volume larutan yang diambil dari stok natrium selenit

V2= Volume total media pada cawan petri

M1= Konsentrasi larutan stok natrium selenit

M2= Konsentrasi larutan natrium selenit yang digunakan

❖ Pembuatan Larutan Perlakuan 5 mM Natrium Selenite

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

$$V1 \cdot 100 \text{ mM} = 20 \text{ ml} \cdot 5 \text{ mM}$$

$$V1 = \frac{100}{100} \\ = 1 \text{ ml}$$

❖ Pembuatan Larutan Perlakuan 10 mM Natrium Selenite

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

$$V1 \cdot 100 \text{ mM} = 20 \text{ ml} \cdot 10 \text{ mM}$$

$$V1 = \frac{200}{100} \\ = 2 \text{ ml}$$

Lampiran 3. Perhitungan Kombinasi Volume media+ Se+Bakteri

A. Pembuatan BSM cair 3 ml

Perlakuan	Volume media	Volume Se	Volume bakteri
0 mM	2970 μ l	0 μ l	30 μ l
5 mM	2820 μ l	150 μ l	30 μ l
10 mM	2670 μ l	300 μ l	30 μ l

❖ Mencari volume Se pada konsentrasi 5 mM

$$V1.M1=V2.M2$$

$$V1.100mM=3 \text{ ml. } 5 \text{ mM}$$

$$V1= \frac{15}{100}$$

$$= 0,15 \text{ ml atau } 150 \mu\text{l}$$

❖ Mencari volume Se pada konsentrasi 10 mM

$$V1.M1=V2.M2$$

$$V1.100mM=30 \text{ ml. } 10 \text{ mM}$$

$$V1= \frac{30}{100}$$

$$= 0,3 \text{ ml atau } 300 \mu\text{l}$$

B. Pembuatan BSM miring 3 ml

Perlakuan	Volume media	Volume Se	bakteri
0 mM	3000 μ l	0 μ l	1 ose
5 mM	2850 μ l	150 μ l	1 ose
10 mM	2700 μ l	300 μ l	1 ose

❖ Mencari volume Se pada konsentrasi 5 mM

$$V1.M1=V2.M2$$

$$V1.100mM=3 \text{ ml. } 5 \text{ mM}$$

$$V1= \frac{15}{100}$$

$$= 0,15 \text{ ml atau } 150 \mu\text{l}$$

❖ Mencari volume Se pada konsentrasi 10 mM

$$V1.M1=V2.M2$$

$$V1.100mM=30 \text{ ml. } 10 \text{ mM}$$

$$V1= \frac{30}{100}$$

$$= 0,3 \text{ ml atau } 300 \mu\text{l}$$

C. Pembuatan Media Akumulasi Se

Perlakuan	Volume media	Volume Se	Volume bakteri
0 mM	29,7 ml	0 ml	0,3 ml
5 mM	28,2 ml	1,5 ml	0,3 ml
10 mM	26,7 ml	3 ml	0,3 ml

❖ Mencari volume Se pada konsentrasi 5 mM

$$V1.M1=V2.M2$$

$$V1.100\text{mM}=30 \text{ ml}. 5 \text{ mM}$$

$$V1 = \frac{150}{100}$$

$$= 1,5 \text{ ml}$$

❖ Mencari volume Se pada konsentrasi 10 mM

$$V1.M1=V2.M2$$

$$V1.100\text{mM}=30 \text{ ml}. 10 \text{ mM}$$

$$V1 = \frac{300}{100}$$

$$= 3 \text{ ml}$$

❖ Konversi ppm ke Molar (M)

$$\text{ppm} = \text{mg/l}$$

$$M = \frac{\text{mol}}{\text{L}} = \frac{\text{gr}}{\text{mr}} \quad \text{Mol} = \frac{\text{g}}{\text{mr}}$$

