

**UJI KEMAMPUAN BAKTERI RESISTEN-SELENIUM DALAM
MENGAKUMULASI SELENIUM DARI PANTAI SENDANG BIRU
KABUPATEN MALANG**

SKRIPSI

Oleh:

MAGSTIN NAJLA SAFURA

NIM. 13620072



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2017

**UJI KEMAMPUAN BAKTERI RESISTEN-SELENIUM DALAM
MENGAKUMULASI SELENIUM DARI PANTAI SENDANG BIRU
KABUPATEN MALANG**

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 :

Magstin Najla Safura

NIM. 13620072

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2017

UJI KEMAMPUAN BAKTERI RESISTEN-SELENIUM DALAM
MENGAKUMULASI SELENIUM DARI PANTAI SENDANG BIRU
KABUPATEN MALANG

SKRIPSI

Oleh :

Magstin Najla Safura

NIM. 13620072

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:

Tanggal: 27 Desember 2017

Dosen Pembimbing I,

Dosen Pembimbing II,



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



M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIPT. 201402011409

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



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

**UJI KEMAMPUAN BAKTERI RESISTEN-SELENIUM DALAM
MENGAKUMULASI SELENIUM DARI PANTAI SENDANG BIRU
KABUPATEN MALANG**

SKRIPSI

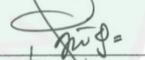
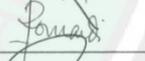
Oleh :

Magstin Najla Safura

NIM. 13620072

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

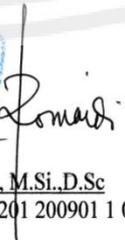
Tanggal: 27 Desember 2017

Penguji Utama	<u>Dr. Hj. Ulfah Utami M. Si</u> NIP. 19650509 199903 2 002	
Ketua Penguji	<u>Priya 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.S.I</u> NIPT. 201402011409	

Mengesahkan,

Ketua Jurusan Biologi




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

**SURAT PERNYATAAN
ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Magstin Najla Safura

NIM : 13620072

Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi

Judul Penelitian : Uji Kemampuan Bakteri Resisten-Selenium dalam Mengakumulasi Selenium dari Pantai Sendang Biru Kabupaten Malang

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 mempertanggungjawabkan, serta diproses sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Malang, 20 Desember 2017

Yang Membuat Pernyataan



Magstin Najla Safura
NIM. 13620072

MOTTO

إِذَا صَدَقَ الْعَزْمُ وَضَحَ السَّبِيلُ

“Jika ada kemauan yang sungguh-sungguh,
pasti terbukalah jalannya”



HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya teristimewa yang telah penulis hasilkan dalam menempuh pendidikan hingga detik ini akan penulis persembahkan kepada:

Kedua orang tua tersayang yaitu Bapak Mochamad Abbdul Ghoni dan Ibu Dewi Anggraini yang telah mencurahkan kasih sayang, doanya serta selalu memberikan segala bentuk dukungan kepada penulis.

Adikku tercinta Ovin (Obhe) dan Keluarga besar Kakek Sani, yang selalu memberikan semangat dan telah sabar dalam menasehati dan memotivasi penulis demi kelancaran dalam menuntut ilmu.

Terimakasih untuk GengBatte (Ismi, Pipit, Jus Ihsan, Muhai, Afifah, Desy, Fajri dan Yajid) yang telah memberikan warna-warni dan dorongan untuk segera menyelesaikan tugas akhir ini. Cerita tentang kalian tidak akan pernah usai. Tak lupa teruntuk seseorang nan jauh disana yang senantiasa memberikan semangat, waktu, dan kesabaran dalam mendampingi penulis selama menjalani tugas akhir ini.

Keluarga besar Jurusan Biologi 2013 terutama teman seperjuangan di Laboratorium Mikrobiologi terimakasih atas seluruh bantuan, dukungan dan pengalaman-pengalaman berharganya. Dan untuk seluruh pihak yang telah membantu dalam penyelesaian tugas akhir ini. Semoga tali silaturahmi kita tetap terjaga

KATA PENGANTAR

Puju syukur Allhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq dan hidah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian sekaligus tugas akhir in dengan judul “Uji Kemampuan Bakteri Resisten-Se dalam Mengakumulasi Se dari Pantai Sendang Biru Malang”. Shalawat serta salam semoga tercurahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW.

Penyusunan skripsi ini tentunya tidak terlepas dari bantuan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak. Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Abdul Haris, M.Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si, D.Sc selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Romaidi, M.Si, D.Sc dan M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I, selaku dosen pembimbing yang penuh dengan kesabaran dan keikhlasan yang senantiasa memberikan bimbingan, arahan dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini.
5. Evika Sandi Savitri, M.P, selaku dosen wali yang memberikan saran dan nasehat yang berguna.
6. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si dan Prilya Dewi, M.Sc, selaku dosen penguji yang telah memerikan kritik dan saran yang membangun yang membantu dalam terselainya skripsi ini.
7. Seluruh dosen, Laboran Jurusan Biologi dan Staf Administrasi yang telah membantu dan memberikan kemudahan, terimakasih atas semua ilmu dan bimbingannya.
8. Bapak, Ibu segenap keluargaku lainnya yang tak pernah lelah untuk tetap mendukung baik secara moril dan materil serta ketulusan doa sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.

9. Teman-teman bimbingan Pak Romaidi khususnya Tim Selenium (Wafi dan Izatu) dan Tim Minyak (Roqi dan Jus Ihsan) yang selalu berjuang bersama dalam suka maupun duka selama berjalannya penelitian.
10. Keluarga besar Biologi, terkhusus untuk angkatan 2013, terimakasih atas semua dukungan, semangat, dan pertemanan yang terjalin.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu, terimakasih atas segala bentuk dukungannya sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Semoga Allah memberikan balasan atas segala bantuan yang telah diberikan kepada penulis. Akhir kata, penulis berharap semoga karya sederhana ini dapat bermanfaat dan menjadi inspirasi bagi peneliti lain serta menambah khasanah ilmu pengetahuan bagi semua pembaca, Amiin.

Malang, 20 Desember 2017

Magstin Najla Safura

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	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACK	xvii
الملخص	xviii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan	6
1.4 Batasan Masalah	6
1.5 Manfaat	7
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Selenium	8
2.1.1 Polusi dan Toksisitas Selenium	13
2.1.2 Metabolisme Selenium Pada Manusia	16
2.2 Bioremediasi	17
2.2.1 Pemanfaatan Bakteri dalam Bioremediasi Se	21

2.2.2 Mekanisme Bakteri Resisten-Se	26
2.3 Sendang Biru	27
2.4 Fase Pertumbuhan Bakteri	31
BAB III. METODE	33
3.1 Rancangan Penelitian	33
3.2 Watu	33
3.3 Alat dan Bahan	33
3.3.1 Alat	33
3.3.2 Bahan	34
3.4 Prosedur Penelitian	34
3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	34
3.4.2 Pengambilan Sampel	35
3.4.3 Pembuatan Media	36
3.4.4 Isolasi Bakteri	37
3.4.4 Uji Resisten Selenat Pada Isolat Bakteri Terpilih	37
3.4.5 Identifikasi Bakteri	38
3.4.5.1 Pewarnaan Gram	38
3.4.5.2 Identifikasi Menggunakan <i>Microbact</i>	39
3.4.6 Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Resisten-Se	40
3.4.7 Uji Bioakumulasi Selenium Pada Bakteri Terpilih	40
3.4.8 Perhitungan Persentase Akumulasi Se	41
3.4.8 Analisis Data	41
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	43
4.1 Jenis Bakteri Resisten Selenium	43
4.1.1 Uji Resistensi Bakteri Resistens Selenit Terhadap Selenat	47
4.1.2 Identifikasi Karakteristik Makroskopis dan Mikroskopis Isolat Bakteri Terpilih	49
4.1.3 Identifikasi Bakteri Resisten Selenium Strain SNB-5 Menggunakan <i>Microbact</i>	52

4.2 Karakteristik Pertumbuhan Strain SNB-5 dalam Berbagai Macam Konsentrasi Se	55
4.3 Uji Akumulasi Bakteri Resiten Se	60
BAB V. PENUTUP	67
5.1 Kesimpulan	67
5.2 Saran	68
DAFTAR PUSTAKA	69
LAMPIRAN	77



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Siklus selenium secara global di alam.....	12
Gambar 2.2 Metabolisme selenium pada manusia	17
Gambar 2.3 Model reaksi detoksifikasi selenium dan reduksi dissimilatori selenat pada bakteri	26
Gambar 2.3 Peta Sendang Biru	29
Gambar 3.1 Lokasi Pengambilan Sampel di Pantai Sendang Biru	34
Gambar 4.1 Jumlah bakteri yang tumbuh di media BSM dengan penambahan Se 0, 5 dan 10 mM pada masing-masing stasiun.....	44
Gambar 4.2 Koloni bakteri pada media yang disuplementasi selenium	45
Gambar 4.3 Perbandingan jumlah bakteri yang tumbuh pada media mengandung Se dengan konsentrasi tertinggi (10 mM) pada stasiun 1, 2, dan 3	46
Gambar 4.4 Kurva pertumbuhan bakteri resisten-Se pada OD 600 nm.....	57
Gambar 4.5 Bioakumulasi Se oleh bakteri resisten-Se pada media yang mengandung 0, 100 dan 200 μ M natrium selenit	62

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Batas maksimal asupan Se/ hari yang masih dapat ditoleransi tubuh	15
Tabel 4.1 Hasil strain bakteri yang tumbuh pada media BSM dengan penambahan natrium selenat	48
Tabel 4.2 Karakteristik isolat bakteri hasil isolasi dari sedimen Pantai Sendang Biru	53
Tabel 4.3 Hasil Karakteristik Uji biokimia Isolat bakteri resisten Selenium dari pantai Sendang Biru menggunakan <i>Microbact</i>	56
Tabel 4.5 Persentase akumulasi Se oleh bakteri resisten selenit.....	62

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram Alir Metode Kerja.....	77
Lampiran 2 Persiapan Sediaan Larutan Natrium Selenit (Na_2SeO_3).....	79
Lampiran 3 Hasil Identifikasi Bakteri Menggunakan Microbact	85
Lampiran 4 Nilai Absoransi (OD) Pada Kurva Pertumbuhan Bakteri	86
Lampiran 5 Data Hasil Uji Bioakumulasi Bakteri Resisten-Se	87
Lampiran 6 Dokumentasi Penelitian.....	88
Lampiran 7 Hasil Analisis Statistik	90
Lampiran 8 Prosedur Isolasi dan Uji Resistensi Selenium	92
Lampiran 9 Uji Bioakumulasi Bakteri Resisten-Se Terpilih	93
Lampiran 10 Hasil Uji Akumulasi Se	94

ABSTRAK

Safura, Magstin Najla. 2017. Uji Kemampuan Bakteri Resisten Selenium dalam Mengakumulasi Selenium Dari Pantai Sendang Biru Kabupaten Malang. 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: Selenium, Pantai Sendan Biru, Bakteri Resisten selenium

Selenium adalah metaloid yang dibutuhkan oleh makhluk hidup yang dalam kadar tinggi dapat bersifat toksik. Hasil studi pendahuluan menunjukkan bahwa kandungan selenium dalam sedimen Pantai Sendang Biru sebesar 990-1.180 $\mu\text{g/L}$ atau seribu kali lebih tinggi dibandingkan batas maksimum yang ditetapkan oleh EPA. Berdasar pada hipotesa bahwa organisme yang hidup di lingkungan yang mengandung logam berat dalam kadar tinggi termasuk selenium adalah organisme yang resisten terhadap logam. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bakteri resisten selenium dari sedimen Pantai Sendang Biru dan kemampuannya dalam mengakumulasi selenium.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan penelitian deksriptif kualitatif. Sampel sedimen Pantai Sengang Biru diambil dari tiga stasiun yang berbeda. Isolasi bakteri menggunakan metode pengenceran bertingkat dan idenifikasi uji biokimia menggunakan *Microbact*. Parameter yang diamati berupa karakteristik makroskopis dan mikroskopis bakteri serta uji resistensi dan kemampuannya dalam mengakumulasi selenium. Uji resistensi selenit dan selenat menggunakan Na_2SeO_3 dan Na_2SeO_4 dengan konsentrasi 0, 5, dan 10 mM, sedangkan uji akumulasi kadar selenium adalah 0, 100 dan 200 μM dengan tiga ulangan. Analisis kandungan selenium dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA). Data yang diperoleh disajikan disajikan secara deskriptif dan diperkuat dengan analisis statistik menggunakan *One Way Anova*.

Hasil isolasi didapatkan sembilan jenis bakteri resisten selenit dan satu bakteri yang juga resisten selenat pada konsentrasi 5 mM dan 10 mM. Bakteri resisten selenium teridentifikasi sebagai *Pseudomonas diminuta*. Bakteri ini mampu mengakumulasi selenium dengan prosentase 60,7% pada perlakuan 100 μM dan 69% pada perlakuan 200 μM . Strain bakteri ini dapat diaplikasikan untuk bioremediasi terhadap toksisitas selenium.

ABSTRACT

Safura, Magstin Najla. 2017. The Ability Test of Selenium-resistant Bacteria in Accumulating Selenium from Sendang Biru Beach Malang. Thesis of Biology Department Faculty of Science and Technology State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang. First Supervisor: Romaidi M.Si, D.Sc; Second Supervisor: M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I

Keyword: Selenium, Sendang Biru Beach, Selenium-resistant Bacteria

Selenium is a metalloid that is required by living beings which it may be toxic in high level. The results of the preliminary study show that the content of selenium in Sendang Biru beach sediment is 990-1.180 $\mu\text{g/L}$ or a thousand times higher than the maximum limit set by the EPA. Based on the hypothesis, organisms that live in environments containing high levels of heavy metals such as selenium are metal-resistant organisms. The objective of this study is to find out the selenium-resistant bacteria from Sendang Biru beach sediment and its ability to accumulate selenium.

This study is an experimental research using qualitative descriptive research design. The samples of Sendang Biru beach sediment were taken from three different stations. Bacteria isolation using multilevel dilution methods and the identification of biochemical tests using Microbact. The observed parameters were macroscopic and microscopic characteristics of bacteria and test of resistance and its ability to accumulate selenium. Selenite and selenate resistance tests using Na_2SeO_3 and Na_2SeO_4 with concentrations of 0, 5, and 10 mM, while selenium accumulation test, the selenium levels were 0, 100 and 200 μM with three replications. Selenium content analysis was performed using Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS). The data obtained are presented descriptively and reinforced by statistical analysis using One Way Anova.

The isolation result found nine isolates of selenite-resistant bacteria and a bacterium which also selenate-resistant at concentration 5 mM and 10 mM. Selenium-resistant bacteria are identified as *Pseudomonas diminuta*. This bacteria can accumulate selenium with 60,7% percentage at 100 μM treatment and 69% at 200 μM treatment. This bacteria strain can be applied for bioremediation against selenium toxicity.

مستخلص البحث

سفر, مغسنت نجلى. 2017 . اختبار القدرة البكتيريا المقاومة للسيلينيوم في جمع السيلينيوم من شاطئ سيندج بيرو منطقة مالانج. البحث الجامعي. قسم الحياة كليت العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشريف رماء دي الماجستير, D. Sc; المشريف الديني : مخلص فحردن الماجستير

الكلمات الأساسية: السيلينيوم, شاطئ سيندج بيرو, البكتيريا المقاومة للسيلينيوم
السيلينيوم هو لافلز لوازم بواسطة الكائنات الحية التي في عالية الجودة يمكن أن تكون سامة. نتائج اختبار الأولية دال على محتويات السيلينيوم في رواسب شاطئ سيندج بيرو $1.180-990 \mu\text{g/L}$ أو أعلى من ألف مرة لمقارنة حد أعلى الذي تأكد مع EPA. على أساس فرضية أن كائن حي في بيئة التي وعى المعادن الثقيلة في عالية الجودة تضمن على السيلينيوم هو كائن حي التي مقاوم المعادن. تستخدم الباحثة البحث ترجي على معرفت البكتيريا المقاومة للسيلينيوم من رواسب شاطئ سيندج بيرو و مقدره با تراكم السيلينيوم.

كان تستخدم الباحثة البحث هو تجريبية تستخدم الباحثة البحث با الإستعمال خطة الباحثة البحث كمي. أن عيانت رواسب شاطئ سيندج بيرو مأخوذ من ثلاثة المكان مختلف. باعد البكتيريا با طريقة تخفيف متدرج و تحديد اختبار كيمياء حيوية با الإستعمال *Microbact*. المعلومات لاحظت با شكل الخصائص ظاهريا و المجهر البكتيريا و كذلك اختبار المقاومة و القدرةها في جمع السيلينيوم. اختبار المقاومة سيلينيت و سلينات با الإستعمال Na_2SeO_3 و Na_2SeO_4 با تركيز 0, 5, و 10 mM في حين اختبار جمع السيلينيوم محتوى السيلينيوم هو 0, 100, و $200 \mu\text{M}$ با ثلاث مكررات. تحليل المحتوى السيلينيوم تعملو با الإستعمال مقياس الطيف الامتصاص الذري (SSA). البيانات التي تم الحصول عليها مقدم با الطريقة وصفي و عززت با إستعمال تحليل إحصاء *One Way Anova*.

كان نتيجة من باعدها تسعة أنواع البكتيريا من مقاوم سيلينيت و واحد من البكتيريا من مقاوم سلينات في تركيز 5 mM و 10 mM نتيجة العزلة توجد تسعة أنواع البكتيريا المقاومة للسيلينيوم ليكون محدد *Pseudomonas diminuta*. كان البكتيريا قادرة على تراكم السيلينيوم مع نسبة مفعوية 60,7% على العلاج $100 \mu\text{M}$ و 69% على العلاج $200 \mu\text{M}$. سلالة البكتيريا تستعملو للمعالجة البيولوجية ضد السمية السيلينيوم.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Selenium (Se) merupakan unsur kimia yang dapat ditemukan dalam bentuk organik dan anorganik. Se organik yaitu selenometionin dan selenosistein berperan sebagai elemen tris yang dibutuhkan oleh tubuh manusia, hewan dan tumbuhan. Sedangkan bentuk anorganik yakni berupa selenida (Se^{2-}), selenat (SeO_4^{2-}) dan selenit (SeO_3^{2-}). Se dapat berupa dua bentuk yang berbeda, merah dan abu-abu yang disebut dengan alotrof (Miller, 2006).

Menurut Kimura *et al* (2014) Se berperan dalam berbagai macam bahan industri seperti semikonduktor, fotosel, tuner fotografi dan kaca berwarna. Ike *et al* (2000) menambahkan bahwa Se juga digunakan secara luas termasuk dalam produksi pigmen, pestisida, dan *stainless steel*. Se juga banyak terdapat pada air limbah dari produksi yang banyak mengandung Se terlarut.

Se dalam kadar tinggi dapat bersifat toksik. Banyak dari senyawa Se yang sangat beracun, diantaranya menurut Lemly (2004) Se dalam bentuk oksianion terlarut seperti selenit dan selenate dapat bersifat mematikan untuk tanaman dan hewan. Menurut Notodarmojo (2005) toksisitas Se terbukti mempunyai efek pada manusia tepatnya pada sistem pencernaan, sistem pernafasan dan kulit. Selain itu, Se juga terbukti mempunyai efek karsinogenik pada manusia.

Proses geologis (alami) maupun aktivitas manusia seperti dalam bidang industri dapat menyebabkan timbulnya polusi Se (Triana dkk, 2010). Pembuangan limbah dari industri seperti penyamakan kulit, industri produksi kaca, industri

plastik, industri cat dan pigmen, kilang minyak dan pembangkit listrik merupakan sumber kontaminasi Se yang larut dalam air dan dapat masuk ke dalam perairan. Se yang dibuang ke lingkungan perairan akan menyebabkan efek yang berbahaya pada ekosistem karena mempunyai daya larut yang tinggi, mobilitas dan toksisitasnya, sehingga membuat selenium tersebut akan semakin mudah terbawa aliran air (Javed *et al*, 2015). Satu diantara beberapa peristiwa pencemaran Se ke perairan telah dilaporkan terjadi di waduk Caterson California pada tahun 1985 yang menyebabkan terjadinya cacat embrio dan kematian satwa liar yang diakibatkan oleh kontaminasi Se yang masuk ke saluran irigasi pertanian dan mengandung 300 mg/L Se (Wu, 2004).

Kimura *et al* (2014) mengatakan bahwa polusi dan kontaminasi Se pada habitat tanah dan air merupakan permasalahan global yang mempengaruhi kesehatan manusia dan lingkungan. Saat ini kandungan dan konsentrasi Se yang diperbolehkan berada di lingkungan tengah diregulasi di berbagai negara seperti Jepang, Amerika, Kanada, Inggris, dan Uni Eropa. Menurut EPA (*Environmental Protection Agency*) batas maksimum konsentrasi Se di perairan Lotik 3,1 $\mu\text{g/L}$. Hal ini berbeda jauh dengan konsentrasi Se di pantai Sendang Biru Kabupaten Malang Kabupaten Malang, dimana berdasarkan hasil uji pendahuluan diketahui bahwa konsentrasi yang terkandung pada sedimen berkisar 990-1.180 $\mu\text{g/L}$. Dari sini dapat diketahui bahwa pada tempat tersebut telah terkontaminasi selenium dalam kadar tinggi. Tingginya kadar Se di pantai tersebut diduga dikarenakan adanya pembuatan perahu nelayan pada pantai tersebut. Dalam proses pembuatan perahu menggunakan bahan industri seperti cat yang mengandung Se dan kemudian akan masuk ke perairan dan mengendap pada sedimen. Hal ini tentu

saja dapat mengkontaminasi biota yang ada pada lingkungan Pantai Sendang Biru. Selain itu, Sendang Biru merupakan pintu masuk kawasan konservasi Pulau Sempu yang harus tetap dijaga kelestariannya.

Berdasarkan uraian di atas, maka dapat diketahui bahwa adanya polusi dan kontaminasi selenium yang ada di lingkungan lebih banyak ditimbulkan oleh adanya produksi bahan-bahan industri oleh manusia yang menghasilkan buangan mengandung selenium yang telah bersifat racun untuk lingkungan. Timbulnya kerusakan alam atau lingkungan hidup merupakan akibat perbuatan manusia. Oleh karena itu sejak awal Allah SWT memperingatkan akan adanya akibat ulah manusia tersebut dalam firman Allah QS. Ar Ruum ayat 41 sebagai berikut:

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

Artinya: “Telah nampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebahagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar)”.