Contoh: 5,38 ppm

$$= 5,38 \text{ mg/l}$$

$$= 5,38 \times 10^{-3} \text{ g/l}$$

$$= 0,005,38$$

$$M = 0,00538 \text{ G/L}$$

$$= 0,0000681 \text{ G/L} \times 10^{-3}$$

$$= 0,068 \text{ mM}$$

❖ Cara Menghitung Persentase Hasil Akumulasi Se

Contoh: 0,068 mM pada konsentrasi 0,1 mM

$$= \frac{\text{Jumlah Se terakumulasi}}{\text{Jumlah total Se}} \times 100\%$$

Jumlah total Se

$$= \frac{0,068 \text{ Mm}}{0,1 \text{ mM}} \times 100\% = 68\%$$

0,1 mM

Lampiran 4. Data pengaruh lama inkubasi dan konsentrasi selenite terhadap jumlah bakteri resisten Se dari ketiga stasiun.

stasiun	konsentrasi	ulangan	Hari							
			1	2	3	4	5	6	7	
1	0 mM	1	2	10	25	40	62	62	78	
		2	2	10	25	40	62	62	78	
		3	2	10	25	40	62	62	78	
	5 mM	1	0	0	0	11	13	15	16	
		2	0	0	0	0	0	0	0	
		3	1	20	30	50	55	58	58	
	10 mM	1	0	0	0	0	0	0	0	
		2	0	0	0	0	0	0	0	
		3	0	0	0	0	0	0	0	
		rata	0	0	0	0	0	0	0	
	2	0 mM	1	0	1	4	7	13	21	25
			2	0	1	4	7	13	21	25
			3	0	1	4	7	13	21	25
5 mM		1	2	10	11	35	55	100	130	
		2	0	0	0	0	1	21	27	
		3	0	0	1	2	3	3	3	
10 mM		1	7	12	20	40	60	77	81	
		2	0	7	13	22	30	33	35	
		3	0	0	0	3	3	3	3	
		rata	2.3	6.3	11	21.6	31	37.6	39.6	
3		0 mM	1	10	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
			2	10	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
			3	10	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
	5 mM	1	0	35	59	62	78	80	90	
		2	0	0	0	0	0	TBUD	TBUD	
		3	0	0	1	4	4	5	5	
	10 mM	1	0	0	0	1	3	3	3	
		2	0	1	3	3	3	3	3	
		3	0	1	3	3	26	53	53	
		rata	0	0.6	2	2.3	10.6	19.6	19.6	

Lampiran 5. Data Resistensi 6 isolat bakteri terhadap selenate pada inkubasi 7 hari.

Kode Isolat	konsentrasi	Hari						
		1	2	3	4	5	6	7
cwb-1	0 mM	300	350	390	391	395	396	400
	5 mM	0	0	0	40.6	42.6	48.3	60.6
	10 mM	0	0	0	15.3	18.6	33	39.3
cwb-2	0 mM	150	160	165	171	180	250	300
	5 mM	0	0	0	0	0	0	0
	10 mM	0	0	0	0	0	0	0
cwb-3	0 mM	0	17	18	20	21	21	22
	5 mM	0	0	0	7	8.3	9.3	12.3
	10 mM	0	0	0	2	2	2	2
cwb-4	0 mM	100	150	160	175	250	300	350
	5 mM	0	0	0	0	0	0	0
	10 mM	0	0	0	0	0	0	0
cwb-5	0 mM	22	27	33	37	44	46	50
	5 mM	0	0	0	0	0	0	0
	10 mM	0	0	0	0	0	0	0
cwb-6	0 mM	150	155	260	265	270	287	300
	5 mM	0	0	0	0	1	1.3	1.3
	10 mM	0	0	0	0	0	0	0

Lampiran 6. Data akumulasi Se

Konsentrasi Se	Ulangan			rata	STDEV	SE	Presentasi
	1	2	3				
0	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0	0	0%
100 μ m	0.0681	0.0762	0.0705	0.0716	0.00416	0.0024	71,6 %
200 μ m	0.1551	0.1652	0.1579	0.1594	0.00516	0.0029	79,7%

Lampiran 7. Data kurva pertumbuhan CWB-1 pada konsentrasi yang berbeda

Konsentrasi	Waktu	Ulangan			Rata-Rata	SD	SE
		1	2	3			
0 mM	0 jam	0.017	0.018	0.019	0.018	0.001	0.0005
	8 jam	1.906	1.914	1.913	19.11	0.004359	0.002517
	16 jam	1.911	1.917	1.914	1.914	0.003	0.001732
	24 jam	2.165	2.165	2.163	2.164	0.001155	0.000667
	32 jam	2.19	2.192	2.166	2.182	0.014468	0.008353
	40 jam	2.076	2.082	2.081	2.182	0.003215	0.001856
	48 jam	2.07	2.061	2.069	2.066	0.004933	0.002848
	56 jam	1.985	1.997	1.998	1.993	0.007234	0.004177
	64 jam	1.958	1.958	1.956	1.957	0.001155	0.000667
	72 jam	1.912	1.914	1.917	1.914	0.002517	0.001453
5 mM	0 jam	0.077	0.079	0.078	0.078	0.001	0.000577
	8 jam	1.889	1.883	1.885	1.885	0.003055	0.001764
	16 jam	1.905	1.918	1.907	1.91	0.007	0.004041
	24 jam	1.938	1.937	1.938	1.937	0.000577	0.000333
	32 jam	1.963	1.968	1.967	1.966	0.002646	0.001528
	40 jam	1.985	1.98	1.985	1.983	0.002887	0.001667
	48 jam	2.049	2.056	2.058	2.054	0.004726	0.002728
	56 jam	2.001	2.007	2.005	2.004	0.003055	0.001764
	64 jam	1.993	1.997	1.993	1.994	0.002309	0.001333
	72 jam	1.952	1.952	1.948	1.95	0.002309	0.001333
10 mM	0 jam	0.212	0.21	0.218	0.213	0.004163	0.002404
	8 jam	1.852	1.852	1.857	1.853	0.002887	0.001667
	16 jam	1.869	1.87	1.882	1.873	0.007234	0.004177
	24 jam	1.933	1.935	1.935	1.934	0.001155	0.000667
	32 jam	1.954	1.955	1.953	1.954	0.001	0.000577
	40 jam	1.979	1.971	1.976	1.975	0.004041	0.002333
	48 jam	1.984	1.982	1.983	1.983	0.001	0.000577
	56 jam	1.979	1.981	1.933	1.964	0.027154	0.015677
	64 jam	1.93	1.932	1.933	1.931	0.001528	0.000882
	72 jam	1.929	1.929	1.93	1.929	0.000577	0.000333

Lampiran 8. Hasil Analisis Duncan

A. Hasil analisis Duncan Akumulasi Selenium

kadar akumulasi

Konsentrasi selenium		N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Duncan ^a	0.1	3	.000250		
	3	3		.029267	
	0.2	3			.071500
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

B. Hasil analisis Duncan kurva pertumbuhan bakteri.

Kurva Pertumbuhan Bakteri

Duncan

PERLAKUAN	N	Subset		
		1	2	3
10 mM	27	1.93326		
5 mM	27		1.96515	
0 mM	27			2.02037
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

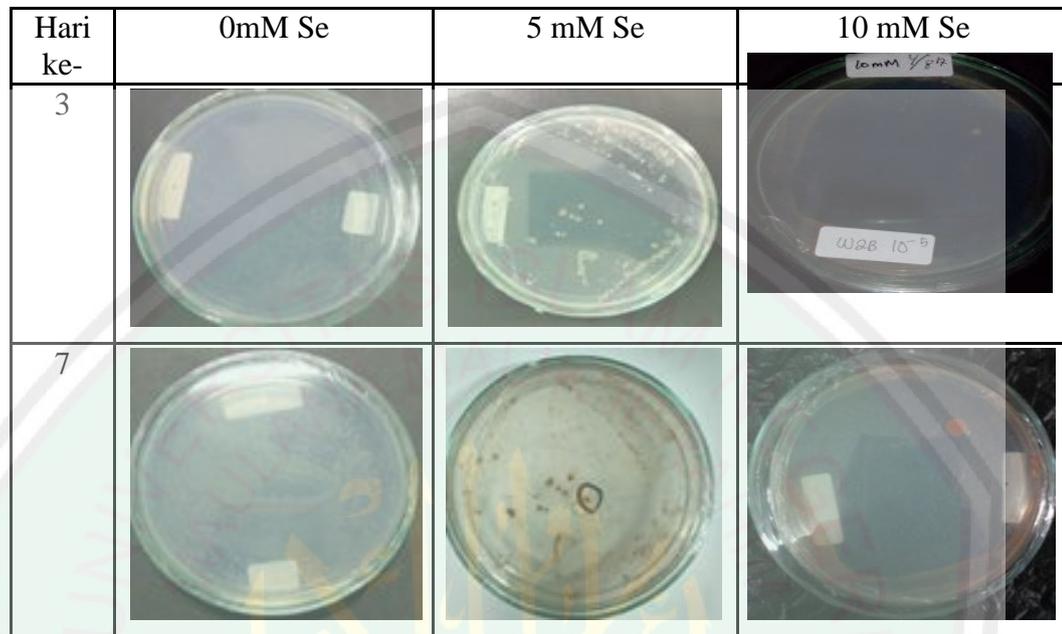
The error term is Mean Square(Error) = 4.704E-005.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 27.000.