Menurut Shihab (2002) dalam Tafsir Al-Mishbah, kata *zhahara* pada mulanya berarti terjadinya sesuatu di permukaan bumi secara nampak dan terang serta diketahui dengan jelas. Kata *al-fasad* adalah keluarnya sesuatu dari keseimbangan, baik sedikit maupun banyak di daratan dan di lautan sehingga kekurangan manfaat. Laut tercemar sehingga biota mati dan hasil laut berkurang. Daratan semakin panas sehingga terjadi kemarau. Hal tersebut menyebabkan keseimbangan lingkungan terganggu. Secara tersurat ayat di atas menjelaskan bahwa adanya kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan

manusia agar manusia merasakan sebagian akibat perbuatan mereka sedangkan manusia merupakan khalifah di bumi. Dimana kekhalifahan menuntut manusia untuk memelihara, membimbing dan mengarahkan segala sesuatu agar mencapai tujuan penciptanya. Dengan kedudukannya sebagai khalifah, manusia diberi tanggung jawab besaryaitu disertai bumi ini beserta segala isinya demi kelestarian dan untuk keberlangsungan makhluk hidup.

Kontaminasi Se di perairan perlu ditangani dengan baik untuk mengurangi toksisitasnya. Beberapa metode dapat dilakukan untuk menangani toksisitas ini diantaranya dengan remediasi. Remediasi secara kimiawi polusi logam dan metaloid telah terbukti membutuhkan biaya tinggi dan hasilnya sering memiliki efek samping pada lingkungan, sehingga perlu ditemukan solusi yang lebih bersifat biologis untuk keberlangsungan. Solusi yang dapat dilakukan yakni dengan menggunakan bakteri sebagai agen bioremediasi terhadap polusi dan kontaminasi logam dan metaloid.

Bakteri dapat mengakumulasi logam seperti Se yang toksik menjadi lebih tidak berbahaya untuk lingkungan. Selain itu, menurut Ogle dan Knight (2009) bakteri adalah komponen penting dalam sistem perairan, baik dalam pengolahan bahan organik dan sebagai sumber makanan. Bakteri yang ada di perairan dapat mereduksi selenium oksianion toksik menjadi selenium elemental dan selenida. Serapan Se pada bakteri terbilang cepat, dan dapat berinkorporasi menjadi asam amino dan protein terjadi dalam 10 menit. Hal ini karena bakteri diduga merupakan vektor penting dalam proses pengambilan asam amino-seleno oleh organisme konsumen.

Penelitian mengenai pencarian bakteri yang memiliki kemampuan mengubah Se toksik menjadi tidak toksik yang diisolasi dari tanah dan perairan tawar telah banyak dilakukan diantaranya *Ralstonia metallidurans* CH34 yang dapat resisten terhadap selenit hingga 6 mM dan dapat mereduksi selenit menjadi unsur Se berwarna merah (Roux *et al*, 2001). *Pseudomonas stutzeri* dan *Pseudomonas fluorescens* memiliki kemampuan resisten selenat pada 5 mM dan 2 mM selenit (Ike *et al*, 2000). *Shewanella oneidensis* dapat beradaptasi pada 2 mM selenit (Klonowska dan Vermeglio, 2005). *Pseudomonas putida* KT2440 dapat mereduksi 1 mM selenit (Avendano *et al*, 2016). *Desulfovibrio dessulfuricans* memiliki tingkat toleransi tertinggi pada kondisi 10 mM selenat dan 0,1 Mm selenit (Tomei *et al*, 1995). Disisi lain, pemanfaatan bakteri yang diisolasi dari laut masih jarang ditemukan. Satu diantara bakteri yang diisolasi dari laut yaitu *Rhodobacter* sp. NKPB030619 (Yamada *et al*, 1997).

Oleh karena itu, penelitian ini difokuskan dalam upaya menemukan jenis bakteri resisten Se dan kemampuannya dalam mengakumulasi Se dari perairan pantai selatan Kabupaten Malang. Selain itu, penelitian terkait bakteri resisten Se yang diisolasi dari laut masih jarang dilakukan, sehingga diharapkan penelitian ini dapat menghasilkan temuan primer tentang bakteri resisten Se di perairan laut Indonesia.

1.1 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Jenis bakteri apa yang resisten terhadap selenium yang diisolasi dari Pantai Sendang Biru Kabupaten Malang ?.

2. Bagaimana kemampuan bakteri resisten selenium dalam mengakumulasi selenium yang diisolasi dari Pantai Sendang Biru Kabupaten Malang ?.

1.2 Tujuan

Tujuan dari dilakukannya penelitian ini adalah:

1. Mengetahui jenis bakteri yang resisten selenium yang diisolasi dari Pantai Sendang Biru Kabupaten Malang.
2. Mengetahui kemampuan bakteri resisten selenium dalam mengakumulasi selenium yang diisolasi dari Pantai Sendang Biru Kabupaten Malang.

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan di pantai Sendang Biru Kabupaten Malang.
2. Pemilihan stasiun pengambilan sampel berdasarkan perbedaan lokasi dan aktivitas kegiatan masyarakat yang ada disekitarnya.
3. Sampel sedimen berasal dari sedimen pantai Sendang Biru Kabupaten Malang pada kedalaman 50-100 cm.
4. Penelitian ini hanya mengidentifikasi bakteri yang resisten terhadap selenium dengan konsentrasi selenium tertinggi.
5. Konsentrasi natrium selenit dan natrium selenat yang digunakan pada uji resistensi yaitu 0 mM, 5 mM, dan 10 mM.

6. Teknik isolasi sampel menggunakan pengencer bertingkat dan inokulasi pada media agar dilanjutkan dengan cara dituang secara merata (*spread plate*).
7. Karakterisasi bakteri pengakumulasi ini digunakan untuk bioremediasi terhadap logam berat.
8. Penghitungan akumulasi selenium pada bakteri menggunakan SSA.
9. Media penanaman yang digunakan adalah *Basal Salt Medium* (BSM) dan *Standart Medium* (STD).
10. Identifikasi dilakukan secara makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia menggunakan *microbact*.

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengeksplorasi bakteri yang memiliki kemampuan dalam mengakumulasi selenium.
2. Memberikan informasi solusi penanggulangan pencemaran selenium dengan menggunakan bakteri sebagai agen bioremediasi lingkungan.
3. Secara teoritis penelitian ini dapat dijadikan referensi untuk penelitian berikutnya dan juga hasil penelitiannya juga dapat dikembangkan lebih lanjut.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Selenium

Selenium (Se) adalah unsur kimia semilogam yang menempati golongan 16 pada tabel periodik. Se ditemukan pertamakali oleh ahli kimia Swedia yaitu Jons Jacob Berzelius pada tahun 1817 (Ji dan Xu, 2016). Selenium berasal dari kata *selene* yang berarti bulan. Pemberian nama selenium digunakan untuk menghormati bulan yang merupakan dewa Bangsa Yunani (Miller, 2006). Keberadaan Se di alam terdiri dalam empat bilangan valensi (-2, 0, +4, dan +6). Oksidasi (+VI) terdapat dalam bentuk selenat (HSeO_4^- , SeO_4^{2-}) dan asam selenik (H_2SeO_4). Oksidasi (+IV) dalam bentuk selenit (HSeO_3^- , SeO_3^{2-}) dan asam seleno (H_2SeO_3). Oksidasi 0 dalam bentuk unsur selenium (Se^0), dan oksidasi (-II) dalam bentuk selenida (Se^{2-} , HSe^-), Hidrogen selenida (H_2Se) dan selenida organik (Buter *et al*, 2012).

Se terdapat dalam sejumlah bentuk anorganik dan organik. Selenida (Se^{2-}), selenat dan selenit (SeO_3^{2-}) merupakan bentuk anorganik dari Se (Johanson *et al*, 2005). Se organik dapat ditemukan berikatan dengan protein sebagai asam amino berbentuk selenometionin dan selenosistein (Dilaga, 1992). Keberadaan Se sebagai metaloid dapat berupa dua bentuk yang berbeda yaitu merah dan abu-abu yang disebut dengan alotrof. Selenium merah adalah amorf, padat seperti kaca, sementara selenium abu-abu lembut lunak, metal abu-abu kebiruan (Miller, 2006).

Selenium memiliki sifat fotovoltalik, yakni mengubah cahaya menjadi listrik, dan sifat fotokonduktif, yakni menunjukkan penurunan hambatan listrik

dengan meningkatnya cahaya dari luar (menjadi penghantar listrik ketika terkena cahaya dengan energi yang cukup). Oleh karena itu semakin kuat cahaya yang jatuh tepat di atas selenium maka semakin kuat Se menolak mengalirkan listrik. Karena alasan inilah selenium dapat digunakan pada perangkat yang dapat merespon cahaya seperti photoelektrik sel, alat foto copy, dan sel-sel elektrik solar. Selenium juga dapat mengubah arus bolak balik menjadi arus searah (Miller, 2006).

Selenium adalah zat alami dan unsur penting yang dibutuhkan untuk manusia, hewan dan beberapa tumbuhan. Secara khusus, Se diperlukan untuk memfungsikan protein struktural dan pertahanan sel melawan kerusakan oksidatif (Chapman *et al*, 2009). Selenium merupakan sebuah mikronutrient esensial yang terdapat pada sel tubuh manusia, dimana kemungkinan memiliki kemampuan untuk melawan penyakit jantung dan kanker, tetapi juga dapat bersifat toksik apabila berada dalam jumlah yang berlebih (Miller, 2006). Istilah mikronutrient esensial merujuk kepada unsur-unsur yang terdapat pada konsentrasi yang sangat rendah dalam suatu sistem. Mikronutrient adalah suatu unsur kimia yang terjadi hanya pada konsentrasi beberapa bagian per-sejuta (parts per-million) atau kurang. Mikronutrient yang sangat penting yang dapat ditemui dalam perairan alami diantaranya Cd, Ar, Br, Cu, Mn, Hg, dan Se (Achmad, 2004).

Berdasarkan penjelasan di atas diketahui bahwa kadar atau ukuran dari selenium yang berbeda akan menimbulkan dampak pada lingkungan yang berbeda pula. Ketentuan tentang adanya ukuran dalam segala hal telah Allah sampaikan dalam firman Allah Qs. Al Qaamar ayat 49 sebagai berikut:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿١٩﴾

Artinya : “*Sesungguhnya kami telah menciptakan segala sesuatu menurut ukurannya*”.

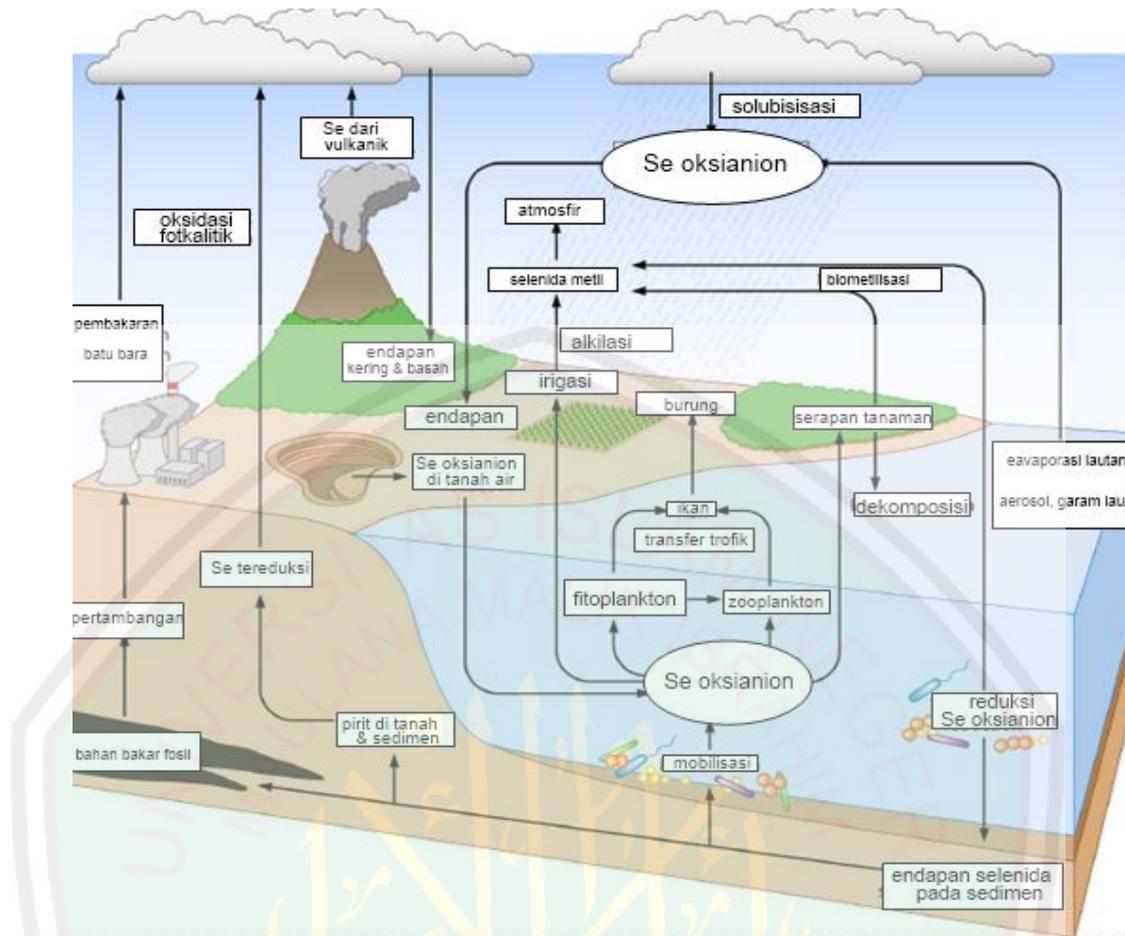
Allah SWT menciptakan segala sesuatu dan menentukan ukurannya sesuai ketetapan, ilmu pengetahuan dan suratan takdir-Nya. Jadi, semua yang terjadi di alam semesta pasti berdasarkan takdir Allah SWT (Muyasar, 2007). Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah telah menciptakan segala sesuatu dengan aturan yang pasti dan dengan ukuran yang tertentu bukan karena suatu kebetulan. Seperti halnya tentang keberadaan Se di alam yang jika dalam kadar yang cukup dibutuhkan tubuh namun kadar yang terlalu banyak akan bersifat toksik dan jika dalam jumlah yang terlalu sedikit akan mengakibatkan defisiensi.

Se dapat ditemukan pada banyak makanan seperti kacang-kacangan, makanan laut, hati, pasta gandum, biji bunga matahari, oatmeal, telur dan produk harian rendah lemak. Selenium dalam jumlah banyak dapat bersifat karsinogenik dan juga dapat menyebabkan cacat lahir. Defisiensi selenium telah berhubungan ke sindrom kematian bayi mendadak. Banyak senyawa selenium yang sangat beracun diantaranya selenat dan selenit (Miller, 2006).

Se ditemukan di seluruh lingkungan alam termasuk bebatuan, tanah air, dan atmosfer. Persebaran Se dilepaskan oleh sumber-sumber yang kaya akan kandungan Se seperti batu bara, serpihan hitam kaya organik, dan batuan fosfat sebagai logam selenida mineral dalam fase mineral di batu dan sedimen melalui siklus biogeokimia yang kompleks. Hingga saat ini Se tidak tersebar rata di seluruh permukaan bumi. Keberadaan selenium terbesar di bumi dapat ditemukan pada biji sulfida, pirit, dan batu bara yang kaya akan sulfur. Sumber geologi dan

antropogenik Se melepaskan Se ke lingkungan sebagai selenat (SeO_4^{2-}) sebagaimana yang terlihat pada (Gambar 2.1). Se merupakan elemen penting yang diasimilasi dari selenat dan selenit oleh mikroba dan tanaman di dasar jaring-jaring makanan dan kemudian terbawa oleh hewan tingkat atasnya. Se kemudian diasimilasi ke organoselenida (selenoprotein) pada organisme hidup. Dekomposisi organisme yang telah mati kemudian melepaskan kembali organoselenida ke lingkungan. Pengerjaan pertambangan, pembakaran bahan bakar fosil, pertanian, erupsi vulkanik, pengerjaan siklus bahan bakar nuklir melepaskan Se ke atmosfer, sedangkan tanah dan air dalam bentuk terlarut (selenat dan selenit). Mikroorganisme memainkan peran kunci dalam siklus senyawa Se di alam dengan mereduksi Se oksianion menjadi unsur Se ataupun Se yang mudah menguap dengan memetilasi Se menjadi dimetil selenida (Dumont, 2006; Nancharaiyah dan Lens, 2015).

Di permukaan perairan, selenida dan sodium selenat predominan. Selenat adalah bentuk yang dominan di permukaan air laut Indian, sedangkan konsentrasi selenit meningkat seiring dengan kedalaman laut. Se hadir di air tawar terutama sebagai selenat dan selenit. Selenit mudah teradsorpsi pada padatan tersuspensi. Selenida dan selenat sangat mudah larut dan mobil. Se juga dapat hadir sebagai bentuk organik yang mudah teroksidasi dan menguap yang produksinya disukai oleh mikroorganisme dan mikroalga (Dumont, 2006; Mehdi *et al*, 2013).



Gambar 2.1 Siklus selenium secara global di alam (Nancharaiyah dan Lens, 2015)

Kontaminasi selenium secara alami dapat berasal dari pelapukan tanah yang mengandung banyak Se (seleniferous) dan bebatuan. Pada kebanyakan tanah, konsentrasi Se sangat rendah yakni pada kisaran 0,001 hingga 2 mg/kg. Bagaimanapun, pada tanah seleniferous konsentrasi Se mencapai 1.200 mg/kg. Di perairan alami, konsentrasi Se terlarut telah dilaporkan pada kisaran <0,1-100 µg/L meskipun air tanah dengan konsentrasi Se yang tinggi telah dilaporkan dengan konsentrasi 275 µg/L pada ekuifer seleniferous di China mencapai 1.000 µg/L di Montana. Konsentrasi Se yang tinggi mencapai 2.000 µg/L telah ditemukan di beberapa perairan danau (Fordyce, 2013).

Se juga ditemukan di air. Se berasal dari endapan atmosfer atau drainase tanah dan sub tanah yang secara alami kaya akan Se. Konsentrasi Se di air bervariasi dari hanya beberapa sampai beberapa ratus mg/L. Dalam kebanyakan kasus Se tidak melebihi 10 mg/L. Konsentrasi di air laut bervariasi mulai dari 0,04 g/L sampai 0,12 g/L. Konsentrasi Se di air tanah berkisar 0,12 µg/L di Brussels (Belgia). Di Perancis bervariasi mulai dari 2,4 sampai 40,5 µg/L menurut area-areaanya. Di air minum konsentrasinya adalah 10µg/L. Konsentrasi tersebut adalah batas bawah yang direkomendasikan oleh organisasi kesehatan dunia (WHO). Dalam kebanyakan kasus, konsentrasi tinggi oleh suplementasi lahan pertanian dengan pupuk mengandung selenium (Mehdi *et al*, 2013).

2.1.1 Polusi dan Toksisitas Selenium

Polusi selenium secara antropogeni dihasilkan dari limbah pertambangan, pemurnian logam, gas buangan, dan aktivitas industri lainnya. Beberapa kasus telah ditemukan tentang adanya kontaminasi Se di perairan. Sebagaimana yang telah terjadi di waduk suakamargasatwa Cesterson California telah tercatat tingginya tingkat cacat embrio dan kematian satwa liar yang diakibatkan kontaminasi Se yang masuk dari saluran irigasi pertanian mengandung 300 mg/L Se yang berkontak langsung dengan tanah seleniferous pada tahun 1983-1985 (Wu, 2004). Aktifitas pertambangan fosfat yang berlebihan di daerah aliran sungai Blackfoot di Idaho telah meningkatkan kandungan Se di sungai secara substantial. Hal ini tentu saja akan berakibat buruk pada lingkungan dan makhluk hidup yang ada di sekitarnya (Nancharaiah dan Lens, 2015).

Jumlah logam dalam lingkungan dipengaruhi oleh aktivitas manusia. Aktivitas manusia dapat menghasilkan limbah yang mencemari lingkungan dan dapat merugikan manusia, makhluk hidup dan lingkungannya. Allah SWT telah menciptakan unsur logam berat dengan kadar seimbang di alam. Seperti telah tercantum dalam surat Al Mulq ayat 3:

الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ طِبَاقًا مَّا تَرَىٰ فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِن تَفْوُتٍ ۗ
فَآرْجِعِ الْبَصَرَ هَلْ تَرَىٰ مِن فُطُورٍ ﴿٣﴾

Artinya: “Yang telah menciptakan tujuh langit berlapis-lapis. Kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan Yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang. Maka lihatlah berulang-ulang, adakah kamu lihat sesuatu yang tidak seimbang.”

Kata “tidak seimbang” pada ayat tersebut mulanya berarti kejauhan dua hal yang berjauhan mengesankan ketidakserasian atau ketidakseimbangan. Allah SWT menciptakan langit bahkan seluruh makhluk dalam keadaan seimbang sebagai rahmat, karena seandainya ciptaanNya tidak seimbang maka tentulah akan terjadi kekacauan antara yang satu dengan yang lainnya (Shihab, 2002). Konteks ketidakseimbangan dalam hal ini yaitu jumlah konsentrasi selenium. Selenium dalam kadar yang seimbang atau tidak melebihi standar bersifat alami namun dalam jumlah yang tak seimbang dapat mengakibatkan kekacauan seperti penyakit defisiensi dan kerusakan lingkungan. Kekacauan yang telah terjadi akan mengganggu kenyamanan hidup manusia di muka bumi ini, salah satu peristiwa ketidakseimbangan tersebut adalah yang terjadi di waduk suakamargasatwa Cesterson California.

Selenium adalah suatu unsur khas yang bersifat toksik pada tingkat asupan tinggi dan menyebabkan gejala defisiensi bila asupan terlalu rendah. Kelebihan

asupan Se akan berdampak buruk pada kesehatan yaitu menimbulkan kondisi yang disebut selenosis. Selenosis akan timbul pada penduduk di daerah yang mengandung Se kadar tinggi dalam tanah (> 84 mg) dan juga bila asupan per hari melebihi $400 \mu\text{g}$ Se. Gejala-gejala selenosis diantaranya yaitu kerontokan rambut, kuku lepas, bercak-bercak putih pada kuku, nafas bau bawang putih, kelelahan, iritabilitas, dan kerusakan syaraf ringan (Dumont, 2006). Walaupun mekanismee toksisitas Se masih belum jelas, ada dua proses yang menghasilkan radikal bebas dan menginduksi stres oksidatif, prooksidan efek dan proses berdasarkan formasi metil selenida (Bodnar *et al*, 2012). Paparan Se yang berlebihan pada manusia pernah terjadi di Cina selain di beberapa daerah terisolasi di Amerika. Paparan yang berlebihan pada hewan akan menyebabkan efek buruk yang lebih berat termasuk perlambatan pertumbuhan, nekrosis hati, pembesaran limpa dan pankreas, anemia, dan berbagai kelainan pada fungsi reproduksi (Lu, 2010). Gejala keracunan Se akut dihubungkan dengan asupan sangat tinggi, antara 3200 - $6700 \mu\text{g}/\text{hari}$, sedangkan batas maksimal perhari pada orang dewasa hanya mencapai $400 \mu\text{g}/\text{hari}$ (Tabel 2.1).