b. Alpha = .05.

Lampiran 9. Gambar Pengamatan Bakteri Resisten Selenite dan Selenate yang menunjukkan perubahan warna menjadi merah.

A. Gambar Bakteri Resisten Selenite



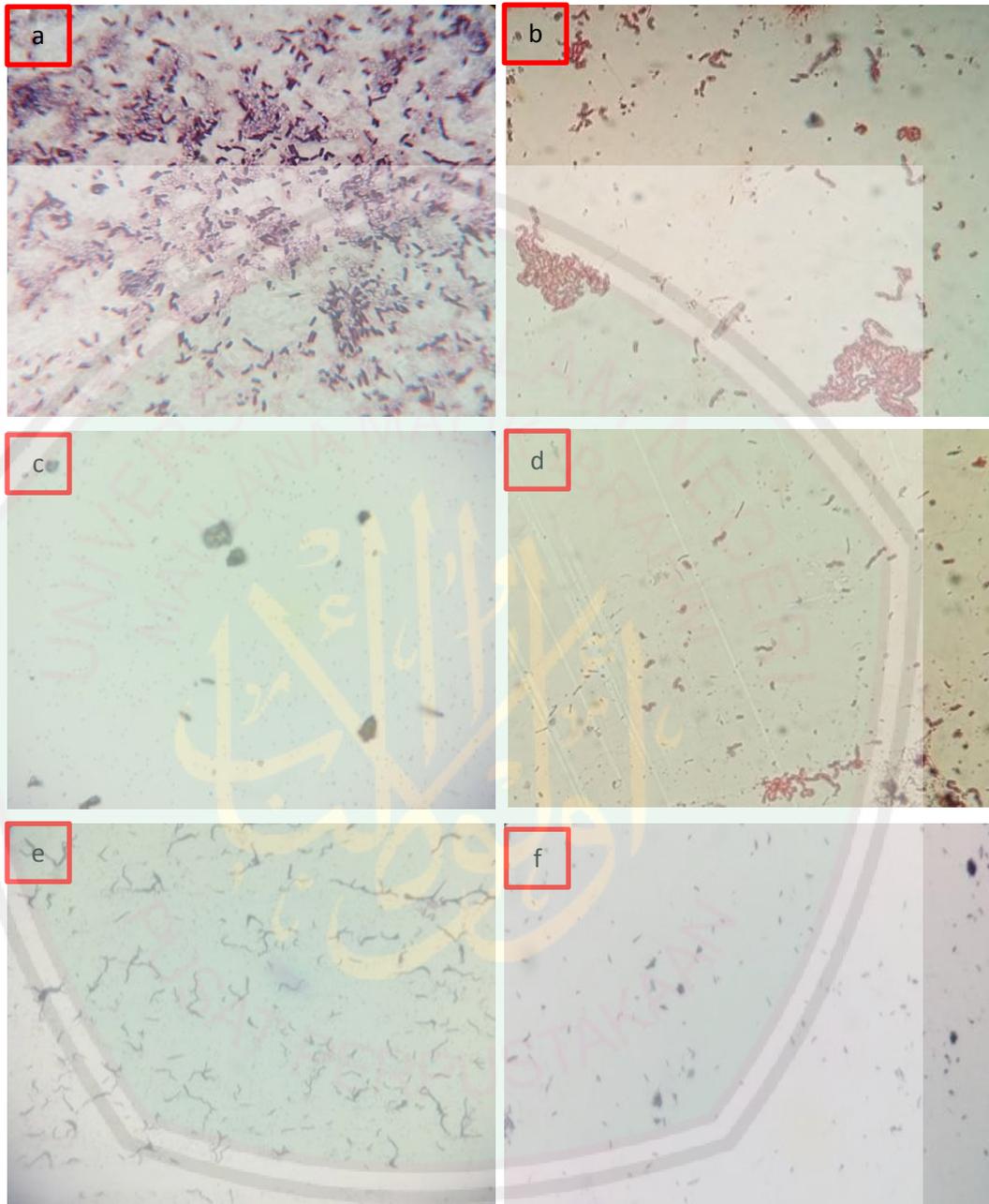
Penampilan bakteri resisten selenium yang tumbuh pada cawan petri dengan konsentrasi media BSM dan sodium selenite yang bervariasi. Warna merah-oranye pada koloni adalah akibat akumulasi selenium menjadi Se elemental.

B. Gambar Bakteri Resisten Selenate (CWB-1)



Penampilan bakteri resisten selenium yang tumbuh pada tabung reaksi dengan konsentrasi media BSM dan sodium selenate yang bervariasi pada waktu inkubasi 7 hari. Warna merah-oranye pada koloni adalah akibat akumulasi selenium menjadi Se elemental.

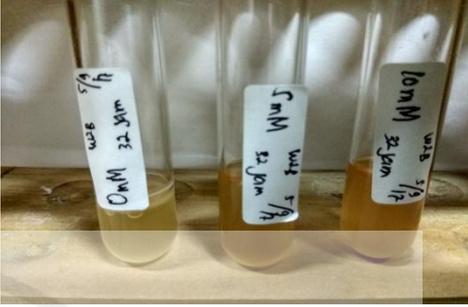
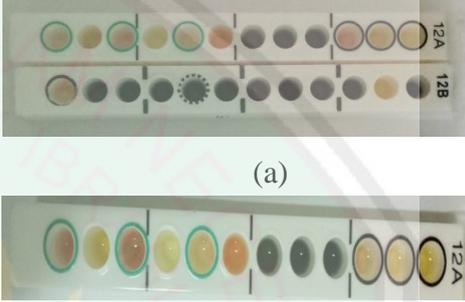
Lampiran 10. Hasil Pengamatan Mikroskopik pada 6 Isolat bakteri Resisten Selenite



Keterangan: pengamatan dibawah mikroskop 40 x 10. a). CWB-1, gram positif, basil, b). CWB-2 gram negatif , basil berantai, c). CWB-3 gram positif, coccus, d). CWB-4 gram negatif, basil, e).CWB-5 gram positif, basil panjang berantai, f).CWB-6 gram positif, basil pendek.

Lampiran 11. Foto Dokumentasi Pengamatan



 <p>Hasil pewarnaan gram</p>	 <p>Sampel kurva bakteri</p>
 <p>Sampel awetan dalam gliserol</p>	 <p>Uji Kit <i>Microbact</i> GNB 12A/E dan 12B Keterangan: (a) sebelum ditetesi reagen. (b) setelah ditetesi reagen</p>
 <p>Proses pengamatan secara mikroskopis</p>	 <p>sub kultur dalam media BSM cair</p>