Tabel 2.1 Batas maksimal asupan Se/ hari yang masih dapat ditoleransi tubuh (Kusmana, 2017)

Usia	Pria	Wanita	Hamil	Menyusui
0-6 bulan	$45 \mu\text{g}$	$45 \mu\text{g}$		
7-12 bulan	$60 \mu\text{g}$	$60 \mu\text{g}$		
1-3 tahun	$90 \mu\text{g}$	$90 \mu\text{g}$		
4-8 tahun	$150 \mu\text{g}$	$150 \mu\text{g}$		
9-13 tahun	$280 \mu\text{g}$	$280 \mu\text{g}$		
14-18 tahun	$400 \mu\text{g}$	$400 \mu\text{g}$	$400 \mu\text{g}$	$400 \mu\text{g}$
>19 tahun	$400 \mu\text{g}$	$400 \mu\text{g}$	$400 \mu\text{g}$	$400 \mu\text{g}$

*ASI, susu formula, dan makanan harus menjadi satu-satunya sumber selenium bayi

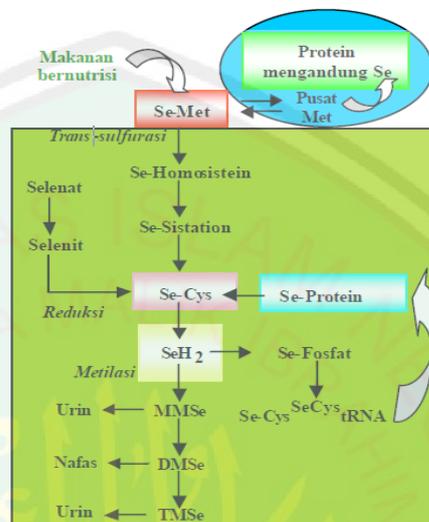
Se terbukti mempunyai efek pada manusia tepatnya pada sistem pernafasan dan mempunyai efek karsinogenik (Notodarmojo, 2005). Selain itu terdapat pula beberapa jaringan target toksisitas Se pada sistemik lainnya menurut Soemirat (2009) yaitu pada sistem genito urinaria, sistem gastero interestrial, dan kulit. William (1985) menambahkan bahwa Se merupakan logam non radioaktif penyebab tumor pada manusia dan hewan percobaan atas dasar portal entri dan jenis tumor, Se portal entri yaitu secara oral dan jenis tumor yang dihasilkan hepatoma, sarcoma, adenoma tiroid.

2.1.2 Metabolisme Selenium Pada Manusia

Selenium adalah suatu mikromineral esensial yang mempunyai selang dosis kebutuhan dan keracunan yang tidak jauh terpisah. Sampai tahun 1969 Se menarik perhatian terutama karena menyebabkan penyakit yang disebut *blind stiggers* dan *alkaki disease* pada sapi dan domba, di daerah yang kaya akan selenium (seleniferous) dimana banyak tanaman banyak mengandung Se. Se penting untuk metabolisme manusia dan hewan, dikatakan demikian karena setelah ditemukannya enzim yang memerlukan Se untuk aktivitasnya yaitu peroksidasi glutathion yang distribusinya luas dalam tubuh selain itu juga terdapat bukti bahwa Se berperan dalam melawan kanker tertentu (Linder, 2010).

Metabolisme Se dimulai dari selenometionin yang berasal dari asupan makanan dapat dimetabolisme menjadi selenosistein, diubah langsung menjadi monometilseleno dengan bantuan enzim β -liase atau dapat masuk ke pusat metionin lalu bergabung dengan protein tubuh (Gambar 2.2). Metabolisme selenometionin menjadi selenosistein terjadi melalui beberapa tahap reaksi.

Pertama, selenosmetionin mengalami pemindahan gugus sulfur (trans sulfuration) menjadi Se-Homosistein, lalu diubah menjadi Se-sistation dan dikonversi lagi menjadi selesistein. Enzim β -liase akan mengubah selenosistein menjadi hidrogen selenida, yang kemudian akan termetilasi seperti proses diatas (Prasetyo, 2006).



Gambar 2.2 Metabolisme selenium pada manusia (Prasetyo, 2006)

Hidrogen selenida selain mengalami proses metilasi juga dapat masuk ke proses translasi. Proses diawali dengan perubahan hidrogen selenida menjadi selenofosfat yang kemudian bergabung dengan tRNA dan akhirnya membentuk selenoprotein (Dodig, 2004).

2.2 Bioremediasi

Bioremediasi adalah penggunaan agen-agen biologik untuk menetralkan tanah dan air tercemar menjadi zat-zat yang tidak berbahaya bagi lingkungan atau kesehatan manusia (Waluyo, 2009). Agen-agen biologik yang dapat digunakan untuk pemulihan lingkungan yaitu menurut Yajid (2007) seperti tanaman dan mikroorganisme. Bioremediasi dapat digunakan sebagai metode alternatif yang

dapat digunakan untuk penanggulangan limbah logam berat. Bioremediasi memiliki nilai ekonomis lebih tinggi bila dibandingkan proses fisika dan kimia. Mikroorganisme seperti bakteri, fungi dan alga dapat hidup di daerah tercemar logam berat dan dapat menyerap, menyimpan, mendetoksifikasi atau menghilangkan logam berat. Proses penyerapan logam berat secara umum oleh mikroorganisme disebut biosorpsi. Biosorpsi logam berat oleh mikroorganisme dapat terjadi melalui dua proses, yaitu secara pasif (adsorpsi) dan secara aktif (absorpsi).

Bioremediasi merupakan penggunaan mikroorganisme yang telah dipilih untuk ditumbuhkan pada polutan tertentu sebagai upaya untuk menurunkan kadar polutan tersebut. Pada saat proses bioremediasi berlangsung, enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme memodifikasi struktur polutan beracun menjadi tidak kompleks sehingga menjadi metabolit yang tidak beracun dan berbahaya (Priadie, 2012). Beberapa keunggulan bioremediasi menggunakan mikroba diantaranya memiliki periode hidup yang relatif singkat, dapat diproduksi dalam jumlah yang besar dalam waktu yang singkat, aktivitas atau kinerjanya dapat diatur, hal disebabkan karena mikroba lebih sensitif terhadap keberadaan ion logam berat di lingkungan (Yajid, 2007).

Berdasarkan lokasinya secara umum teknik bioremediasi terbagi dua yaitu *in situ* (*on-site*), dapat dilakukan langsung di lokasi tanah tercemar dan *ex situ* (*off-site*) yaitu tanah tercemar digali dan dipindahkan ke dalam penampungan yang lebih terkontrol. Lalu diberi perlakuan khusus dengan memakai mikroba (Suryani, 2011). Bioremediasi *in situ* disebut juga bioremediasi dasar atau *natural attenuation*. Teknik ini terdiri dari biostimulating, bioaugmentasi dan

bioasparing. Menurut Munawar (2012) Bioaugmenasi yaitu bioremediasi yang dilaksanakan dengan menggunakan mikroba khusus yang didatangkan dari tempat lain dan umumnya disertai dengan penambahan enzim. Biostimulating yaitu bioremediasi dilakukan dengan mengandalkan mikroba asli tanah yang distimulasi metabolismenya. Vidali (2001) *bioasparing* merupakan teknik bioremediasi dengan menambahkan injeksi udara dibawah tekanan ke dalam air sehingga dapat meningkatkan konsentrasi oksigen dan kecepatan degradasi.

Bioremediasi *ex situ* yakni dimana pencemar dan media tercemarnya dipindahkan dari tempat aslinya ke tempat lain dimana proses bioremediasi dapat dilakukan. Menurut Vidali (2001) teknik yang sering digunakan yaitu bioreaktor yaitu dengan menggunakan aquaeous reaktor pada tanah atau air yang terkontaminasi.

Bioremediasi berlangsung akibat aktivitas enzim yang disuplai oleh mikroorganisme untuk mengkatalis degradasi bahan-bahan kontaminan. Reaksi kimia tersebut merupakan reaksi oksidasi-reduksi yang penting untuk menghasilkan energi bagi mikroorganisme. Bioremediasi membutuhkan kehadiran sumber energi yang sesuai, sistem donor-akseptor elektron dan nutrisi (Munawar, 2012).

Faktor-faktor yang mempengaruhi optimalisasi proses bioremediasi meliputi adanya populasi mikroba yang mampu menurunkan polutan, keberadaan kontaminan terhadap populasi mikroba, faktor-faktor lingkungan (jenis tanah, suhu, pH, adanya oksigen atau akseptor elektron lainnya, dan nutrisi) (Vidali, 2001).

Bioakumulasi logam berat pada organisme hidup dideskripsikan sebagai suatu proses dan jalur migrasi polutan dari suatu level trofik ke level lainnya, termasuk melalui rantai makanan sehingga dapat terakumulasi pada level tertentu. Bioakumulasi oleh mikroorganisme dapat juga diartikan sebagai interaksi aktif antara logam berat dengan sel mikroorganisme dimana ion logam akan berperan ke dalam sel-sel mikroorganisme tersebut (Chipasa, 2003). Keberadaan logam berat berbeda pada setiap level trofik di dalam suatu ekosistem tergantung pada karakteristik bioakumulasi logam yang teronsentrasi. Bioakumulasi logam berat terjadi secara aktif dan dikendalikan secara metabolik oleh organisme. Sedangkan bioavailabilitas logam berat, akumulasi dan toksisitasnya tergantung pada variabel-variabel yang terdapat di lingkungan (Arunakumara *et al*, 2008).

Serapan Se terlarut pada hewan cenderung lebih lambat sehingga jika dalam kondisi yang sesuai dengan lingkungannya Se terlarut pada badan air akan memberikan sedikit atau tidak ada kontribusi langsung terhadap bioakumulasi Se oleh hewan (Ogle dan Knight, 1996). Bioakumulasi Se pada organisme perairan terjadi pada proses pencernaan makanan organisme tersebut. Bioakumulasi dan transfer melalui jaring-jaring makanan di perairan adalah jalur biogeokimia utama Se dalam ekosistem perairan. Se oksianion terlarut (selenat dan selenit) dan selenida organik berasimilasi ke dalam jaringan produsen pertama pada perairan (organisme trofik 1), seperti periphyton, fitoplankton, dan makrofag vaskular. Se oksianion tersebut kemudian mengalami biotransformasi menjadi organoselenium pada organisme hidup. Organisme ini bersama dengan sumber Se terikat partikel lainnya merupakan fraksi Se partikulat di perairan. Se dari fraksi partikulat ini kemudian ditransfer ke konsumen primer perairan seperti zooplankton, larva

serangga, larva ikan dan bivalvia (organisme trofik tingkat 2), dan kemudian menuju ke predator seperti ikan dan burung (trofik tingkat 3 dan selebihnya). Selain konsentrasi Se di perairan, proses bioakumulasi Se dalam kehidupan akuatik berbeda pada sistem air tawar tergantung pada beberapa faktor yang spesifik untuk setiap sistem perairan. Faktor-faktor ini termasuk waktu tinggal air, distribusi Se antara partikulat dengan bentuk terlarut, bioakumulasi pada mangsa (organisme tingkat bawah), dan perpindahan trofik ke predator (Nancharaiah dan Lens, 2015).

2.2.1 Pemanfaatan Bakteri dalam Bioremediasi Se

Makhluk hidup yang toleran terhadap logam berat mungkin mengandung logam dengan kepekatannya dua atau tiga kali lebih besar daripada normal. Bakteri resisten terhadap logam berat memiliki mekanisme untuk bertahan hidup antara lain berupa proses bioakumulasi, biopresipitasi, metilasi dan bioreduksi (Yajid, 2007).

Anggota dari domain Archaea dan bakteria dapat menggunakan selenium oksianion (SeO_4^{2-} dan SeO_3^{2-}) sebagai akseptor terminal eletron dan mereduksi selenat dan selenit larut menjadi unsur selenium tidak larut melalui reduksi dissimilatori dibawah kondisi anaerob. Dibawah kondisi aerobik atau microaerofilik selenium oksianion juga dapat direduksi menjadi selenium elemental menggunakan berbagai strain bakteri, melalui dertoksifikasi atau homeostasis redok pada bakteri fototropik, namun kali ini tidak akan dijelaskan lebih lanjut. Unsur selenium dapat dikurangi secara mikrobiologis lebih lanjut menjadi selenida terlarut, yang dikombinasikan dengan ion logam membentuk

selenida logam yang tidak larut. Selenida juga dapat dipancarkan sebagai H_2Se yang mudah menguap dan sangat reaktif, namun hal ini secara spontan dan cepat teroksidasi menjadi unsur selenium dengan adanya oksigen. Transformasi mikroba pereduksi selenium pada siklus Se mengubah Se oksianion beracun (Se_4^{2-} dan Se_3^{2-}) yang larut dalam air menjadi selenida atau Se elemen yang sedikit larut. Hal ini merupakan dasar yang menjanjikan untuk dilakukannya bioremediasi terhadap kontaminasi selenium di perairan (Nancharaiyah, 2015).

Organisme pengakumulasi selenium dapat mengakumulasi Se melalui proses metilasi dan transformasi Se menjadi bentuk yang non-toksik yaitu asam amino seleno seperti methyl asam selenik (MSA) dan metil selenocysteine (MSC). Senyawa-senyawa tersebut merupakan bentuk dominan senyawa Se yang disimpan dan hanya dihasilkan oleh organisme pengakumulasi Se. Oleh karena itu, akumulasi senyawa tersebut dianggap merupakan dasar toleransi resisten terhadap toksisitas selenium. Sementara pada organisme yang bukan pengakumulasi selenium, Se diserap dan diinkorporasikan secara nonspesifik ke dalam senyawa organiknya yang mengandung sulfur. Hal ini berkontribusi terhadap toksisitas Se pada organisme tersebut. Oleh karena itu, organisme pengakumulasi selenium yang mampu mengubah selenium toksik menjadi Se non-toksik dapat dimanfaatkan untuk bioremediasi lingkungan (Triana dkk, 2010).

Dalam beberapa dekade ini telah banyak ditemukannya bakteri yang memiliki kemampuan mengubah selenium beracun menjadi elemen selenium yang tidak berbahaya untuk makhluk hidup maupun lingkungan. Satu diantaranya yaitu *Pseudomonas stutzeri* dan *Pseudomonas fluorescens* yang diisolasi dari lingkungan yang tidak terjadi pencemaran Se memiliki kemampuan mereduksi

hingga 5 mM selenat menjadi selenit dalam kondisi anaerob dalam waktu 7 hari. Aktivitas reduksi selenit oleh bakteri ini tidak efisien jika dibandingkan dengan aktivitas reduksi selenat karena hanya dapat mereduksi selenit sebesar 2 mM (Ike *et al*, 2000). Aktifitas bakteri di atas jauh lebih rendah dibandingkan dengan bakteri pereduksi selenat lain yang diisolasi dari lingkungan yang kaya akan polusi Se, misalnya *Bacillus* sp. strain SF-1 yang telah diisolasi dari sedimen saluran pembuangan pabrik pengolahan kaca yang tercemar Se yang dilakukan oleh Fujita *et al* (1997) dapat mereduksi 5 mM selenat selama 24 jam dan 20 mM selama 40 jam dibawah kondisi penanaman yang serupa. Klowonska *et al* (2006) menambahkan bahwa seperti halnya bakteri anaerob lainnya kemampuan *Shewanella oneidensis* dalam mereduksi telurit dan selenit dipengaruhi oleh adanya oksigen. *Shewanella oneidensis* dapat mereduksi 2 mM selenit, namun jika terdapat oksigen dalam aktivitasnya dapat terhambat dan menurunkan kemampuan bakteri tersebut dalam mereduksi selenit.

Bacillus sp. strain SF-11 yang telah diisolasi dari sedimen yang terkontaminasi Se dari limbah industri. Bakteri tersebut dapat mereduksi selenat menjadi selenit dan setelah itu menjadi Se elemen nontoksik dan tak larut menggunakan laktat sebagai donor elektron dan selenat sebagai elektron akseptor pada kondisi anaerob. Unsur Se yang ditransformasi dari Se terlarut diendapkan baik di dalam maupun di luar sel. Selenit terakumulasi sementara karena laju reduksi selenat dari strain SF-1 lebih tinggi dari pada laju reduksi selenit. Pada penelitian ini reduksi Se terlarut diulangi menggunakan strain SF-1 dengan 0,5 mM selenat secara berturut-turut (Kashiwa *et al*, 2001).

Ralstonia metallidurans CH34 (dahulu *Alcaligenes eutropjus* CH34) adalah bakteri tanah yang terkontaminasi logam. Bakteri tersebut dapat resisten terhadap selenit hingga 6 mM dan dapat mereduksi selenit menjadi unsur Se merah. Adaptasi terhadap cekaman selenit pada periode fase lag. Pada dasarnya Se terakumulasi di sitoplasma sel sebagaimana yang terlihat pada mikroskop elektron dan analisis energi X-ray. Bakteri ini memiliki kemampuan resisten paling tinggi dibandingkan *Rhodobacter sphaeroides*, *Rhodospirillum rubrum* dan *Bacillus subtilis* dengan kisaran sekitar 2-5 mM tergantung kondisi pertumbuhannya (Roux *et al*, 2001).

Bacillus subtilis, *Exiguobacterium* sp., *Bacillus licheniformis*, dan *Pseudomonas pseudoalcaligenes* adalah contoh lain dari bakteri yang memiliki kemampuan dalam mereduksi selenit. Reduksi Se meningkat seiring dengan meningkatnya pH. Semua bakteri tersebut dibiakan pada konsentrasi yang sama (200, 400, dan 600 µg/ml) dan mempunyai kemampuan mereduksi selenit. Tingkat reduksi selenit menurun pada konsentrasi awal yang tinggi yaitu 600 µg/ml. Dengan meningkatnya konsentrasi maka reduksi selenit menurun. Reduksi selenit maksimum terjadi pada *B. licheniformis* dan *B. subtilis* pada konsentrasi awal selenit terendah. *B. licheniformis* mereduksi sekitar 90% pada konsentrasi 400 µg/ml, sedangkan *B. subtilis* sekitar 85% dari konsentrasi awal selenit 200 g/ml. Berbeda jauh dengan *Exiguobacterium* sp. dan *Pseudomonas pseudoalcaligenes* yang hanya memiliki kemampuan mereduksi 20-60% setelah 48 jam inkubasi pada suhu 37°C (Javed *et al*, 2016).

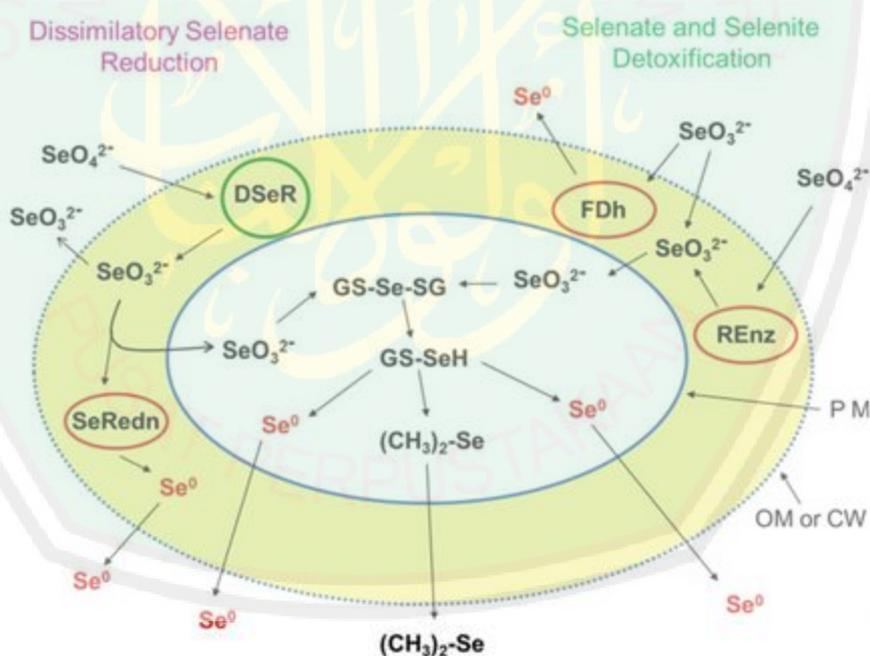
Pedicoccus acidilaciti pada perlakuan 6,3 dan 50,6 µM dapat mengakumulasi 1,7 dan 18,3 µM Se (Khousa *et al*, 2017). Pada *Bifidobacterium*

animalis 01 persentase akumulasi menurun mengikuti konsentrasi perlakuan natrium selenit pada media. Persentase perlakuan tertinggi yaitu 39,6% dari perlakuan 0,03 μM dan persentase terendah sebesar 16,7% dari perlakuan 0,12 μM (Zhang *et al*, 2009). Bakteri lain yang dapat mengakumulasi selenium adalah *Enterococcus durans* yang mana pada konsentrasi perlakuan pada media yakni 189, 379,7, 759,4, 1518,9 memiliki persentase akumulasi selenium secara berurutan 2,7%, 5,07%, 5,685, dan 4,285 (Pieniz *et al*, 2017).

Anggota dari domain Archaea dan bakteria dapat menggunakan selenium oksianion (SeO_4^{2-} dan SeO_3^{2-}) sebagai akseptor terminal eletron dan mereduksi selenat dan selenit larut menjadi selenium unsur tidak larut melalui reduksi dissimilatori dibawah kondisi anaerob. Dibawah kondisi aerobik atau microaerofilik selenium oksianion juga dapat direduksi menjadi selenium elemental menggunakan berbagai strain bakteri, melalui detoksifikasi atau homeostasis redok pada bakteri fototropik, namun kali ini tidak akan dijelaskan lebih lanjut. Unsur selenium dapat dikurangi secara mikrobiologis lebih lanjut menjadi selenida terlarut, yang dikombinasikan dengan ion logam membentuk selenida logam yang tidak larut. Selenida juga dapat dipancarkan sebagai H_2Se yang mudah menguap dan sangat reaktif, namun hal ini secara spontan dan cepat teroksidasi menjadi unsur selenium dengan adanya oksigen. Transformasi mikroba pereduksi selenium pada siklus Se, mengubah Se oksianion beracun (Se_4^{2-} dan Se_3^{2-}) yang larut dalam air menjadi selenida atau Se elemen yang sedikit larut. Hal ini merupakan dasar yang menjanjikan untuk dilakukannya bioremediasi terhadap kontaminasi selenium di perairan (Nancharaiah dan Lens, 2015).