Lampiran 12. Substrat dan Reaksi Uji *Microbact*

A. (TABLE OF SUBSTRATES AND REACTIONS (12A))

No	Nama uji	Prinsip reaksi	Warna reaksi		Ket
			negatif	Positif	
1	Lysine	Lysine decarboxylase	kuning	Biru-hijau	Warna hijau atau biru adalah reaksi positif. Bromothymol biru menunjukkan pembentukan kadeat amina spesifik.
2	ornithine	Ornithine decarboxylase	Kuning-hijau	Biru	Hijau harus dianggap sebagai reaksi negatif. Pergeseran pH yang ditunjukkan oleh biru bromotimol yang disebabkan oleh pembentukan amine putresin spesifik lebih besar daripada yang disebabkan oleh dekarboksilasi lisin.
3	H ₂ S	Produksi H ₂ S	Warna jerami	Hitam	H ₂ S dihasilkan dari thiosulphate. H ₂ S bereaksi dengan garam besi dalam medium untuk membentuk endapan hitam
4	Glucose	Fermentasi glukosa	Biru-hijau	Kuning	Indikator biru Bromothymol berubah dari biru ke kuning saat karbohidrat digunakan untuk membentuk asam.
5	Mannitol	Fermentasi mannitol	Biru-hijau	Kuning	
6	Xylose	Fermentasi xylose	Biru-hijau	Kuning	
7	ONPG	Hidrolisis o-nitrophenyl-β-d-galactopyranoside (ONPG) dengan tindakan dari β-galaktosidase	Tanpa warna	Kuning	Hidrolisis β-galaktosidase dari ONPG yang tidak berwarna melepaskan orth-onitrophenol kuning.
8	Indole	Produksi indol dari tryptophan	Tanpa warna	Merah muda-merah	Indole terbentuk dari metabolisme triptofan. Pereaksi Indole Kovacs membentuk kompleks merah muda merah dengan indole.
9	Urease	Hidrolisis urea	Warna jerami	Merah muda-merah	Ammonium yang dilepaskan dari pemisahan urea menyebabkan pH naik - ditandai dengan perubahan fenol merah dari kuning ke merah merah jambu
10	VP	Produksi acetoin(reaksi (Voges-Proskauer)	Warna jerami	Merah muda-merah	Acetoin dihasilkan dari glukosa yang ditunjukkan oleh pembentukan kompleks merah muda merah setelah penambahan alfa-naftol dan creatine.
11	Citrate		hijau	Biru	Sitrat adalah satu-satunya sumber karbon, yang jika digunakan menghasilkan kenaikan pH, ditunjukkan dengan warna biru bromotymol, dengan perubahan warna dari hijau ke biru.
12	TDA	Produksi indolepyruvate oleh deaminasi dari triptofan	Warna jerami	Merah ceri	Tryptophan deaminase membentuk asam indolepyruvic dari triptofan yang menghasilkan warna coklat dengan adanya ion ferrik. Organisme positif Indole bisa menghasilkan warna coklat. Ini adalah reaksi negatif.

B. (TABLE OF SUBSTRATES AND REACTIONS (12B))

no	Nama uji	Prinsip reaksi	Warna reaksi		Ket
			negatif	positif	
1	Gelatin	Pencairan gelatin	Tidak berwarna	hitam	Pencairan gelatin oleh enzim proteolitik mendifusikan pigmen hitam. Partikel gelatin padat yang mungkin melayang di atas sumur setelah rehidrasi harus dianggap sebagai reaksi negatif.
2	Malonate	Hambatan malonate	Hijau	biru	Sodium malonate adalah satu-satunya sumber karbon dan ini menghambat konversi asam suksinat menjadi asam fumarat. Organisme yang tidak dapat memanfaatkan substrat ini menghasilkan akumulasi asam suksinat dan organisme tidak dapat tumbuh. Bromothymol biru adalah indikatornya. Kuning-hijau merupakan indikasi hasil negatif. Pemanfaatan Na malonate pada saat bersamaan dengan amonium sulfat digunakan sebagai sumber nitrogen menghasilkan natrium hidroksida sehingga meningkatkan alkalinitas dan pewarnaan biru.
3	Inositol	Fermentasi inositol	Biru-hijau	kuning	Indikator biru Bromothymol berubah dari biru menjadi kuning saat karbohidrat difermentasi.
4	Sorbitol	Fermentasi sorbitol	Biru-hijau	kuning	
5	Rhamnose	Fermentasi rhamnose	Biru-hijau	kuning	
6	Sucrose	Fermentasi Sucrose	Biru-hijau	kuning	
7	Lactose	Fermentasi Lactose	Biru-hijau	kuning	
8	Arabinose	Fermentasi Arabinose	Biru-hijau	kuning	
9	Adonitol	Fermentasi Adonitol	Biru-hijau	kuning	
10	Raffinose	Fermentasi Raffinose	Biru-hijau	kuning	
11	Salicin	Fermentasi Salicin	Biru-hijau	kuning	
12	Arginine	Arginine dihydrolase			Arginine dihydrolase mengubah arginine menjadi ornithine, amonia dan karbon dioksida. Hal ini menyebabkan kenaikan pH seperti yang ditunjukkan oleh biru bromotymol. Reaksi hijau yang terjadi pada 48 jam harus diartikan sebagai negatif
		24 jam	kuning	Hijau-biru	
		48 jam	Kuning-hijau	biru	