2.2.2 Mekanisme Bakteri Resisten-Se

Mekanisme resistensi Se dapat melalui reduksi selenit dan selenat oleh bakteri yang dapat melalui sistem asimilasi reduksi selenit dan proses detoksifikasi (Gambar 2.3). Pada saat ini, paparan *Rastolnia metalidurans* CH34 terhadap selenit pada awalnya menghasilkan serapan selenit yang lambat dengan jumlah selenida alkil dan selenium selenium yang serupa diproduksi namun dengan terus terpapar selenite, akan menghasilkan Se elemental dalam jumlah tinggi. Jalur selenium tambahan adalah reduksi selenat dan selenit menjadi Se elemental tanpa aliran elektron ke membran plasma sehingga reaksi tidak memberi energi pada pertumbuhan bakteri. Fungsi reaksi ini untuk detoksifikasi (Van, 2017).



Gambar 2.3 Model reaksi detoksifikasi selenium dan reduksi dissimilatori selenat pada bakteri. Penandaan sebagai berikut: *CW* dinding sel; $(CH_3)_2-Se$ dimethyl selenida; *DseR* dissimilatori selenat reduktase; *FDh* fumarat reduktase; *GS-Se-SG* selenodiglutation; *GS-SeH* selenoglutation; *OM* membran luar; *PM* membran plasma; *REnz* enzimatik reduktase; *SeRedn* selenit reduktase (Van, 2017).

Mekanisme detoksifikasi selenium terjadi ketika bakteri terpapar selenium dalam bentuk SeO_3^{2-} dan SeO_4^{2-} . Pada membran luar bakteri SeO_3^{2-} akan melalui dua jalur mekanisme yang berbeda. Pertama, SeO_3^{2-} akan langsung direduksi oleh FDh menjadi Se^0 dan dikeluarkan dari tubuh mikroorganisme. Selain itu, SeO_3^{2-} dapat langsung melalui membran luar menuju membran plasma dan berinkorporasi menjadi protein GS-Se-SG (selenodiglutation) yang kemudian akan diubah menjadi GS-SeH dan dikonversi lagi lalu dikeluarkan dari sel menjadi $(\text{CH}_3)_2\text{-Se}$ (dimethyl selenida) atau melalui jalur lain sebagai selenium elemental. Mekanisme serupa juga terjadi dengan detoksifikasi selenat namun ketika di membran luar selenat harus diubah dahulu menjadi selenit dengan bantuan enzim reduktase (Van, 2017).

Pada dissimilatori selenat mekanisme yang terjadi hampir sama dengan mekanisme detoksifikasi. Dimana SeO_4^{2-} akan diubah menjadi SeO_3^{2-} dengan bantuan DseR kemudian SeO_3^{2-} akan dikeluarkan dari membran dengan bantuan SeRedn menjadi Se^0 atau SeO_3^{2-} masuk ke dalam plasma sel dan berinkorporasi menjadi asam amino dan protein (Van, 2017).

2.3 Sendang Biru

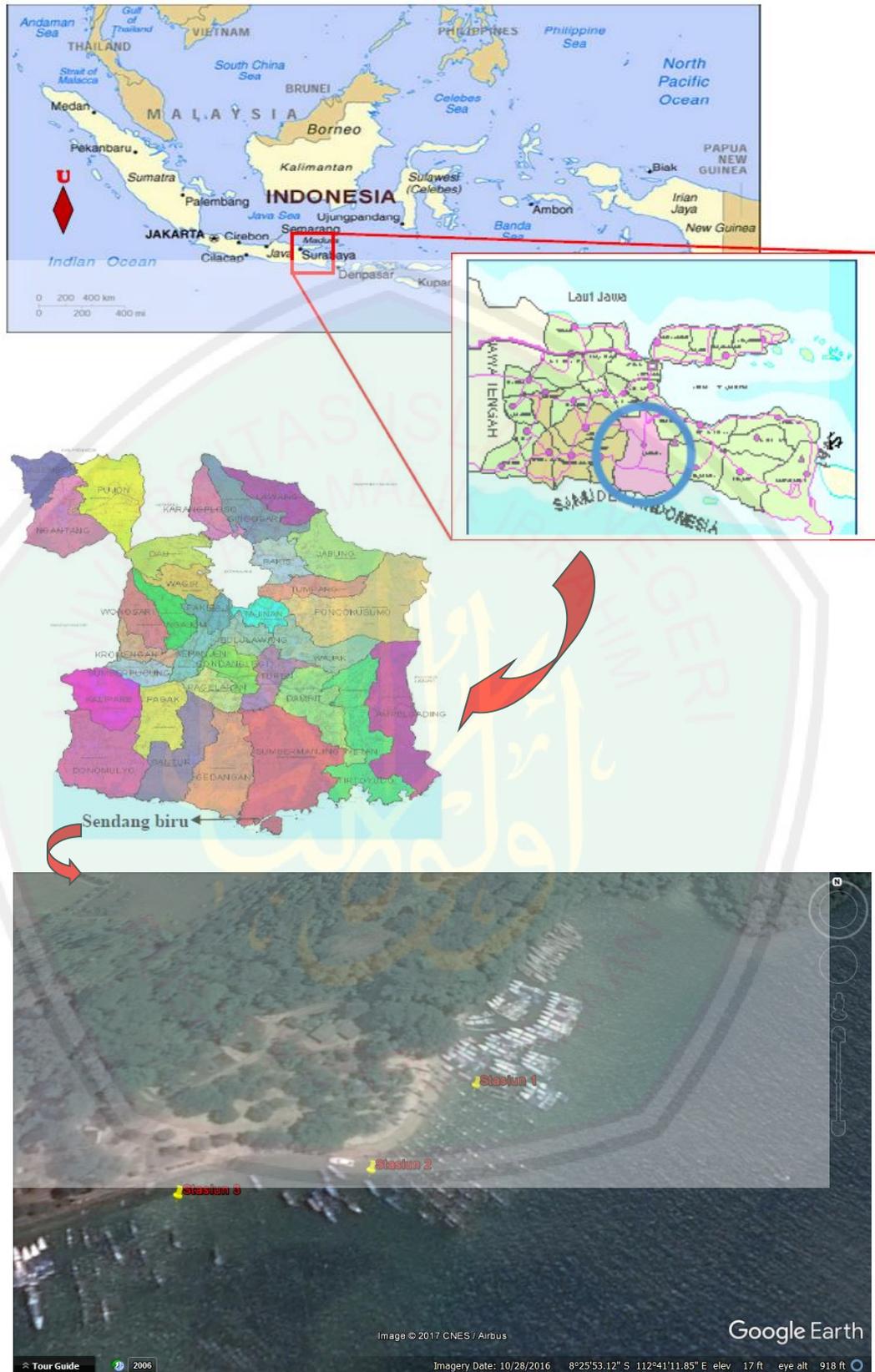
Sendang Biru terletak pada kordinat $8^{\circ}26'-8^{\circ}30'$ Lintang Selatan dan $112^{\circ}38'-112^{\circ}43'$ Bujur Timur (Arifin, 2006). Berada 30 Km bagian selatan Malang Pantai Sendang Biru yang terletak di wilayah Kabupaten Malang, tepatnya di Desa Tambakrejo Kecamatan Sumbermanjing Wetan memiliki potensi sumberdaya perairan yang perlu dikembangkan seperti ekosistem pantai, hutan bakau, danau, berbagai macam ikan dan terumbu karang yang belum diketahui

oleh banyak orang, dan berbagai kegiatan sosial ekonomi seperti Tempat Pelelangan Ikan (TPI), pelabuhan dan tempat pariwisata (Handartoputra dkk, 2015).

Sendang Biru terletak di wilayah pesisir pantai selatan. Wilayah pesisir menurut Lawrence (1998) didefinisikan sebagai wilayah peralihan antara daratan dengan laut yang mencakup perairan pantai daerah pasang surut (pantai diantara batas pasang surut dan pasang naik) dan tanah daratan dimana habitat dan jenis binatangnya beradaptasi secara khusus terhadap lingkungan yang unik.

Pantai Sendang Biru juga dikenal sebagai tempat pendaratan dan pelelangan ikan di Malang. Dinamakan pantai Sendang Biru karena di pantai ini terdapat sumber mata air yang biasa disebut sebagai sendang, dan berwarna biru. Pantai ini merupakan tempat penyebrangan untuk ke pulau Sempu. Dengan adanya pulau Sempu ini membuat pantai Sendang Biru memiliki ombak yang tidak terlalu besar seperti pantai laut selatan lainnya (Malangkab, 2017).

Pantai Sendang Biru berada di wilayah pesisir. Dimana menurut Kristyarini (2010) kondisi wilayah pesisir merupakan wilayah yang peka terhadap gangguan lingkungan akibat dari kegiatan yang ada di pantai. Selain itu, letak pantai Sendang Biru yang berdekatan dengan Pelabuhan Perikanan Pondokdadap sangat rentan terhadap pencemaran lingkungan yaitu limbah yang dihasilkan dari proses kegiatan yang ada di pelabuhan. Pencemaran lingkungan yang mungkin dapat terjadi meliputi limbah padat dan limbah cair yang dapat mempengaruhi kualitas air, kualitas udara dan kebersihan lingkungan.



Gambar 2.4. Peta Sendang Biru (BKD Malang, 2015; Google Earth, 2017)

Sebagai koridor depan dalam wilayah Cagar Alam Pulau Sempu, Sendang Biru berpengaruh terhadap kerentanan wilayah Cagar Alam Pulau Sempu karena letaknya yang sangat dekat dan banyaknya aktivitas masyarakat di Pantai Sendang Biru. Beberapa kegiatan di bidang perikanan berpengaruh terhadap ekosistem pantai (Handartoputra, 2015). Serta diketahui juga bahwa pantai Sendang Biru telah masuk ke dalam kawasan konservasi Cagar Alam Pulau Sempu yang harus dijaga kelestarian lingkungannya. Oleh karena itu, jika terdapat limbah atau pun pencemaran lingkungan lainnya maka akan berdampak pula pada wilayah Pulau Sempu.

Satu diantara upaya yang dapat dilakukan untuk mengantisipasi adanya pencemaran lingkungan yaitu dengan menggunakan bakteri yang terdapat pada sedimen Pantai Sendang Biru yang dimanfaatkan sebagai agen bioremediasi logam diantaranya selenium. Upaya ini dilakukan untuk menjaga keberlanjutan kelestarian lingkungan konservasi.

Wilayah pesisir di Indonesia sangat potensial, karena merupakan lokasi perdagangan, transportasi, perikanan tangkap, budidaya perairan, industri, pertambangan dan pariwisata. Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kondisi lingkungan pesisir diantaranya pertumbuhan penduduk, kegiatan-kegiatan manusia, sedimentasi, ketersediaan air bersih dan pencemaran. Baik buruknya suatu perairan dipengaruhi oleh kegiatan di sekitarnya. Seringkali kegiatan yang ada dapat menurunkan kualitas air yang pada akhirnya akan mengganggu kehidupan biota air. Banyak cara yang digunakan untuk memantau kualitas air, baik secara kimia, fisika, atau biologis (Wardhana, 1999).

2.4 Fase Pertumbuhan Bakteri

Fase pertumbuhan bakteri dibagi menjadi empat yaitu fase adaptasi (*lag phase*), fase perbanyakan (*log phase*), fase stasioner (fase statis) dan fase kematian.

a. Fase Lag

Fase adaptasi (*lag phase*) merupakan fase penyesuaian bakteri dengan lingkungan yang baru. Pada fase ini sel bakteri mengalami perubahan komposisi kimiawi, bertambahnya ukuran sel dan bertambahnya substansi intraseluler (Pelczar, 2008).

Ketika bakteri dipindahkan ke media yang baru maka bakteri tersebut akan masuk ke dalam fase lag. Proses adaptasi meliputi sintesis enzim baru yang sesuai dengan medianya dan pemulihan terhadap metabolit yang bersifat toksik (misalnya asam, alkohol dan basa) pada waktu media yang lama. Pada fase adaptasi tidak dijumpai pertambahan jumlah sel. Akan tetapi, fase adaptasi dapat terhindar (langsung ke fase perbanyakan), jika sel di media lama dalam kondisi fase perbanyakan dan dipindah ke media baru yang sama komposisinya dengan media lama (Purwoko, 2007).

b. Fase log

Fase ini disebut juga dengan fase eksponensial. Hal ini karena pada fase ini sel telah memperoleh kondisi pertumbuhan yang ideal sehingga sel dapat melakukan pembelahan sel dimana pembelahan sel merupakan persamaan eksponensial. Pada fase perbanyakan jumlah sel meningkat sampai pada batas tertentu (tidak terdapat pertambahan bersih jumlah sel), sehingga memasuki fase statis. Pada fase perbanyakan sel melakukan konsumsi nutrient dan proses

fisiologis lainnya. Pada fase itu produk senyawa yang diinginkan oleh manusia terbentuk, karena senyawa tersebut merupakan senyawa yang diekresikan oleh sel bakteri. Beberapa senyawa yang diinginkan pada fase perbanyakan adalah etanol, asam laktat, asam amino, asam lemak, dan asam organik lainnya (Purwoko, 2007).

c. Fase Stasioner

Pada fase ini laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya, sehingga jumlah bakteri keseluruhan akan tetap. Keseimbangan jumlah keseluruhan bakteri ini terjadi karena adanya pengurangan derajat pembelahan sel. Hal ini disebabkan oleh kadar nutrisi yang berkurang dan terjadi akumulasi produk toksik sehingga mengganggu pembelahan sel (Volk dan Wheeler, 1993). Fase ini menunjukkan jumlah bakteri yang hidup sama dengan jumlah bakteri yang mati, sehingga kerva menunjukkan garis yang hampir horizontal (Dwidjoseputro, 1989).

d. Fase kematian

Fase kematian ditandai dengan peningkatan laju kematian yang melampaui laju pertumbuhan (Volk dan Wheeler, 1993). Penyebab utama kematian adalah autolisis sel dan penurunan energi seluler. Beberapa bakteri hanya mampu bertahan beberapa jam selama fase stasioner dan akhirnya masuk ke dalam fase kematian, sementara itu beberapa bakteri bahkan mampu bertahan samapai puluhan tahun sebelum mati dengan mengubah sel menjadi spora (Purwoko, 2007).

BAB III

METODE

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif kualitatif dan eksperimental. Jenis deskriptif kualitatif karena data hasil penelitian disajikan secara deskriptif yang meliputi karakteristik makroskopis, mikroskopis, hasil uji biokimia menggunakan *microbact* bakteri serta data hasil uji bioakumulasi selenium oleh bakteri yang telah diisolasi dari sedimen pantai Sendang Biru. Sedangkan jenis penelitian eksperimental dilakukan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi selenium terhadap jumlah isolat bakteri yang dapat mengakumulasi selenium.

3.2 Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli–November 2017. Bertempat di Laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Analisis logam selenium dilakukan di Balai Pelatihan dan Konsultasi Industri Surabaya

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Ala-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah inkubator, *shaker inkubator*, *Laminar Air Flow (LAF)*, *autoclaf*, oven, mikroskop, panci destruksi, mikropipet, *bluetipe*, cawan petri, kaca benda, kaca penutup, tabung reaksi, rak

tabung reaksi, gelas ukur, *hotplate*, stirer, gelas beaker, pembakar bunsen, pipet tetes, erlenmeyer, ose, swap, botol sprai, dan botol kaca.

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *Basal Salt Medium* (BSM) (mengandung komposisi 0,3 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,2 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,07 g MgSO_4 , 5,85 g NaCl, 0,05 g KH_2PO_4 , 0,05 g K_2HPO_4 , 0,6 mg H_3BO_3 , 0,08 mg CoSO_4 , 0,08 mg CuSO_4 , 0,63 mg MnCl_2 dan 0,22 mg ZnCl_2 dalam 1000 ml aquades), Na_2SeO_3 (sodium selenit), Na_2SeO_4 (sodium selenat), media standart (mengandung 2,5 g yeast ekstrak, 5 g pepton, 1 g glukosa dalam 1 liter aquades), sedimen pantai Sendang Biru, VP I, VP II, Nitrat A, Nitrat B, Indol kovact, TDA, aquadest steril, Alkohol 70%, plastik wrap, tissue, spirtus, kapas, kasa, kertas label, plastik

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat Bahan

Seluruh alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian harus disterilisasi terlebih dahulu agar terhindar dari kontaminasi. Sterilisasi dilakukan dengan cara mencuci alat-alat hingga bersih kemudian dikeringkan. Alat-alat gelas kemudian dibungkus ke dalam plastik dan diikat dengan rapat agar uap air dan kontaminan lain tidak masuk di dalamnya, namun untuk cawan petri harus dibungkus dengan kertas terlebih dahulu sebelum dimasukkan ke dalam plastik. Langkah selanjutnya yang dilakukan yaitu dengan memasukan semua alat dan

bahan ke dalam autoklaf dengan temperatur 121°C dengan tekanan 1 atm selama 1 jam.

3.4.2 Pengambilan Sampel

Sampel diambil dari Pantai Sendang Biru Desa Tambarejo Kecamatan Sumbermanjing Wetan Kabupaten Malang di tiga stasiun yang berbeda. Stasiun 1 berada di wilayah tempat pembuatan perahu. Stasiun 2 merupakan wilayah tempat bersandarnya perahu nelayan dan berdekatan dengan pos penyebrangan. Stasiun 3 berada di wilayah yang berdekatan dengan pelabuhan.



Gambar 3.1 Lokasi pengambilan sampel di Pantai Sendang Biru

Sampel sedimen diambil pada kedalaman 50- 100 cm dari permukaan pantai (Sekhar *et al*, 2012). Pengambilan sampel dilakukan dengan cepat menggunakan mikrotub steril kemudian disimpan. Pekerjaan ini dilakukan untuk

menghindari kontaminasi. Kemudian mikrotub yang berisi sampel diberi label dan disimpan di dalam *ice box* dengan suhu 4°C untuk selanjutnya dibawa menuju laboratorium untuk dianalisis (Narasingarao dan Haggblom, 2007).

3.4.3 Pembuatan Media

Media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri dari sedimen pantai pada penelitian ini adalah media *Basal Salt Medium* (BSM). Media BSM yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan aquades sampai 1 liter. Ditungkup dengan kapas yang dibungkus kasa dan dipanaskan di atas *hotplate* sampai mendidih dan dihomogenkan menggunakan stirer. Kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 2 jam pada suhu 121°C tekanan 1 atm. Media yang sudah steril kemudian dituangkan ke cawan petri sebanyak 20 ml. 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 kegiatan selanjutnya.

Media yang digunakan untuk uji bioakumulasi dan kurva pertumbuhan bakteri yaitu media standart. Media BSM yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan aquades sampai 1 liter. Ditungkup dengan kapas yang dibungkus kasa dan dipanaskan di atas *hotplate* sampai mendidih dan dihomogenkan menggunakan stirer. Kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 2 jam pada suhu 121°C tekanan 1 atm.

3.4.4 Isolasi Bakteri

Proses isolasi bakteri pada penelitian ini menggunakan pengenceran bertingkat yang mengacu pada prosedur yang telah dilakukan Al Zereini (2014) yaitu mengambil 1 g sampel sedimen ditambahkan pada 1 ml aquades steril. Pengenceran bertingkat dilakukan sampai 10^{-5} . Kemudian pada pengenceran 10^{-5} diambil 20 μ l untuk diinokulasikan pada media BSM yang mengandung Se dengan konsentrasi yang berbeda (0 mM, 5 mM, dan 10 mM) dengan cara dituang secara merata (*spread plate*). Setelah itu, media diinkubasi pada suhu 25°C selama 7x24 jam. Dimana menurut Ayano (2014) bakteri toleran Se akan membentuk koloni berwarna merah kecoklatan pada media tumbuh. Koloni yang tumbuh kemudian diamati dan dihitung dengan menggunakan *colony counter*.

3.4.4 Uji Resistensi Selenat Pada Isolat Bakteri Terpilih

Uji resistensi selenat dilakukan untuk menyeleksi isolat bakteri yang dapat resisten terhadap toksisitas selenium dengan senyawa yang memiliki oksidasi lebih tinggi. Uji ini dilakukan dengan dipilih sembilan isolat secara acak kemudian ditumbuhkan pada media agar BSM yang mengandung selenat dengan konsentrasi 0 mM, 5 mM dan 10 mM. Media yang telah berisi bakteri diinkubasi pada suhu 25°C selama 7x24 jam secara aerobik. Terbentuknya koloni berwarna merah pada media tumbuh mengindikasikan bahwa telah terjadi perubahan selenat yang toksik menjadi selenium elemental.

3.4.5 Identifikasi Bakteri

Identifikasi jenis bakteri yang telah diisolasi dari sedimen dilakukan dengan cara isolat bakteri terpilih yang resisten terhadap selenit dan selenat diidentifikasi dengan menggunakan *microbact*. Selain itu juga dilakukan pengamatan karakteristik secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis yang dilakukan berdasarkan bentuk koloni, permukaan koloni, tepi koloni, dan warna koloni. Sedangkan untuk pengamatan mikroskopis dilakukan untuk melihat bentuk sel bakteri, pewarnaan gram dan uji biokimia menggunakan *Microbact* yang mengacu pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*.

3.4.5.1 Pewarnaan Gram

Isolat bakteri diambil satu ose dengan jarum ose secara aseptis dan disuspensikan dengan aquades yang ada di atas gelas objek. Preparat difiksasi di atas api bunsen sampai kering. Preparat ditetesi dengan gram A (gentian violet), didiamkan selama satu menit dan dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat ditetesi dengan larutan gram B (lugol iodine) dan didiamkan selama satu menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat digenangi dengan larutan gram C (Aceton alcohol) sampai warna ungu hilang. Preparat ditetesi dengan larutan gram D (safranin) dan didiamkan selama 2 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat ditetesi dengan minyak imersi, preparat diamati dengan mikroskop. uji gram positif jika berwarna ungu dan negatif jika berwarna merah (Hadieoetomo, 1993).

3.4.5.2 Identifikasi Menggunakan *Microbact*

Identifikasi isolat bakteri menggunakan Kit *Microbact* 12A12E yang mengacu pada buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Koloni bakteri terlebih dahulu dilakukan uji oksidase untuk menentukan jenis kit yang akan digunakan. Jika hasil uji oksidase positif menggunakan *Microbact system* 24E, sedangkan jika hasil oksidase negatif maka menggunakan 12A/12E saja.

Diambil isolat bakteri yang telah diinkubasi selama 18-24 jam dengan menggunakan ose kemudian dilarutkan kedalam 5 ml garam fisiologis 0,85% pada tabung reaksi steril dan divortex hingga homogen. Suspensi bakteri yang telah homogen diteteskan ke dalam sumur *Microbact* sebanyak 100 µl, untuk sumur Lysin, omitin dan H₂S ditambah dengan tetesan *mineral oil* sebanyak 1-2 tetes. Setelah itu *microbact* diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu, *microbact* yang telah diinkubasi diambil kemudian diteteskan 2 tetes reagent Nitrat A dan B pada sumur 7, pada sumur nomor 8 dengan Indol Kovact sebanyak 2 tetes, sumur nomor 10 dengan VP I dan VP II masing-masing satu tetes, dan sumur nomor 12 dengan TDA sebanyak satu tetes.

Untuk uji fermentasi karbohidrat pada *microbact* 12B dengan tidak dilakukan penambahan reagen, dimana hasil dari sumuran dapat langsung dibaca. Jika uji fermentasi positif maka akan berwarna kuning, sedangkan jika hasil uji negatif maka akan tetap berwarna biru atau tidak terjadi perubahan warna. Perubahan warna tes pada tiap sumur yang berbeda dicatat. Evaluasi hasil positif atau negatif dilihat melalui sumur-sumur *microbact* dengan cara membandingkan dengan kunci determinasi program *Microbact™ Gram Identification System*. Angka-angka oktal didapat dari reaksi positif saja, dari tiap-tiap kelompok (3

sumur didapatkan 1 angka oktal). Dengan menggunakan hasil yang diperoleh, indeks reaksi positif dilingkari. Jumlah indeks ini di setiap kelompok terdiri dari tiga reaksi membentuk nomor kode. Kode ini dimasukkan ke dalam paket komputer. Nama bakteri dilihat dengan komputer berdasarkan angka oktal yang didapat (Oxoid, 2004).

3.4.6 Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Resisten-Se

Bakteri resisten-Se diperkaya pada media standart (STD) tanpa penambahan natrium selenit diinkubasi pada suhu 25°C selama 24 jam. Kemudian dilakukan subkultur pada media standart cair dengan perlakuan 0 mM, 5mM, dan 10 mM natrium selenit. Pengamatan pertumbuhan bakteri dengan interval 8 jam selama 48 jam. Pengukuran pertumbuhan bertujuan untuk mengetahui karakter pertumbuhan isolat dan waktu optimal dalam mengakumulasi Se. Kultur bakteri kemudian diukur kerapatannya menggunakan spektrofotometer pada *Optical Density* (OD) 600 nm.

3.4.7 Uji Bioakumulasi Selenium Pada Bakteri Terpilih

Uji bioakumulasi pada penelitian ini mengacu pada prosedur penelitian Romaidi dan Ueki (2016) dimana isolat bakteri resisten terpilih diremajakan pada 3 mL media standart cair hingga mencapai OD = 1,96 atau selama 24 jam. Suspensi sel bakteri kemudian diinokulasikan dalam tabung 10 mL yang mengandung 0 µM, 100 µM, dan 200 µM natrium selenit dengan 3 kali ulangan. Adapun konsentrasi ini mengacu pada Tanaka *et al* (2016) yang menggunakan konsentrasi sebesar 100 µM. Isolat bakteri kemudian diinkubasi selama 24 jam

pada suhu 25⁰C dengan kecepatan 130 rpm. Diambil 10 ml sampel sel bakteri dan disaring menggunakan kertas saring yang bebas abu. Residu yang diperoleh dikeringkan dan diabukan pada suhu 400-600⁰C. Ditambahkan 50 ml 6 HCL dan 1 ml HNO₃ 60% kemudian disaring kembali. Filtrat jernih yang diperoleh dimasukan ke dalam SSA menggunakan pipa kapiler. Kemudian diukur akumulasi selenium dalam isolat bakteri dengan menggunakan SSA. Sebagaimana dapat dilihat pada lampiran 9.

3.4.8 Perhitungan Persentase Akumulasi Se

Perhitungan persentase akumulasi selenium dapat dilakukan dengan menggunakan cara sebagai berikut (Romaidi dan Ueki, 2016):

$$P = \frac{a}{b} \times 100\%$$

Keterangan: a = jumlah Se terkumulasi (dalam bakteri)

b = jumlah total Se (dalam media kultur)

P = akumulasi Se (%)

3.4.9 Analisa Data

Data berupa karakteristik dan hasil identifikasi isolat bakteri resisten selenium yang diperoleh dari Pantai Sendang Biru disajikan secara deskriptif kualitatif. Adapun untuk mengetahui adanya akumulasi selenium pada bakteri, hasil uji bioakumulasi kadar selenium oleh bakteri akan dianalisis statistik menggunakan *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan DMRT atau BNT jika ada perbedaan.

Data hasil pengamatan juga dianalisis menggunakan analisis nalar spiritual Islam atau nilai-nilai Islam. Dimana menganalisis dengan prinsip dan paradigma Islam. Analisis ini menggunakan sumber dari beberapa ayat al-qur'an dan hadist beserta tafsir yang sesuai dengan penelitian serta pemikiran-pemikiran Islam. Hal ini dilakukan untuk menunjukkan sebagai khalifah di bumi dan tanggung jawab sebagai ilmuan.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

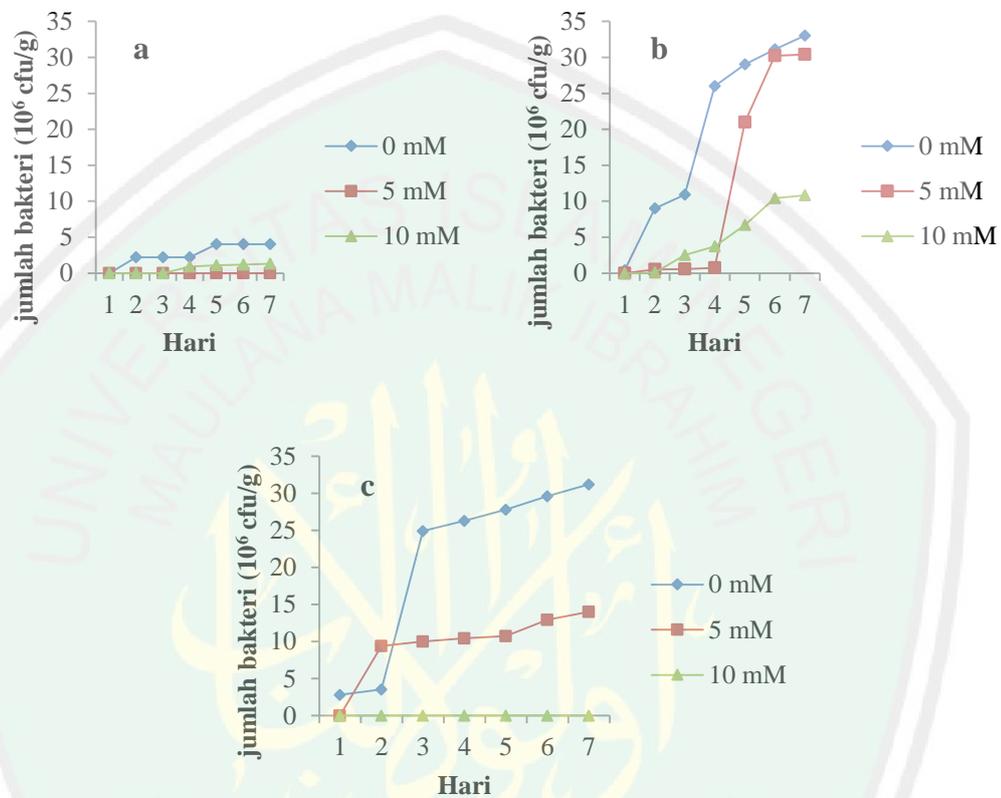
4.1 Jenis Bakteri Resisten Selenium

Sedimen Pantai Sendang Biru memiliki kandungan selenium (Se) yang tinggi yaitu 990-1.180 µg/L. Konsentrasi ini seribu kali lebih banyak jika dibandingkan dengan standart EPA yang menetapkan konsentrasi normal Se di lingkungan sebanyak 3,1 µg/L. Bakteri yang hidup pada sedimen yang kaya akan kandungan selenium diasumsikan memiliki kemampuan toleransi yang tinggi terhadap keberadaan selenium di lingkungan. Oleh karena itu, penelitian ini difokuskan untuk mengisolasi bakteri resisten selenium dari sedimen Pantai Sendang Biru yang diketahui mengandung Se dengan konsentrasi tinggi.

Bakteri pada sampel sedimen diisolasi dan ditumbuhkan pada media BSM agar dengan penambahan sodium selenit (Na_2SeO_3) 0 mM (sebagai kontrol), 5 mM, dan 10 mM, kemudian diinkubasi pada 25 °C selama 7 hari secara aerobik. Adanya bakteri resisten selenit dapat diketahui dari warna koloni bakteri yang berwarna orange kemerahan hingga merah pada media agar. Menurut Hunter dan Manter (2009) bakteri yang ditumbuhkan pada media agar dengan penambahan selenit akan menunjukkan warna kemerahan yang mengindikasikan bahwa bakteri tersebut dapat mereduksi selenit yang toksik menjadi selenium elemental yang tidak toksik.

Hasil isolasi bakteri yang didapatkan setelah 7 hari masa inkubasi pada perlakuan 0 mM (kontrol) dan dua perlakuan lainnya menunjukkan hasil yang berbeda. Pada perlakuan kontrol koloni bakteri terlihat berwarna putih. Sedangkan

untuk inokulum dengan perlakuan 5 mM dan 10 mM koloni bakteri yang tumbuh berwarna orange hingga kemerahan. Hal ini dikarenakan adanya selenium elemental yang menunjukkan bakteri tersebut resisten dan dapat mengakumulasi selenium elemental.

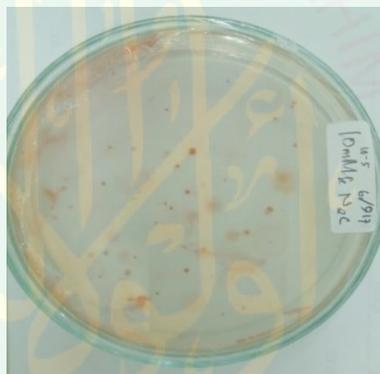


Gambar 4.1 Jumlah bakteri yang tumbuh di media BSM dengan penambahan Se 0, 5 dan 10 mM pada masing-masing stasiun, (a) stasiun 1, (b) stasiun 2, (c) stasiun 3.

Hasil penelitian yang didapat dari masing-masing stasiun dengan perlakuan 0 mM (kontrol), 5 mM, dan 10 mM natrium selenit menunjukkan hasil pertumbuhan jumlah koloni bakteri yang bervariasi. Pertumbuhan jumlah bakteri hasil isolasi dari stasiun 1 terlihat lebih banyak pada media kontrol dengan jumlah 4×10^6 cfu/g. Jumlah bakteri pada perlakuan 10 mM sebesar $1,3 \times 10^6$ cfu/g,

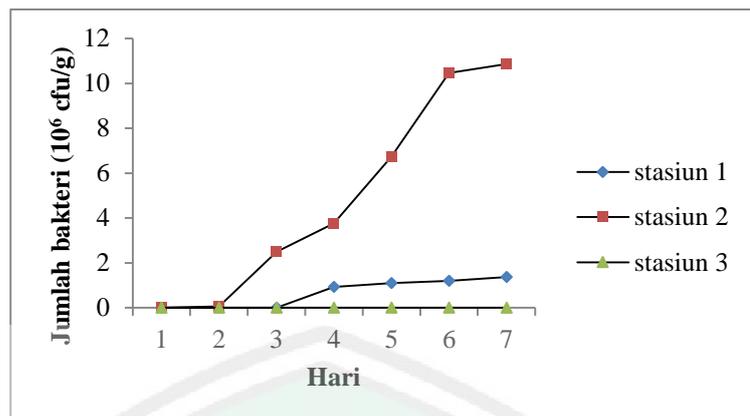
sedangkan pada 5 mM tidak terlihat adanya pertumbuhan bakteri pada media tersebut. Hal ini diduga bahwa pertumbuhan bakteri tersebut lebih optimal pada perlakuan 10 mM selenit (Gambar 4.1) .

Berdasarkan hasil yang didapat pada stasiun 2 memiliki hasil yang berbeda dibandingkan 2 stasiun lainnya dimana bakteri dari stasiun ini dapat tumbuh pada semua perlakuan. Jumlah bakteri yang tumbuh pada media kontrol sebesar 33×10^6 cfu/g. Pada perlakuan 5 mM jumlah bakteri $30,4 \times 10^6$ cfu/g dan pada perlakuan 10 mM jumlah bakteri hanya dapat mencapai $10,8 \times 10^6$ cfu/g. Dari data tersebut diketahui bahwa adanya penambahan natrium selenit pada media kultur dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri.



Gambar 4.2 Koloni bakteri pada media yang disuplementasi selenium

Bakteri yang diisolasi dari stasiun 3 memiliki hasil yang sama dengan stasiun 1 dimana terdapat satu perlakuan yang tidak ditumbuhi bakteri yaitu pada perlakuan 10 mM. Pada perlakuan 5 mM memiliki jumlah bakteri sebesar 14×10^6 cfu/g dengan koloni yang tumbuh pada media berwarna merah. Sedangkan koloni bakteri yang tumbuh pada kontrol berwarna putih dengan jumlah bakteri $31,2 \times 10^6$ cfu/g.



Gambar 4.3 Perbandingan jumlah bakteri yang tumbuh pada media mengandung Se dengan konsentrasi tertinggi (10 mM) pada stasiun 1, 2, dan 3

Berdasarkan Gambar 4.3, kemudian dibuat perbandingan bakteri yang tumbuh pada media mengandung Se dengan konsentrasi tertinggi (10 mM) pada stasiun 1, 2, dan 3. Hasilnya didapatkan bahwa bakteri dari stasiun 2 memiliki tingkat pertumbuhan bakteri tertinggi. Bakteri yang tumbuh pada konsentrasi 10 mM yang diisolasi dari stasiun 2 memiliki jumlah bakteri tertinggi. Hal ini sesuai dengan jumlah konsentrasi selenium di sampel sedimen pada uji pendahuluan. Dimana konsentrasi selenium tertinggi berada pada stasiun 2 yang berjumlah 1.180 µg/L. Stasiun 2 memiliki kadar selenium yang tinggi diduga karena adanya limbah cat yang mengandung selenium terbawa arus laut yang dihasilkan dari pembuatan perahu nelayan. Hal tersebut dapat terjadi dikarenakan limbah mentah yang langsung dibuang ke perairan memiliki ikatan ion yang bersifat mudah terbawa, sehingga diduga limbah cat yang mengandung selenium tersebut terbawa oleh arus laut yang menuju ke stasiun 2.

Dari semua perlakuan pada tiga stasiun yang berbeda dipilih satu inokulum dengan perlakuan konsentrasi tertinggi (10 mM) serta jumlah koloni

bakteri berwarna merah terbanyak yang tumbuh. Hal ini bertujuan agar mendapatkan bakteri yang tumbuh pada media tersebut merupakan bakteri yang resisten selenium pada konsentrasi tinggi. Hasil seleksi yang didapat yakni inokulum pada perlakuan 10 mM yang merupakan hasil isolasi dari stasiun 2, selanjutnya identifikasi bakteri resisten selenit menggunakan bakteri dari stasiun 2.

4.1.1 Uji Resistensi Bakteri Resisten Selenit Terhadap Selenat

Selenat (VI) adalah bentuk oksianion selenium yang memiliki bilangan oksidasi lebih tinggi bila dibandingkan selenit (IV), sehingga membuat selenat lebih bersifat toksik untuk lingkungan (Nancarrahiah dan Lens, 2015). Berdasarkan kenyataan ini, maka pada penelitian ini juga difokuskan untuk mendapatkan bakteri yang resisten terhadap toksisitas selenat. Uji resistensi selenat dilakukan dengan dipilih sembilan koloni bakteri yang diperoleh dari stasiun 2. Pemilihan koloni bakteri berdasarkan perbedaan warna secara visual. Isolat bakteri terpilih diinokulasikan pada BSM agar dengan penambahan natrium selenat 0 mM, 5 mM dan 10 mM (Na_2SeO_4) dengan tiga kali ulangan, dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 7 hari.

Hasil penelitian menunjukkan hanya satu isolat bakteri yang resisten terhadap selenat yaitu strain SNB-5 (Tabel 4.1). Disisi lain, isolat bakteri tumbuh subur pada media kontrol 0 mM dengan membentuk koloni berwarna putih hingga putih keruh. Pada sembilan isolat bakteri yang diinokulasikan di media BSM padat perlakuan 5 mM dan 10 mM hanya satu isolat saja yaitu strain SNB-5 yang dapat mereduksi selenat menjadi selenium elemental hingga 10 mM natrium

selenat. Pada perlakuan 5 mM terentuk tiga koloni sedangkan pada perlakuan 10 mM hanya terdapat satu koloni bakteri berwarna merah. Terbentuknya koloni berwarna kemerahan yang mengindikasikan bahwa bakteri tersebut dapat mengubah toksisitas selenate menjadi selenium elemental. Selenat dapat digunakan sebagai akseptor terminal elektron untuk respirasi bakteri dan dapat direduksi menjadi selenit dan selenium elemental melalui proses yang diketahui sebagai reduksi dissimilatori selenat. Menurut Hageman *et al* (2003) pada kebanyakan mikroorganisme yang mengandung senyawa Se dimetabolisme melalui dua cara: 1.) Dissimilatori reduksi Se oksianion menjadi selenium elemental dan mungkin selanjutnya selenida atau 2.) Secara langsung berinkorporasi menjadi asam amino seperti selenosisten dan selenoprotein.

Tabel 4.1 Hasil strain bakteri yang tumbuh pada media BSM dengan penambahan natrium selenat.

Strain Bakteri	Konsentrasi Natrium Selenat		
	0 mM	5 mM	10 mM
SNB-1	+	-	-
SNB-2	+	-	-
SNB-3	+	-	-
SNB-4	+	-	-
SNB-5	+	++	++
SNB-6	+	-	-
SNB-7	+	-	-
SNB-8	+	-	-
SNB-9	+	-	-

Keterangan : (+) bakteri tumbuh berwarna putih,
(++) bakteri tumbuh berwarna merah.

Hasil pengamatan juga menunjukkan bahwa banyak isolat bakteri yang tidak dapat tumbuh pada media dengan selenat. Hal tersebut menurut Avendano *et*

al (2016) karena bakteri tersebut tidak memiliki pelengkap enzimatik yang dibutuhkan untuk respirasi selenat dan untuk melakukan langkah pertama pengurangan yaitu reduksi selenat menjadi selenit. Ketiadaan aktivitas reduktase selenat yang jelas pada isolat bakteri tersebut diperkirakan karena bakteri ini dianggap sebagai aerobik obligat dan karena itu, tidak ada substrat yang diketahui selain oksigen yang bisa berfungsi sebagai elektron akhir.

Dalam pengujian ini bakteri yang tumbuh pada media dengan selenat tidak seoptimal sebagaimana dengan pertumbuhan bakteri pada media dengan selenit. Hal ini terjadi dikarenakan menurut Hageman *et al* (2003) selenit lebih siap direduksi menjadi selenium elemental bila dibandingkan dengan selenat, sehingga pertumbuhan koloni bakteri berwarna kemerahan ditemukan lebih banyak dibandingkan dengan media kultur selenat. Selain itu, selenit sangat reaktif dan konversi selenit ke selenium elemental sering menengahi mekanisme detoksifikasi.

4.1.2 Identifikasi Karakteristik Makroskopis dan Mikroskopis Isolat Bakteri

Terpilih

Adapun hasil isolasi bakteri isolat bakteri terpilih yang teridentifikasi resisten selenit sebanyak sembilan isolat. Sembilan isolat bakteri yang tumbuh pada media diamati karakteristik morfologi makroskopis dan mikroskopisnya. Pengamatan morfologi sembilan koloni tersebut meliputi warna koloni, permukaan koloni, tepi koloni, bentuk sel dan ukuran sel bakteri serta jenis gram. Hasil pengamatan karakteristik morfologi isolat bakteri resisten selenit dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Karakteristik isolat bakteri hasil isolasi dari sedimen Pantai Sendang Biru

Kode strain	Morfologi					
	Warna koloni	Tepi koloni	Permukaan koloni	Bentuk sel	Ukuran sel (μm)	Jenis gram
SNB-1	Merah	Utuh	Timbul melengkung	Kokus	1,63	Negatif
SNB-2	Merah	Utuh	Timbul melengkung	Kokus	2,18	Negatif
SNB-3	Orange kemerahan	Utuh	Timbul datar	Kokus	2,79	Negatif
SNB-4	Merah	Utuh	Timbul melengkung	Kokus	2,18	Negatif
SNB-5	Merah pekat	Utuh	Timbul melengkung	Batang	3,34	Negatif
SNB-6	Merah	Utuh	Timbul melengkung	Batang	3,69	Negatif
SNB-7	Merah	Utuh	Timbul melengkung	Batang	3,25	Negatif
SNB-8	Merah tepi Merah muda	Utuh	Timbul datar	Batang	6,71	Negatif
SNB-9	Merah	Utuh	Timbul melengkung	Batang	3,34	Negatif

Tabel 4.2 memperlihatkan bahwa hampir semua isolat hasil isolasi dari sedimen Pantai Sendang Biru berwarna merah dan tiga koloni lainnya sedikit berbeda. Koloni bakteri SNB-3 berwarna orange kemerahan dan koloni SNB-8 memiliki warna merah dengan tepi merah muda, sedangkan strain SNB-5 memiliki warna koloni yang lebih pekat. Keseluruhan strain bakteri memiliki bentuk koloni yang sama yaitu bulat dan tepi yang utuh. Disisi lain, jika dilihat dari permukaan hanya terdapat tujuh strain yang memiliki permukaan yang serupa yaitu timbul melengkung dan dua strain lain memiliki bentuk permukaan yang berbeda. Strain SNB-3 dan SNB-8 memiliki permukaan yang sama timbul datar. Pengamatan karakteristik makroskopis koloni bakteri perlu dilakukan untuk mempermudah dalam proses identifikasi jenis bakteri, namun untuk memperoleh

hasil identifikasi yang lebih valid maka perlu dilakukan identifikasi lebih lanjut untuk mengetahui karakteristik morfologi mikroskopik bakteri tersebut. Satu diantaranya pengamatan mikroskopis yang dapat dilakukan dengan pengamatan bentuk sel bakteri dan pewarnaan gram pada bakteri. Menurut Waluyo (2005) pewarnaan gram pada bakteri bertujuan untuk membedakan antara jenis bakteri gram positif dan gram negatif berdasarkan struktur dinding sel bakteri.