Lampiran 13 . Hasil uji pendahuluan analisis Se pada sedimen PANTURA,
Campurejo, Panceng, Gresik

BALAI PENELITIAN DAN KONSULTASI INDUSTRI
LABORATORIUM
PENELITIAN DAN KONSULTASI INDUSTRI
SURABAYA – JAWA TIMUR



REPORT

Certificate of Analysis

No : 06657/KI/V-2017
Code : Penelitian
Sample Sender : Mhs. Bio UIN Malang
Sample Name : Sedimen
Test : Se
Sample Brand :
Sample Identity : Padatan sedimen keoklatan
Sample Accepted : 16 Mei 2017

Chemical laboratory test result is:

Kode	Se, ppm
N 1	1,05
2	1,18
3	0,99
W 1	0,48
2	0,67
3	0,57



Surabaya, 18 Mei 2017

Head Chemical Laboratory Researcher

Drs M. Fatoni, M.S.

Laboratory Office Jl. Ketintang Baru XVII no 14
Telp 08155151337, Bank BCA – Bank Jatim
Surabaya

Lampiran 14 . Hasil analisis akumulasi Se dalam tubuh bakteri

BALAI PENELITIAN DAN KONSULTASI INDUSTRI
LABORATORIUM
PENELITIAN DAN KONSULTASI INDUSTRI
SURABAYA – JAWA TIMUR



REPORT

Certificate of Analysis

No : 07032/KI/IX-2017
 Code : Penelitian
 Sample Sender : Mhs. Bio UIN Malang
 Sample Name : Bakteri air Selenium - W
 Test : Se dalam bakteri
 Sample Brand :
 Sample Identity : Cairan keruh
 Sample Accepted : 20 Sept.2017

Chemical laboratory test result is :

Kode	Se, ppm		
	1.	2.	3.
0,1	5,383	6,02	5,57
0,2	12,26	13,05	12,48
0,0	0,02		



Surabaya, 26 Sept. 2017

Head of Chemical Laboratory Researcher

Drs M. Fatoni, M.S.

Laboratory Office Jl. Ketintang Baru XVII no 14
 Telp 08155151337, Bank BCA – Bank Jatim
 Surabaya

Lampiran 15 . Hasil analisis Microbact isolat CWB-1



UNIT LAYANAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Kampus C Mulyorejo Surabaya (60115) Telephon 62 – 31 5936501, Faks 62 – 31 5926804, 5936502
 E-mail : unitlayanan.biologiua@gmail.com

Tabel hasil karakteristik pengamatan kode Isolat W

No.	Karakteristik	Hasil Pengamatan
1	Oxidase	+
2	Motilitas	-
3	Nitrate	-
4	Lysine	-
5	Ornithine	-
6	H ₂ S	-
7	Glucose	-
8	Mannitol	-
9	Xylose	-
10	ONPG	+
11	Indole	-
12	Urease	-
13	VP	-
14	Citrate	-
15	TDA	-
16	Gelatin	-
17	Malonate	-
18	Inositol	-
19	Sorbitol	-
20	Rhamnose	-
21	Sucrose	-
22	Lactose	-
23	Arabinose	-
24	Adonitol	-
25	Raffinose	-
26	Salicin	-
27	Arginine	-
28	Pewarnaan Gram	Positif
29	Bentuk	Batang

Hasil identifikasi menunjukkan bahwa bakteri teridentifikasi spesies *Bacillus badius* dengan persen probabilitas 88,00 %.



**UNIT LAYANAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

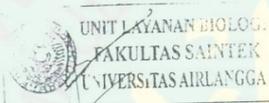
Kampus C Mulyorejo Surabaya (60115) Telephon 62 – 31 5936501, Faks 62 – 31 5926804, 5936502
E-mail : unitlayanabiologiua@gmail.com

Hasil pengujian bakteri Gram positif dilakukan dengan penghitungan koefisien sebanding. Hasil uji morfologi dan fisiologi bakteri *Bacillus* digunakan untuk menentukan presentase koefisien sebanding (Ss) yang mencakup kesamaan positif dan negatif dari karakter masing-masing spesies bakteri dari genus *Bacillus* (Stanier *et al.*, 1986).

Surabaya, 20 Oktober 2017

Mengetahui,
Sekretaris Departemen Biologi,

Bagian Analisis,



Dr. Junairiah, S.Si., M.Kes.
NIP. 197107142002122002

Dr. Ni'matuzahroh
NIP. 196801051992032003

Lampiran 16. Bukti konsultasi skripsi



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
 Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Wafiatun Amalia
 NIM : 13620026
 Program Studi : S1 Biologi
 Semester : Ganjil/ Genap TA
 Pembimbing : Romaidi M.Si., D.Sc
 Judul Skripsi : Bioakumulasi Se oleh bakteri resisten Se yang diisolasi dari PANTURA, Campurejo, Panceng, Gresik

NO	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	21-02-2017	ACC Judul skripsi	<i>[Signature]</i>
2.	05-04-2017	Konsultasi BAB I	<i>[Signature]</i>
3.	10-05-2017	Konsultasi BAB I, II, III	<i>[Signature]</i>
4.	31-05-2017	Revisi BAB I, II, III	<i>[Signature]</i>
5.	08-06-2017	ACC BAB I, II, III	<i>[Signature]</i>
6.	04-09-2017	Konsultasi hasil resistensi selenit	<i>[Signature]</i>
7.	11-09-2017	Konsultasi hasil resistensi selenat	<i>[Signature]</i>
8.	29-09-2017	Konsultasi hasil kurva pertumbuhan bakteri	<i>[Signature]</i>
9.	11-10-2017	Konsultasi hasil microbact	<i>[Signature]</i>
10.	18-10-2017	Konsultasi hasil akumulasi se	<i>[Signature]</i>
11.	2-11-2017	Konsultasi BAB IV,V	<i>[Signature]</i>
12.	17-11-2017	Revisi BAB IV, V	<i>[Signature]</i>
13.	28-11-2017	Konsultasi daftar pustaka	<i>[Signature]</i>
14.	8-12-2017	Revisi BAB IV, daftar pustaka	<i>[Signature]</i>
15.	26-12-2017	Konsultasi BAB I,II,III,IV,V,dapus	<i>[Signature]</i>
16.	3-01-2018	ACC Skripsi	<i>[Signature]</i>

Pembimbing Skripsi,

[Signature]
Romaidi, M.Si., D.Sc
 NIP. 19810201 200901 1 019

Malang, 3 Januari 2018
 Ketua Jurusan,

[Signature]
Romaidi, M.Si., D.Sc
 NIP. 19810201 200901 1 019

Lampiran 17. Bukti konsultasi Agama



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
 Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI AGAMA ISLAM

Nama : Wafiatun Amalia
 NIM : 13620026
 Program Studi : S1 Biologi
 Semester : Ganjil/ Genap TA
 Pembimbing : Romaidi M.Si., D.Sc
 JudulSkripsi : Bioakumulasi Se oleh bakteri resisten Se yang diisolasi dari PANTURA, Campurejo, Panceng, Gresik

NO	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	5/6 2017	Konsultasi BAB I	1.
2.	4/12 2017	Konsultasi BAB I, II, III	2.
3.	8/12 2017	Konsultasi BAB IV	3.
4.	13/12 2017	Konsultasi BAB IV	4.
5.	20/12 2017	Konsultasi BAB I, II, IV	5.
6.	21/12 2017	ACC agama	6.

Pembimbing Agama,

Malang, 3 Januari 2018
 Ketua Jurusan,

M. Mukhlis Fahrudin M.Si
 NIP. 201402011409

Romaidi, M.Si., D.Sc
 NIP. 19810201 200901 1 019