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa sembilan strain bakteri memiliki dua bentuk sel yang berbeda. Terdapat 4 strain bakteri memiliki bentuk sel kokus yaitu strain SNB-1, SNB-2, SNB-3, SNB-4 dan lima strain bakteri memiliki bentuk batang yaitu strain SNB-5, SNB-6, SNB-7, SNB-8, dan strain SNB-9. Ukuran sel pada tiap strain memiliki ukuran yang bervariasi. Ukuran sel pada hasil pengamatan berkisar hingga 1,63-6,71 μm , dimana ukuran sel terkecil pada strain SNB-1 dan ukuran strain terbesar dimiliki oleh strain SNB-8.

Berdasarkan hasil pewarnaan cat gram didapatkan hasil bahwa semua strain hasil isolasi berwarna merah dan memiliki gram yang sama yaitu gram negatif. Bakteri gram negatif memiliki struktur sel dengan kandungan lipid yang tinggi sedangkan bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan peptidoglikan yang tebal. Lipid larut oleh aseton alkohol sehingga kompleks zat warna kristal violet pada dinding sel tidak dapat dipertahankan dan mengikat zat warna merah safranin sehingga warna merah safranin yang bertahan, berbeda dengan bakteri gram positif yang berwarna ungu disebabkan kompleks zat tersebut tetap dipertahankan karena peptidoglikan tidak larut oleh aseton alkohol sehingga membuat bakteri berwarna biru-ungu yang berasal dari kompleks zat kristal yang dipertahankan (Pelczar, 2008).

Beberapa bakteri resisten selenium yang termasuk basil gram negatif telah dilaporkan dalam penelitian terdahulu diantaranya berasal dari genus *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Eschericia*, *Rhodobacter*, dan *Shawenella* (Ike *et al*, 2000). Oleh karenanya, isolat bakteri yang telah diisolasi dari sedimen pantai Sendang Biru diduga termasuk dalam salah satu genus tersebut.

4.1.3 Identifikasi Bakteri Resisten Selenium Strain SNB-5 Menggunakan *Microbact*

Berdasarkan hasil isolasi bakteri serta uji resistensi selenit dan selenat dipilih satu strain yang memiliki kemampuan pertumbuhan yang optimal yaitu strain SNB-5. Bakteri tersebut kemudian diidentifikasi lebih lanjut untuk mengetahui jenis bakteri yang didapat. Identifikasi dilakukan dengan menggunakan Kit *Microbact*12A/12B. Dikarenakan isolat yang didapat merupakan gram negatif maka evaluasi hasil identifikasi dilihat melalui sumur-sumur *Microbact*. Untuk mengetahui hasil uji biokimia positif atau negatif dapat diketahui dengan menggunakan data sumuran dicatat dan dibandingkan dengan kunci determinasi program *Microbact*TM *Gram Negative Identification System*. Angka-angka oktal didapat dari penjumlahan reaksi positif saja dari tiap kelompok (3 sumur didapatkan 1 angka oktal). Hasil akhir nama bakteri dilihat dengan komputer berdasarkan angka oktal yang didapat. Namun jika bakteri tersebut gram positif maka hasil pengujian *Microbact* dijadikan rujukan dalam penelusuran bagan identifikasi spesies mengacu pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Oxoid, 2004).

Tabel 4.3 Hasil karakteristik uji biokimia isolat bakteri resisten selenium dari Pantai Sendang Biru menggunakan *microbact*

No	Karateristik	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	gelatine	+
17	malonat	-
18	inositol	-
19	sorbitol	-
20	rhamnose	-
21	sukrosa	-
22	laktosa	-
23	arabinosa	-
24	adonitol	-
25	raffinosa	-
26	salisin	-
27	arginin	-
28	pewarna gram	negatif
29	bentuk	batang

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa bakteri ini memiliki bentuk batang dan merupakan gram negatif. Hasil uji motilitas menunjukkan hasil positif hal ini menunjukkan adanya pergerakan dari bakteri yang diinokulasikan. Selain itu dilakukan uji enzim yang meliputi uji oksidase dan urinase. Hasil pengamatan pada uji oksidase menunjukkan hasil positif yang berarti bakteri dapat menghasilkan enzim oksidase dan mendeteksi sitokrom c (Dwidjoseputro, 1994). Enzim ini merupakan bagian dari kompleks enzim yang berperan dalam proses

fosforilasi oksidatif (Volk dan Wheeler, 1993). Sedangkan pada uji urenase hasil yang didapat negatif. Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui apakah bakteri mempunyai enzim urease yang dapat menguraikan urea membentuk amoniak (Lim, 2006).

Isolat SNB-5 merupakan bakteri non fermentatif karena pada uji fermentasi gula-gula menunjukkan hasil negatif. Adam (2001) mengatakan bahwa uji fermentasi karbohidrat juga disebut dengan uji gula-gula. Uji ini digunakan untuk mengetahui apakah bakteri memfermentasi masing-masing gula membentuk asam. Pada penelitian ini, karbohidrat yang digunakan adalah glukosa, sukrosa, laktosa, arabinosa, xylosa, manitol, inositol, sorbitol, ramnose, adonitol, rafinose dan salicin. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak dapat memfermentasi karbohidrat.

Uji biokimia selanjutnya adalah uji gelatin menunjukkan hasil positif yang berarti terjadinya pencairan gelatin oleh enzim proteolitik yang mendifusikan pigmen hitam pada bakteri. Kemudian uji ONPG juga menunjukkan hasil positif dimana bakteri dapat menghidrolisis o-nitrophenil- β -D-galactopyranoside (ONPG) oleh enzim β galactosidase sehingga dapat memfermentasikan laktosa. Bakteri ini mempunyai uji nitrat negatif sehingga tidak dapat mereduksi nitrat. Selain itu, bakteri ini juga tidak dapat menghasilkan H₂S, indol, dan indolpiruvat dikarenakan uji yang telah dilakukan yaitu uji H₂S, indol dan TDA mendapatkan hasil negatif.

Pada uji Voges-Proskauer (VP) didapatkan hasil negatif dimana uji ini bertujuan untuk membedakan antara organisme yang menghasilkan asam dalam jumlah yang besar dan yang menghasilkan produk netral seperti asetilmetilkarbinol (asetoin) dari hasil metabolisme glukosa. Lehninger (1995)

Uji ini juga digunakan untuk mengidentifikasi mikroorganisme yang dapat memfermentasikan karbohidrat menjadi 2,3-butanadiol sebagai produk utama, dan akan terjadi penumpukan bahan tersebut dalam media pertumbuhan.

Uji citrat yang dilakukan kali ini negatif dimana tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui apakah bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Selain itu uji lisin, ornithin, dan arginin menunjukkan hasil negatif juga. Hasil karakteristik uji biokimia data yang didapat kemudian dibandingkan dengan data kunci determinasi program *Microbact™ Gram Negative Identification System*. Hasil identifikasi menggunakan *Microbact* menunjukkan bahwa isolat bakteri tersebut teridentifikasi sebagai spesies *Pseudomonas diminuta* dengan persen probabilitas 98%.

Bakteri genus *Pseudomonas* memiliki persebaran yang cukup luas di lingkungan. Banyak spesies bakteri dari genus ini yang telah dilaporkan mempunyai kemampuan resisten dan dapat mengurangi tingkat toksisitas selenium diantaranya *Pseudomonas alcaligenesis*, *P. stutzeri*, *P. fluorescens*, dan *P. seleniipraecipitatus* (Manitowoc, 1994; Ike, 2000; Hunter, 2011). Selain memiliki kemampuan resisten selenium *Pseudomonas diminuta* juga memiliki kemampuan lain sebagai pendegradasi sianida, biosurfaktan dalam polusi hidrokarbon dan berperan dalam proses denitrifikasi (Javert, 1991; Thavasi *et al*, 2011).

4.2 Karakteristik Pertumbuhan Strain SNB-5 dalam Berbagai Macam Konsentrasi Se

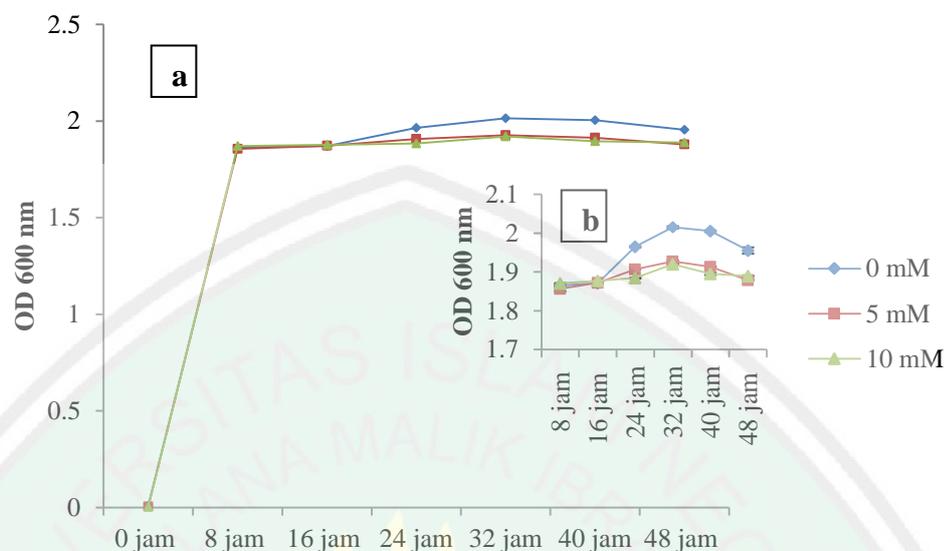
Ketahanan suatu isolat diuji dengan memberikan senyawa Se dengan toksisitas tinggi pada media tumbuhnya, seperti natrium selenit Na_2SeO_3 . Pada uji

resistensi, bakteri resisten selenium terpilih yang didapat dari tahap screening dan uji resisten selenium diinokulasikan pada media standart cair yang mengandung tiga konsentrasi Na_2SeO_3 yang berbeda (0 mM, 5mM, dan 10 mM). Inokulum diinkubasi selama 2 hari dan pertumbuhan bakteri diamati setiap 8 jam sekali. Media standart merupakan media dasar dimana komposisi bahannya lebih sederhana dibandingkan media BSM yang merupakan media selektif, sehingga untuk aplikasi kedepannya menggunakan media standart.

Pemberian senyawa Na_2SeO_3 yang bersifat toksik terhadap isolat bakteri berpengaruh terhadap pertumbuhan yang diukur sebagai nilai serapannya (OD), yaitu jika isolat dapat tumbuh maka nilai serapannya akan meningkat, dan sebaliknya. Peningkatan nilai serapan ditandai dengan semakin keruhnya media tumbuh bakteri tersebut. Kekeruhan media tumbuh disebabkan oleh jumlah sel yang terus meningkat. Untuk menghitung nilai serapan sampel bakteri pada penelitian ini menggunakan OD 600 nm. Hal ini sesuai dengan Febriyansari (2008) untuk larutan yang berwarna kuning sampai coklat nilai kekeruhannya dapat diketahui dengan menggunakan panjang gelombang 600-625.

Bakteri pada perlakuan kontrol (0 mM Na_2SeO_3) menunjukkan nilai OD paling tinggi dibandingkan bakteri dengan suplementasi 5 mM dan 10 mM Na_2SeO_3 . Hal ini dikarenakan pada konsentrasi 0 mM bakteri dapat tumbuh dengan baik karena tidak adanya penambahan Na_2SeO_3 yang bersifat toksik sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Adapun bakteri yang menunjukkan nilai OD terendah yaitu bakteri pada konsentrasi Na_2SeO_3 10 mM. Pertumbuhan bakteri dari ketiga konsentrasi Na_2SeO_3 pada tiap 8 jamnya

mengalami kenaikan nilai OD hingga pada jam ke-40 mulai terjadi penurunan nilai OD bakteri hingga jam ke- 48. Sebagaimana yang tersaji pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Kurva pertumbuhan bakteri resisten-Se pada OD 600 nm. (a) kurva pertumbuhan dengan jam ke-0, (b) kurva pertumbuhan dengan jam ke-8

Hasil penghitungan nilai OD pada konsentrasi 5 mM pada jam ke-0 sebesar 0,005. Pada 8 jam pertama memiliki nilai OD sebesar 1,85 kemudian nilai tersebut semakin meningkat hingga mencapai nilai OD tertinggi pada jam ke-32 sebesar 1,92. Pada tahap ini bakteri telah memasuki fase log atau disebut juga dengan fase eksponensial. Sesuai dengan Purwoko (2007) bahwa pada fase ini sel telah memperoleh kondisi pertumbuhan yang ideal sehingga sel dapat melakukan pembelahan sel dimana pembelahan sel merupakan persamaan eksponensial. Kemudian sel bakteri mengalami penurunan tingkat pertumbuhan pada jam ke-40 sehingga nilai OD menurun menjadi 1,91. Terjadinya penurunan nilai OD menunjukkan bahwa kepadatan sel bakteri pada media tersebut mengalami penurunan juga dikarenakan bakteri tersebut telah memasuki fase kematian

dimana tingkat kematian bakteri lebih tinggi dibandingkan dengan tingkat kehidupan bakteri.

Peningkatan jumlah populasi biomasa sel terjadi ada fase log (eksponensial), yaitu saat proses metabolisme sel di dalam tubuh bakteri masih terus berjalan (aktif) dimana pada penelitian ini terjadi pada jam ke 0 sampai jam ke-24 . Hal ini menyebabkan daya serap bakteri terhadap Na_2SeO_3 yang diasup dari dalam media tumbuh cukup tinggi. Proses akumulasi ini mendorong terjadinya peningkatan kandungan Se di dalam sel bakteri. Adapun bakteri yang mampu hidup dalam media yang mengandung Na_2SeO_3 akan membuat media berwarna kemerahan dan juga terlihat adanya akumulasi endapan berwarna merah. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut dapat mentolerir terhadap toksisitas Se dalam bentuk Na_2SeO_3 .

Adapun hasil tingkat kekeruhan dari bakteri pada konsentrasi 10 mM memiliki nilai OD terkecil dibandingkan dua konsentrasi lain. Hal ini diduga karena isolat bakteri berasal dari konsentrasi 10 mM pertumbuhannya terhambat oleh adanya sodium selenit sehingga kemampuan bakteri tersebut tidak seoptimal pertumbuhan isolat bakteri pada konsentrasi yang lebih rendah. Dimana nilai OD di 0 jam 0,002 kemudian pada 8 jam pertama mengalami peningkatan yang signifikan sebesar 1,87. Nilai OD terus meningkat hingga jam ke-32 dengan nilai OD 1,92. Kemudian pada jam ke-40 bakteri mengalami penurunan OD mencapai 1,89 dan pada jam ke-48 semakin menurun menjadi 1,88.

Berdasarkan hasil pengamatan, fase stasioner tidak terlihat pada semua konsentrasi yang ada. Menurut Dwidjoseputro (1989) fase ini menunjukkan jumlah bakteri yang hidup sama dengan jumlah bakteri yang mati, sehingga kurva

menunjukkan garis yang hampir horizontal. Volk dan Wheeler (1993) menambahkan bahwa ada fase ini laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya, sehingga jumlah bakteri keseluruhan akan tetap. Keseimbangan jumlah keseluruhan bakteri ini terjadi karena adanya pengurangan derajat pembelahan sel. Hal ini disebabkan oleh kadar nutrisi yang berkurang dan terjadi akumulasi produk toksik sehingga mengganggu pembelahan sel. Pertumbuhan bakteri pada isolat ini tidak dipengaruhi secara signifikan oleh konsentrasi selenium ($p > 0,05$).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri memiliki pertumbuhan yang terdiri dari beberapa fase pertumbuhan yaitu fase lag, fase log, fase stasioner dan fase kematian. Pertumbuhan merupakan peristiwa pembelahan dan pembesaran sel. Pertumbuhan menunjukkan proses perubahan secara kuantitatif berupa penambahan jumlah sel, ukuran sel, sertalebar dari organisme yang sedang mengalami pertumbuhan. Adanya tahapan atau tingkat pertumbuhan pada makhluk hidup telah Allah SWT sampaikan pada firmanNya dalam QS. Al-Insyiqaaq ayat 19 yang berbunyi:

لَتَرْكَبُنَّ طَبَقًا عَن طَبَقٍ ﴿١٩﴾

Artinya: “*Sesungguhnya kamu melalui tingkat demi tingkat (dalam kehidupan)*”

Menurut tafsir Ibnu Katsir menjelaskan bahwa Imam al-Bikhari meriwayatkan dari Mujahid, dia berkata bahwa Ibnu Abbas mengatakan “*Sesungguhnya kamu melalui tingkat demi tingkat (dalam kehidupan)*”, yaitu satu keadaan ke keadaan yang lain. Dalam konteks pertumbuhan bakteri kalimat tersebut dapat dikatakan merupakan tahap pertumbuhan. Hasil penelitian ini

merupakan bukti kekuasaan Allah SWT, dimana manusia dapat melihat bagaimana Allah SWT menunjukkan tahapan-tahapan kehidupan dalam bakteri. Seperti yang ditunjukkan oleh bakteri resisten selenium yang dapat tumbuh dari fase log atau tahap adaptasi hingga fase kematian bakteri. Maha Suci Allah atas segala kekuasaan dan kebesaran-Nya, semoga dapat menjadi pelajaran bagi kita sebagai khalifah untuk semakin mendekatkan diri kepada Allah SWT.

4.4 Uji Akumulasi Bakteri Resiten Se

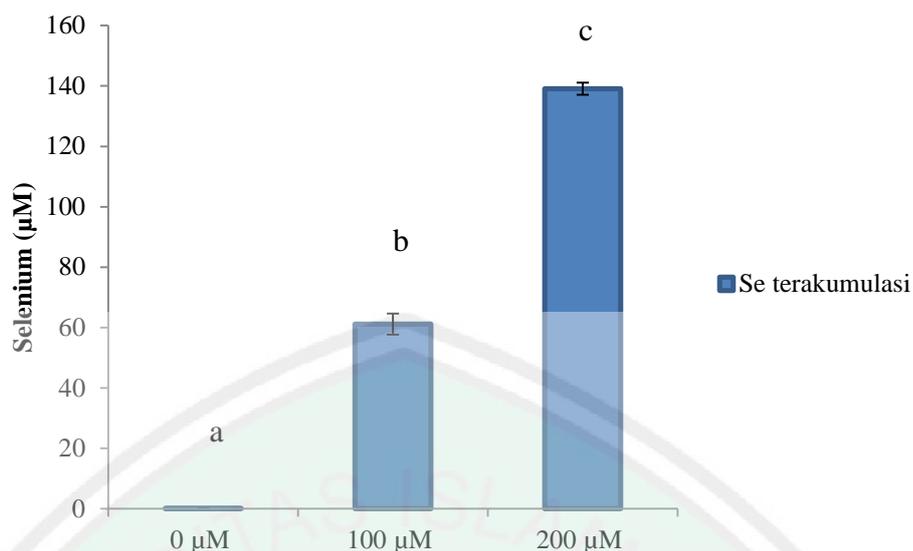
Bakteri yang resisten terhadap logam berat memiliki beberapa mekanisme bertahan hidup dari toksisitas logam diantaranya dengan proses bioakumulasi. Menurut Chipasa (2003) bioakumulasi oleh mikroorganisme dapat juga diartikan sebagai interaksi aktif antara logam berat dengan sel mikroorganisme dimana ion logam akan berperan ke dalam sel-sel mikroorganisme tersebut.

Dalam penelitian uji akumulasi dilakukan pada bakteri resisten selenium terpilih yaitu strain SNB-5. Hasil identifikasi lebih lanjut menggunakan *microbact* diketahui bahwa strain SNB-5 memiliki kemiripan 98,14% dengan *Pseudomonas diminuta*. Sejumlah selenium yang terakumulasi telah ditemukan pada bakteri strain SNB-5 ketika diberi perlakuan 0 mM (sebagai kontrol), 100 μ M dan 200 μ M natrium selenit pada media kultur. Akumulasi Se dalam bakteri bakteri strain SNB-5 dapat diketahui dengan suspensi sel bakteri diinokulasikan dalam tabung 10 mL yang mengandung 0 μ M, 100 μ M, dan 200 μ M natrium selenit dengan 3 kali ulangan. Isolat bakteri kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 25°C dengan kecepatan 130 rpm. Sampel sel bakteri diambil 10 ml dan disaring menggunakan kertas saring yang bebas abu. Residu yang diperoleh

dikeringkan dan diabukan pada suhu 400-600°C. Ditambahkan 50 ml 6 HCL dan 1 ml HNO₃ 60% kemudian disaring kembali. Filtrat jernih yang diperoleh dimasukan ke dalam AAS menggunakan pipa kapiler. Kemudian diukur akumulasi selenium dalam isolat bakteri dengan menggunakan SSA.

Adanya akumulasi selenium pada media kultur dapat diketahui secara visual dengan adanya perubahan warna media menjadi orange kemerahan dikarenakan adanya endapan berwarna merah. Hal ini dapat terjadi karena adanya perubahan selenium toksik (selenit) menjadi selenium elemental yang tidak toksik. Menurut Rathgeber *et al* (2002) bahwa bakteri resisten selenit berwarna orange kemerahan karena adanya akumulasi dari selenium elemental. Semakin tinggi konsentrasi selenium elemental pada media kultur maka semakin berwarna merah media kultur tersebut.

Data hasil analisis akumulasi selenium oleh bakteri strain SNB-5 menunjukkan bahwa dari ketiga perlakuan tersebut memiliki pengaruh nyata terhadap akumulasi selenium dengan p yang sama yaitu $<0,05$. Jika $p >0,05$ maka data tersebut tidak memiliki pengaruh nyata dan jika $p <0,05$ maka data tersebut berpengaruh nyata. Dan berdasarkan uji lanjut dari perlakuan 0 μ M, 100 μ M, dan 200 μ M memiliki memiliki notasi yang berbeda sehingga dari ketiga data tersebut memiliki data yang berbeda nyata dengan akumulasi selenium tertinggi terjadi pada kultur bakteri dengan perlakuan 200 μ M natrium selenit (Gambar 4.5) .



Gambar 4.5 Bioakumulasi Se oleh bakteri resisten-Se pada media yang mengandung 0, 100 dan 200µM natrium selenit. Notasi menunjukkan adanya perbedaan signifikansi perlakuan konsentrasi Se yang berbeda terhadap jumlah akumulasi Se oleh bakteri resisten Se, pada taraf Sig = 0,05

Bakteri strain SNB-5 dapat mengakumulasi lebih dari setengah konsentrasi perlakuan natrium selenit. Tingkat bioakumulasi Se meningkat seiring dengan konsentrasi natrium selenit. Pada strain SNB-5 dengan perlakuan 100 µM jumlah Se yang terakumulasi sebesar 61,1 µM dengan persentase selenium yang telah diakumulasi 60,7% dari konsentrasi perlakuan.

Tabel 4.5 Persentase akumulasi Se oleh bakteri resisten selenit

Konsentrasi Se (µM)	Jumlah Se terakumulasi (µM) ± SE	Persentase Se terakumulasi
0	0,127 ± 0	0 %
100	61,1 ± 2,01	60,7%
200	139,1 ± 1,13	69%

Dari Tabel 4.5 dapat diketahui bahwa pada perlakuan 200 μM bakteri strain SNB-5 memiliki persentase akumulasi selenium tertinggi dimana dapat mengakumulasi selenium hingga mencapai 69% dan jumlah selenium terakumulasi sebanyak 139,1 μM . Kemampuan bakteri strain SNB-5 ini dalam mengakumulasi Se lebih baik dibandingkan temuan sebelumnya dimana *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* masing-masing dapat mengakumulasi 3,1 μM , 4,8 μM dan 5,1 μM dari perlakuan 12,6 μM sodium selenit (Khousa *et al*, 2017). *Bifidobacterium animalis* 01 mampu mengakumulasi 16,7-39,6 % selenium pada perlakuan 0,03 μM -0,12 μM (Zhang *et al*, 2009). Bakteri lain yang dapat mengakumulasi selenium adalah *Enterococcus durans* yang mana memiliki persentase akumulasi selenium 2,70 - 5,68% (Pieniz *et al*, 2017).

Pada perlakuan 0 mM (kontrol) akumulasi Se pada strain SNB-5 terbilang paling rendah diandingkan 2 perlakuan lainnya yaitu sebanyak 0,127. Hal ini diduga karena pada perlakuan tersebut tidak diberikan penambahan selenit dan sehingga selenium yang ada pada bakteri tersebut merupakan selenium organik. Hal tersebut juga diperkuat dengan tidak adanya perubahan warna media menjadi kemerahan yang menunjukkan adanya perubahan selenit menjadi selenium elemental.

Akumulasi selenium pada organisme pengakumulasi selenium dan organisme bukan pengakumulasi selenium memiliki mekanisme yang berbeda. Pada organisme pengakumulasi selenium, Se dimetilasi dan ditransformasi ke dalam bentuk asam amino seleno non-toksik, seperti methyl asam selenik (MSA) dan metil selenocysteine (MSC). Senyawa-senyawa tersebut merupakan bentuk

dominan senyawa Se yang disimpan dan hanya dihasilkan oleh organisme pengakumulasi Se. Oleh karena itu, akumulasi senyawa tersebut dianggap merupakan dasar toleransi resisten terhadap toksisitas selenium. Sementara pada organisme yang bukan pengakumulasi selenium, Se diserap dan diinkorporasikan secara nonspesifik ke dalam senyawa organiknya yang mengandung sulfur. Hal ini berkontribusi terhadap toksisitas Se pada organisme tersebut. Oleh karena itu, organisme pengakumulasi selenium yang mampu mengubah selenium toksik menjadi Se non-toksik dapat dimanfaatkan untuk bioremediasi lingkungan (Triana dkk, 2010).

Pengujian kemampuan bakteri sebagai bioakumulasi selenium pada penelitian ini merupakan salah satu upaya manusia dalam memperbaiki kerusakan lingkungan karena adanya pencemaran selenium. Karena pada hakikat manusia merupakan khalifah di bumi ini. Manusia diciptakan oleh Allah sebagai khalifah di bumi yang mempunyai tugas untuk memelihara, memanfaatkan dan menjaga kelestarian lingkungan. Kerusakan disebabkan oleh manusia, akan tetapi manusia juga mempunyai tanggung jawab atas kerusakan yang diakibatkannya. Allah SWT berfirman dalam QS. Ar-Ruum ayat 41:

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

Artinya: “Telah nampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebahagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar”.

Ayat diatas menjelaskan bahwa kerusakan yang kita rasakan saat ini baik di darat maupun di laut merupakan akibat dari kegiatan, aktivitas atau kebijakan manusia yang tidak mengindahkan pada keberlangsungan kehidupan. Namun sebagai khalifah manusia juga mempunyai upaya dalam mengatasi kerusakan yang telah diperbuat dengan mengadakan perbaikan. Ini merupakan bentuk anugerah akal yang diberikan oleh Allah SWT kepada manusia, oleh karena itu manusia sebagai khalifah harus memiliki suatu tindakan untuk mengatasinya sebagai wujud syukur kepada Allah SWT dan sebagai wadah untuk mengembangkan ilmu pengetahuannya.

Keimanan seseorang tidak hanya diukur dari banyaknya ritual di tempat ibadah. Tapi juga menjaga dan membersihkan lingkungan merupakan hal yang sangat fundamental dalam kesempurnaan iman seseorang. Tidak sempurna iman seseorang jika tidak peduli lingkungan. Demikian tersebut telah beliau tegaskan dalam sabdanya yang diriwayatkan oleh Imam Muslim.

Dari Abu Malik al-Asy'ari berkata, Rosulullah bersabda:
Kebersihan adalah sebagian dari iman (HR. Muslim).

Hadis tersebut menunjukkan bahwa kebersihan sebagai salah satu elemen dari pemeliharaan lingkungan merupakan bagian dari iman. Apalagi dalam tinjauan qiyas aulawi, menjaga lingkungan secara keseluruhan, sungguh benar – benar yang sangat terpuji di hadapan Allah. *Tidak sempurna iman seseorang jika tidak peduli lingkungan.* Keberimanan seseorang tidak hanya diukur dari banyaknya ritual di tempat ibadah. Tapi juga menjaga dan memelihara lingkungan merupakan hal yang sangat fundamental dalam kesempurnaan iman seseorang (Harahap, 2016).

Pelajaran yang dapat diambil dalam penelitian ini sebagai seorang ahli biologi adalah pemanfaatan bakteri sebagai agen bioremediasi yang mampu mengakumulasi dan mengurangi tingkat pencemaran selenium di lingkungan sehingga dapat mengurangi tingkat kematian biota dan organisme perairan, serta dapat mengembalikan keseimbangan lingkungan hidup. Dari temuan ini mengajarkan agar sebagai ahli biologi untuk bertauhid dan berakhlak melalui sains. Hal ini karena mengingat manusia adalah khalifah yang mempunyai kewajiban dalam menjaga lingkungan sekitar dan alam pada umumnya. Dengan adanya penelitian ini, sebagai seorang khalifah dapat mengetahui kebesaran Allah dan meningkatkan ketakwaan kita kepada Allah SWT.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian ini maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Hasil pemilihan isolat bakteri didapatkan sembilan isolat bakteri gram negatif resisten selenit yang telah diisolasi dari Pantai Sendang Biru. Berdasarkan uji resistensi menggunakan selenat diketahui bahwa strain SNB-5 mempunyai resistensi tertinggi terhadap selenate dibandingkan strain bakteri lainnya. Identifikasi lebih lanjut dengan menggunakan *Microbact* diketahui bahwa strain SNB-5 memiliki kemiripan dengan *Pseudomonas diminuta* yang memiliki kemampuan resisten selenit dan selenat.
2. Uji akumulasi bakteri strain SNB-5 pada konsentrasi 100 μM Na_2SeO_3 dapat mengakumulasi selenium sebesar 61,1 μM dengan persentase selenium terakumulasi 60,7%. Pada konsentrasi 200 μM jumlah selenium yang terakumulasi pada bakteri 129,1 μM dengan persentase selenium yang telah diakumulasi 69% dari konsentrasi perlakuan.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat dikemukakan beberapa saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukannya identifikasi bakteri resisten selenium secara molekuler untuk mengkonfirmasi hasil identifikasi dengan uji biokimia.
2. Menguji lebih lanjut kemampuan isolat bakteri resisten selenium lainnya yang telah diisolasi dari Pantai Sendang Biru.
3. Melakukan uji resistensi bakteri dengan menggunakan variasi pengaruh pH dan suhu agar bakteri resisten selenium nantinya dapat benar-benar berpotensi sebagai agen bioremediasi lingkungan.



DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, R. 2004. *Kimia Lingkungan*. Yogyakarta: Penerbit ANDI
- Adam, M. R. 2001. *Microbiology of Fermented Food*. New York: Elsevier Applied Science Publisher Ltd.
- 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.
- Arifin, A. R. 2006. *Perencanaan Daya Mesin Kapal Ikan Yang Telah Dilengkapi Cold Storage Untuk Daerah Sendang Biru*. www.mysciencework.com. Diakses pada tanggal 3 Mei 2017.
- Arunakumara, K. K. I. U., & Zhang, X. 2008. Heavy Metal Bioaccumulation and Toxicity with Special Reference to Microalgae. *Journal of Ocean University of China*, 7(1), 60-64.
- Avendano, R., Chaves, N., Fuentes, P., Sánchez, E., Jiménez, J. I., & Chavarría, M. (2016). Production of selenium nanoparticles in *Pseudomonas putida* KT2440. *Scientific reports*, 6, 37155.
- 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.
- Balai Kepegawaian Daerah (BKD) Kabupaten Malang. 2015. Peta Kabupaten Malang. www.bkd.malangkab.go.id. Diakses pada 20 Mei 2017.
- 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.
- Butler, C. S., Debieux, C. M., Dridge, E. J., Splatt, P., & Wright, M. 2012. Biomineralization of Selenium by The Selenate-Respiring Bacterium *Thauera selenatis*. *Soc. Trans.* 40, 1239-1243.
- Chapman, P. M., Adams, W. J., Brooks, M. L., Delos, C. G., Luoma, S. N., Maher, W. A., Ohlendorf H. M., Presser, T. S., Shaw, D. P. 2009. Ecological Assessment of Selenium in The Aquatic Environment. In *Summary of the SETAC Pellston Workshop on Ecological Assessment of Selenium in the Aquatic Environment*.

- Chipasa, K. B. 2003. Accumulation and Fate of Selected Heavy Metals in a Biological Wastewater Treatment System. *Waste Management*, 23(2), 135-143.
- Combs, G. F., Garbisu, C., Yee, B. C., Yee, A., Carlson, D. E., Smith, N. R., Magyarosi, A. C., Leighton, T., & Buchanan, B. B. 1996. Bioavailability of Selenium Accumulated by Selenite-Reducing Bacteria. *Biological Trace Element Research*, 52(3), 209-225.
- Conel, Des W. dan Miller G. J. Diterjemahkan Koestoer, Yanti. 2006. *Kimia dan Ekotoksikologi pencernaan*. Jakarta: UI Press
- Cotton, A dan Wilkinson, G. 1989. *Kimia Anorganik Dasar*. Jakarta: UI Press
- Dilaga, SH. 1992. *Nutrisi Mineral Pada Ternak. Kajian Khusus Unsur Selenium*. Jakarta: Akademika Presindo.
- Dodig, S., dan Cepelak, I. 2004. The Fact and Controverses About Selenium. *Acta Pharm.* 54: 261-276.
- Dumont, E. 2006. *Hyphenated Techniques For Speciation Of Se In Biological Matrices* (Doctoral dissertation, Ghent University).
- Dwidjoseputro. 1994. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan. Jakarta.
- EPA. 2016. *Aquatic Life Ambient Water Quality Criterion for Selenium In Freshwater 2016-Fact Sheet*. United State Environmental Protection Agency.
- Febriyansari, A.N. 2008. Penerapan Model Gompertz Pada pertumbuhan Bakteri *L.acidophilus* dan *B. Longum* Di Media Adonan Es Krim (Ice Cream Mix atau ICM) Jenis Standar. *Skripsi*. Malang: Universitas Brawijaya
- Fordyce, F. M. 2013. Selenium Deficiency and Toxicity in The Environment. *Essentials of Medical Geology* (pp. 375-416).
- 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.
- Garbisu, C., Ishii, T., Leighton, T., & Buchanan, B. B. 1996. Bacterial Reduction of Selenite to Elemental Selenium. *Chemical geology*, 132(1-4), 199-204.
- Hadioetomo, R.S. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek: Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Hageman S.P., Van der Weijden RD, Weijma J., Busiman, CJ. (2013) Microbiological Selenate to Selenite Conversion for Selenium Removal. *Water Res*, 47 (7): 2118-28.

- Handartoputra, A., Purwanti, F., Hendrarto, B. 2015. Penilaian Kerentanan Pantai Di Sendang Biru Kabupaten Malang Terhadap Variabel Oceanografi Berdasarkan Metode CVI (*Coastal Vulnerability Index*). *Management of Aquatic Resources*, 4(1)
- Harahap, KH. Burhanudin. 2016. Untaian Hikmah Lingkungan (Pengelolaan Sumber Daya Alam dan Lingkungan Menurut Al-Quran, Hadist dan Kitab Salaf. Berau: Recoft dan Yakobi.
- Hattori, H., Kimura, M., Nakaguchi, Y., & Hiraki, K. 1999. Biogeochemical Study on Selenium in The Indian Ocean. *Kinki Daigaku Rikogakubu Kenkyu Hokoku*, 35, 73-78.
- Hunter, W. J., & Manter, D. K. (2009). Reduction of selenite to elemental red selenium by *Pseudomonas* sp. strain CA5. *Current microbiology*, 58(5), 493-498.
- Hutabarat, S., dan Evans, S. M. 2008. *Pengantar Oseanografi*. Jakarta: UI Press
- 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.
- Jafvert, C. T., & Rogers, J. E. (Eds.). (1991). *Biological remediation of contaminated sediments with special emphasis on the Great Lakes: report of a workshop, Manitowoc, Wisconsin, July 17-19, 1990*. Environmental Research Laboratory, Office of Research and Development, US Environmental Protection Agency.
- 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.
- Ji, S. Xia, J., dan Xu, H. 2016. Dynamic Chemistry of Selenium: Se-N and Se-Se Dynamic Covalent Bond In Polymeric System. *American Chemical Society Macro Letters*. 5. 78-82
- Johansson, L., Gafvelin, G., & Arnér, E. S. 2005. Selenocysteine in Proteins—properties and Biotechnological Use. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1726(1), 1-13
- 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, A., Heulin, T., & Vermeglio, A. 2005. Selenite and Tellurite Reduction by *Shewanella oneidensis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(9), 5607-5609.
- Kousha, M., Yeganeh, S., & Amirkolaie, A. K. (2017). Effect of sodium selenite on the bacteria growth, selenium accumulation, and selenium biotransformation in *Pediococcus acidilactici*. *Food Science and Biotechnology*, 26(4), 1013-1018.
- Kristyarini, A. S., Ramdlani, S., & Soekirno, A. (2015). Konsep Ekologi-Teknik Pada Perancangan Resort Di Pantai Sendang Biru Malang. *Jurnal Mahasiswa Jurusan Arsitektur*, 3(1).
- Kurniawan, A., & Ekowati, N. 2016. Review: Potensi Mikoremediasi Logam Berat. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 3(1), 36-45.
- Kusmana, Felix. 2017. Selenium: Peranannya Dalam Berbagai Penyakit Dan Alergi. *IAI*, 44(4)
- Lawrence, D. 1998. *Pengelolaan Wilayah Pesisir dan Lautan Secara Terpadu*. (Alih Bahasa: Mack.T dan Anggraeni, MS) Buku Pedoman Teori dan Praktek Untuk Peserta Pelatihan. USAID. Department of The Environment.
- Lehninger, A. L. (1995). *Dasar-dasar Biokimia*. Alih bahasa : Maggy Thewijaya. Jakarta : Penerbit Erlangga.
- Lemly, A. D. 2004. Aquatic Selenium Pollution Is A Global Environmental Safety Issue. *Ecotoxicology And Environmental Safety*, 59(1), 44-56.
- Lim, D. 2006. *Microbiology*. New York: McGraw-Hill.
- Linder, M. C. 2010. *Biokimia Nutrisi dan Metabolisme*. Jakarta: UI Press
- Lu, F. C. diterjemahkan Edi Nugroho. 2010. *Toksikologi Dasar*. Jakarta: UI Press
- Malangkab. 2017. *Pantai Sendang Biru Dan Pulau Sempu Kecamatan Sumber Manjing Wetan*. www.malangkab.go.id/site/read/273/pantai-sendang-biru-dan-pulau-sempu-kecamatan-sumber-manjing-wetan.html. Diakses pada tanggal 4 Mei 2017 pukul 01.30 WIB
- McCready, R. G. L., Campbell, J. N., & Payne, J. I. 1966. Selenite Reduction by *Salmonella heidelberg*. *Canadian Journal of Microbiology*, 12(4), 703-714.

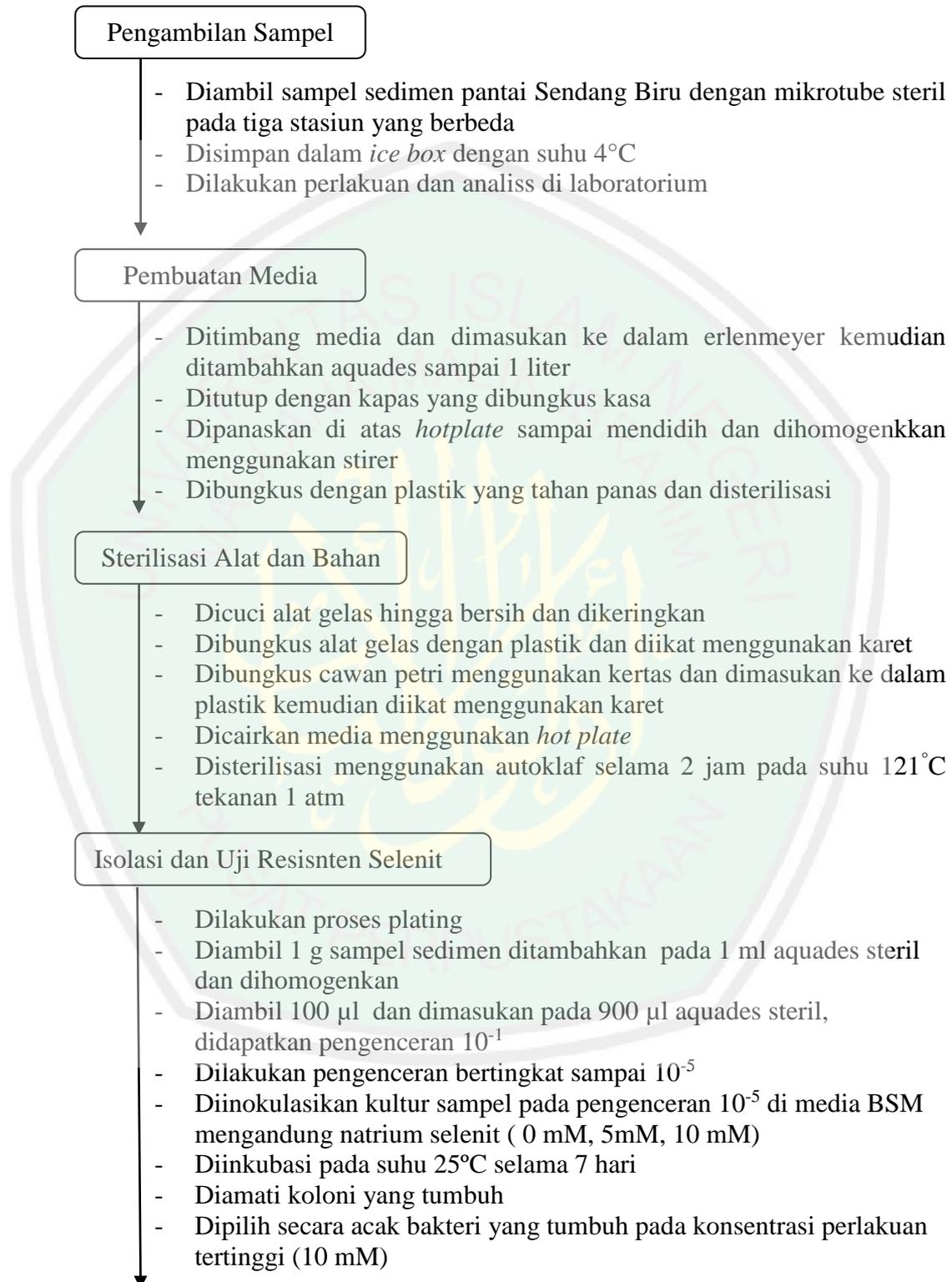
- Mehdi, Y., Hornick, J. L., Istasse, L., & Dufrasne, I. 2013. Selenium In The Environment, Metabolism And Involvement In Body Functions. *Molecules*, 18(3), 3292-3311.
- Miller, R. 2006. *The Elements what you Really Want To Know*. Amerika: Twenty Fierst Century Book
- Mukono H. J. 2005. *Toksikologi lingkungan*. Surabaya: Airlangga University Press
- Munawar, A. 2012. *Monograf Tinjauan Proses Bioremediasi*. Surabaya: UPN Veteran Jawa Timur
- Muyasar. 2007. *Tafsir Muyasar (Jilid 4)*. Jakarta: Qhisti Press
- Nancharaiah, 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., & Haggblom, 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*. Bandung: ITB Press
- Ogle, R. S., & Knight, A. W. 1996. Selenium Bioaccumulation In Aquatic Ecosystems: 1. Effects of Sulfate On The Uptake And Toxicity of Selenate In *Daphnia magna*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 30(2), 274-279.
- Oremland, R. S., Steinberg, N. A., Presser, T. S., & Miller, L. G. 1991. In Situ Bacterial Selenate Reduction In The Agricultural Drainage Systems Of Western Nevada. *Applied and environmental microbiology*, 57(2), 615-617.
- Oxoid. 2004. *Gram Negative Identifivation System*. www.oxoid.com/uk/indek. Diakses pada tanggal 18 Mei 2017.
- Pearce, C. I., Coker, V. S., Charnock, J. M., Patrick, R. A., Mosselmans, 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, M. J. 2008. *Dasar-dasar mikrobiologi 1*. Jakarta: UI Press.
- Pieniz, S., Andrezza, R., Anghinoni, T., Camargo, F., & Brandelli, A. (2014). Probiotic potential, antimicrobial and antioxidant activities of *Enterococcus durans* strain LAB18s. *Food Control*, 37, 251-256.

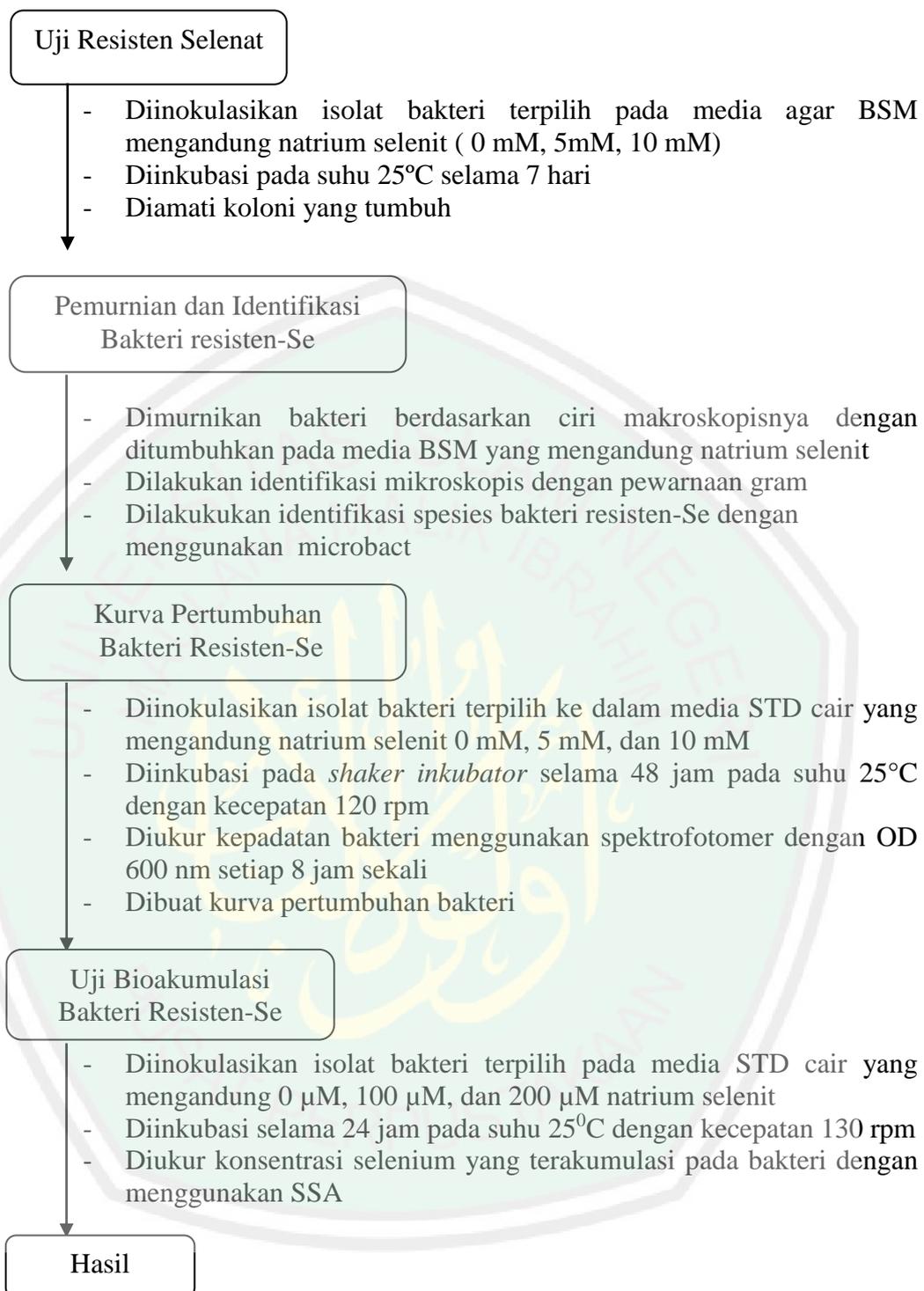
- Prasetyo, H. 2006. Kandungan Selenium Total Dalam Bakteri Termofilik Terseleksi Dari Sumber Air Panas. *Skripsi*. Program Studi Biokimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor
- Priadie, B. 2012. Teknik Bioremediasi Sebagai Alternatif Dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Air. *Jurnal ilmu lingkungan*, 10(1), 38-48.
- Priadie, B. T. 2012. Bioremediasi Sebagai Alternatif Dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Air. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. Vol. 10. Issue 1: 38-48.
- Purwoko. T. 2007. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: Bumi Aksara
- Rathgeber, C., Yurkova, N., Stackebrandt, E., Beatty, J. T., & Yurkov, V. (2002). Isolation of tellurite-and selenite-resistant bacteria from hydrothermal vents of the Juan de Fuca Ridge in the Pacific Ocean. *Applied and environmental microbiology*, 68(9), 4613-4622.
- Romaidi dan Ueki T. 2016. Bioaccumulation Of Vanadium By Vanadium-Resistant Bacteria Isolated From The Intestine Of *Ascidia sydneiensis samea*. *Marine biotechnol*, 18(3),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.
- 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
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati Press
- Soemirat, J. 2009. *Toksikologi Lingkungan*. Yogyakarta: UGM Press
- Suryani, Y. 2011. Bioremediasi Limbah Merkuri Dengan Menggunakan Mikroba Pada Lingkungan Yang Tercemar. *Mikrobiologi*,5(1-2)
- Tanaka, M., Knowles, W., Brown, R., Hondow, N., Arakaki, A., Baldwin, S., Stanland, S., & Matsunaga, T. 2016. Biomagnetic Recovery and Bioaccumulation of Selenium Granules in Magnetotactic Bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 82(13), 3886-3891.
- Thavasi, R., Sharma, S., & Jayalakshmi, S. (2011). Evaluation of screening methods for the isolation of biosurfactant producing marine bacteria. *J. Pet. Environ. Biotechnol. S, 1*, 1-6.
- Tomei, F. A., Barton, L. L., Lemanski, C. L., Zocco, T. G., Fink, N. H., & Sillerud, L. O. (1995). Transformation of selenate and selenite to

- elemental selenium by *Desulfovibrio desulfuricans*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 14(3), 329-336.
- Triana, E., Nurhidayat, N., Yulinery, T., Kasim, E., & Dewi, R. M. 2010. Identifikasi Gen Selenometil Transferase (Smt) 1 Pada isolat *Geobacillus* sp. 20K Yang Resisten Terhadap Selenium [Identification of Selenomethyltransferase (smt) Gene from *Geobacillus* sp. 20k Resistant to Selenium]. *Berita Biologi*, 10(3).
- Van, Hullebusch E. D. (2017). *Bioremediation OF Selenium Contaminated Wastewater*. Perancis: Universitas Paris Est.
- Vidali, M. 2001. Bioremediation. An Overview. *Pure And Applied Chemistry*, 73(7), 1163-1172.
- Volk dan Wheeler. 1993. *Analisis Praktikum Mikrobiologi Umum untuk Perguruan Tinggi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Waluyo, Lud. 2009. *Mikrobiologi Lingkungan*. Malang: UMM Press
- Wardhana, W.A. 1999. *Dampak Pencemaran Lingkungan*. Yogyakarta: Andi Offset
- William philip, dan Burson, James L. eds. 1985. *Industrial Toxicology. Safety and Health Application In The Workplace*. New York.: Van Nostrand Reinhold Co
- Wu, L. 2004. Review Of 15 Years Of Research On Ecotoxicology And Remediation Of Land Contaminated By Agricultural Drainage Sediment Rich In Selenium. *Ecotoxicology And Environmental Safety*, 57(3), 257-269.
- Yajid, M. 2007. Kajian Pemanfaatan Bakteri Hasi Isolasi Sebagai Agen Bioremediasi Radionuklida Uranium Di Lingkungan. *Jurnal Prosiding PPI*. ISSN 0216-3128.
- Yamada, A., Miyashita, M., Inoue, K., & Matsunaga, T. (1997). Extracellular reduction of selenite by a novel marine photosynthetic bacterium. *Applied microbiology and biotechnology*, 48(3), 367-372.
- Yanke, L. J., Bryant, R. D., & Laishley, E. J. 1995. Hydrogenase I of *Clostridium pasteurianum* Functions As A Novel Selenite Reductase. *Anaerobe*, 1(1), 61-67.
- Zhang, B., Zhou, K., Zhang, J., Chen, Q., Liu, G., Shang, N., Qin, W., Li, P., & Lin, F. (2009). Accumulation and species distribution of selenium in Selenium-enriched bacterial cells of the *Bifidobacterium animalis* 01. *Food Chemistry*, 115(2), 727-734.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Metode Kerja





Lampiran 2. Persiapan Sediaan Larutan Natrium Selenit (Na_2SeO_3)

1. Pembuatan Larutan Stok Natrium Selenit (Na_2SeO_3) 100 mM

Masa molar Natrium Selenit (Na_2SeO_3) \rightarrow 173 g/mol

$$1 \text{ M} = 1000 \text{ mM} \rightarrow 173 \text{ g/L}$$

$$\begin{aligned} 100 \text{ mM} &= \frac{173 \text{ g/L}}{10} \\ &= 17,3 \text{ g/L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 1 \text{ L atau } 1000 \text{ mL} &= \frac{17300 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} \\ &= 17,3 \text{ g/L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 100 \text{ mL} &= \frac{17,3 \text{ g}}{10} \\ &= 1,73 \text{ g} \end{aligned}$$

Jadi, cara untuk membuat larutan stok 100 mM dalam 100 mL yaitu dengan menimbang natrium selenit sebanyak 1,73 g, kemudian dilarutkan pada 100 mL aquades dan dihomogenkan. Selanjutnya larutan stok dipindah ke dalam tabung sentrifus steril menggunakan milipore dan spuit agar terhindar dari kontaminan.

2. Pembuatan Larutan perlakuan natrium selenit

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

$$V1.M1 = V2.M2$$

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 selenit

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

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

$$\begin{aligned} V1 &= \frac{100}{100} \\ &= 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

❖ Pembuatan larutan perlakuan 10 mM natrium selenit

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

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

$$\begin{aligned} V1 &= \frac{200}{100} \\ &= 2 \text{ ml} \end{aligned}$$

3. Pembuatan Perlakuan Pada Media Cair (3 ml)

Perlakuan	Volume media	Volume bakteri	Volume Se
0 mM	2.970 μ l	30 μ l	0
5 mM	2820 μ l	30 μ l	150 μ l
10 mM	2670 μ l	30 μ l	300 μ l

❖ Perlakuan 10 mM

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

$$V1 \cdot 100 \text{ mM} = 3 \text{ ml} \cdot 10 \text{ mM}$$

$$\begin{aligned} V1 &= \frac{30}{100} \\ &= 0,3 \text{ ml} \\ &= 300 \mu\text{l} \end{aligned}$$

❖ Perlakuan 5 mM

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

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

$$\begin{aligned} V1 &= \frac{15}{100} \\ &= 0,15 \text{ ml} \\ &= 150 \mu\text{l} \end{aligned}$$

4. Pembuatan perlakuan pada media agar miring (3 ml)

Perlakuan	Volume media	Volume Se	Volume bakteri
0 mM	3.000 μ l	0 μ l	1 ose
5 mM	2.850 μ l	150 μ l	1 ose
10 mM	2.700 μ l	300 μ l	1 ose

5. Pembuatan kultur kurva pertumbuhan bakteri (25 ml)

Perlakuan	Volume media	Volume Se	Volume bakteri
0 mM	24,75 ml	0 ml	0,25 ml
5 mM	23,5 ml	1,25 ml	0,25 ml
10 mM	22,5 ml	2,5 ml	0,25 ml

❖ Perlakuan 10 mM

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

$$V1 \cdot 100 \text{ mM} = 25 \text{ ml} \cdot 10 \text{ mM}$$

$$V1 = \frac{250}{100}$$

$$= 2,5 \text{ ml}$$

❖ Perlakuan 5 mM

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

$$V1 \cdot 100 \text{ mM} = 25 \text{ ml} \cdot 5 \text{ mM}$$

$$V1 = \frac{125}{100}$$

$$= 1,25 \text{ ml}$$

6. Pembuatan media akumulasi Se (30 ml)

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

Vol. bakteri : media

1 : 99

❖ Perlakuan 10 mM

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

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

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

$$= 3 \text{ ml}$$

❖ Perlakuan 5 mM

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

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

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

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

7. Konversi molar (M)

$$\text{Ppm} = \text{mg/L}$$

$$M = \text{mol/L}$$

$$= \frac{\text{gr/mr}}{L}$$

$$\text{Mol} = \text{g/mr}$$

Contoh: 2,08 ppm

$$2,08 \text{ ppm} = 2,08 \text{ mg/L}$$

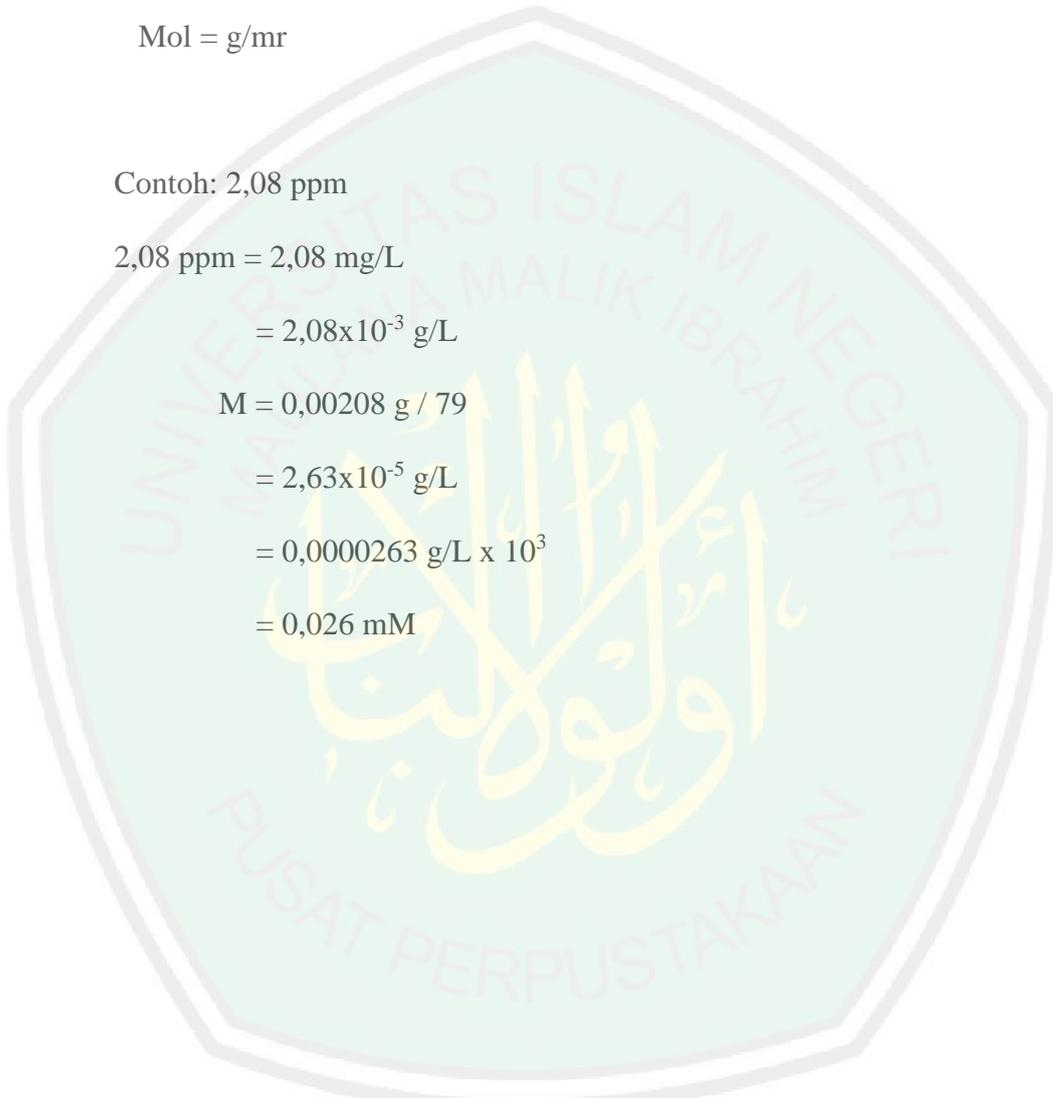
$$= 2,08 \times 10^{-3} \text{ g/L}$$

$$M = 0,00208 \text{ g} / 79$$

$$= 2,63 \times 10^{-5} \text{ g/L}$$

$$= 0,0000263 \text{ g/L} \times 10^3$$

$$= 0,026 \text{ mM}$$



Lampiran 3. Hasil Identifikasi Bakteri Menggunakan Microbact

no	karateristik	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	gelatine	+
17	malonat	-
18	inositol	-
19	sorbitol	-
20	rhamnose	-
21	sukrosa	-
22	laktosa	-
23	arabinosa	-
24	adonitol	-
25	raffinosa	-
26	salisin	-
27	arginin	-
28	pewarna gram	Negatif
29	bentuk	Batang
Spesies	<i>Pseudomonas diminuta</i>	

Lampiran 4. Nilai Absoransi (OD) Pada Kurva Pertumbuhan Bakteri

Tabel 1. Hasil OD kurva pertumbuhan bakteri resisten-Se

konsentrasi	jam ke-	OD ulangan ke-			rerata	St.Dev	SE
		1	2	3			
0 mM	0	0.006	0.004	0.005	0.005	0.001	0.00057
	8	1.864	1.868	1.864	1.865	0.002309401	0.001333
	16	1.872	1.871	1.871	1.871	0.00057735	0.000333
	24	1.963	1.967	1.965	1.965	0.002	0.001155
	32	2.015	2.018	2.012	2.015	0.003	0.001732
	40	2.004	2.007	2.003	2.005	0.002081666	0.001202
	48	1.964	1.953	1.948	1.955	0.008185353	0.004726
5 mM	0	0.009	0.009	0.009	0.009	0	0
	8	1.877	1.867	1.867	1.87	0.005773503	0.003333
	16	1.882	1.873	1.877	1.877	0.00450925	0.002603
	24	1.884	1.884	1.884	1.884	0	0
	32	1.921	1.922	1.917	1.92	0.002645751	0.001528
	40	1.895	1.894	1.896	1.895	0.001	0.000577
	48	1.889	1.889	1.888	1.889	0.00057735	0.000333
10 mM	0	0.002	0.002	0.004	0.002667	0.001155	0.00067
	8	1.855	1.856	1.857	1.856	0.001	0.000577
	16	1.874	1.87	1.872	1.872	0.002	0.001155
	24	1.906	1.909	1.907	1.907333	0.001527525	0.000882
	32	1.927	1.927	1.926	1.926667	0.00057735	0.000333
	40	1.909	1.915	1.915	1.913	0.003464102	0.002
	48	1.88	1.876	1.88	1.879	0.002309401	0.001333

Tabel 2. Hasil perhitungan standart deviasi kurva pertumbuhan bakteri resisten-Se

Waktu	Konsentrasi			STDEV	SE
	0 mM	5 mM	10 mM		
0 jam	0.005	0.009	0.002667	0.003203	0.001849
8 jam	1.865	1.856	1.87	0.006364	0.003674
16 jam	1.871	1.872	1.877	0.000707	0.000408
24 jam	1.965	1.907	1.884	0.041012	0.023678
32 jam	2.015	1.927	1.92	0.062225	0.035926
40 jam	2.005	1.913	1.895	0.065054	0.037559
48 jam	1.955	1.879	1.889	0.05374	0.031027

Lampiran 5. Data Hasil Uji Bioakumulasi Bakteri Resisten-Se

Tabel 1. Nilai absorbansi uji bioakumulasi menggunakan SSA

konsentrasi	ulangan			rerata	STDEV	SE
	1	2	3			
0	0.127	0.127	0.126	0.126667	0.000577	0.000333
100 μ m	57.72152	64.68354	60.88608	61.09705	3.485804	2.01253
200 μ m	141.8987	137.9747	139.8734	139.9156	1.962366	1.132972

Konsentrasi	Persentase (%)			rerata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
0 mM	0	0	0	0
0.1 mM	58	64	60	60.66667
0.2 mM	70	68	69	69

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

a. Pengambilan Sampel



Sampel sedimen
pantai Sendang
Biru



Lokasi pengambilan
sampel

b. Isolasi Sampel



Proses pembuatan stok
selenium



Penuangan media pada
cawan petri



pengenceran sampel
dengan pengenceran
bertingkat



Proses isolasi bakteri
menggunakan metode
spread plate

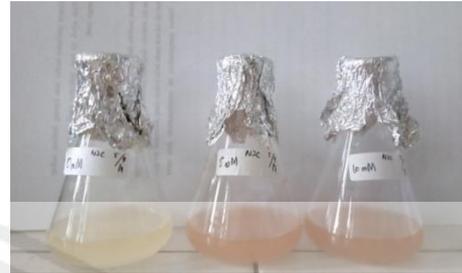


Hasil isolasi setelah 7
hari inkubasi

c. Uji resistensi selenium



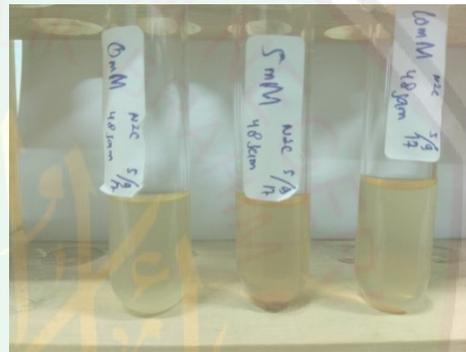
Proses subkultur ke STD media



warna merah pada inokulum bakteri menunjukkan adanya selenium elemental



Proses pengukuran absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer

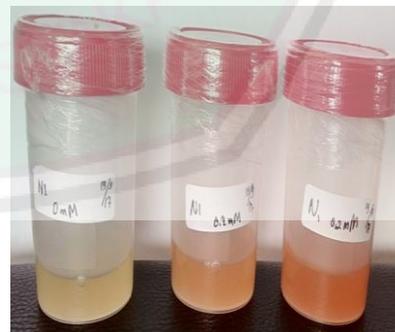


Inokulum bakteri pada media STD umur 48 jam

d. Uji akumulasi selenium



Inokulasi bakteri resisten Se ke media STD untuk uji



Inokulum bakteri pada media STD uji akumulasi

Lampiran 7. Hasil Analisis Statistik

A. Uji Bioakumulasi Selenium

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		kadar akumulasi selenium
N		9
Normal Parameters ^a	Mean	67.04611
	Std. Deviation	60.727312
Most Extreme Differences	Absolute	.212
	Positive	.198
	Negative	-.212
Kolmogorov-Smirnov Z		.636
Asymp. Sig. (2-tailed)		.814
a. Test distribution is Normal.		

Test of Homogeneity of Variances			
kadar akumulasi selenium			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.686	2	6	.147

ANOVA					
kadar akumulasi selenium					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	29470.449	2	14735.224	2.763E3	.000
Within Groups	32.003	6	5.334		
Total	29502.452	8			

kadar akumulasi selenium				
Duncan				
konse ntrasi seleni um	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	3	.12667		
100	3		61.09667	
200	3			139.9150
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

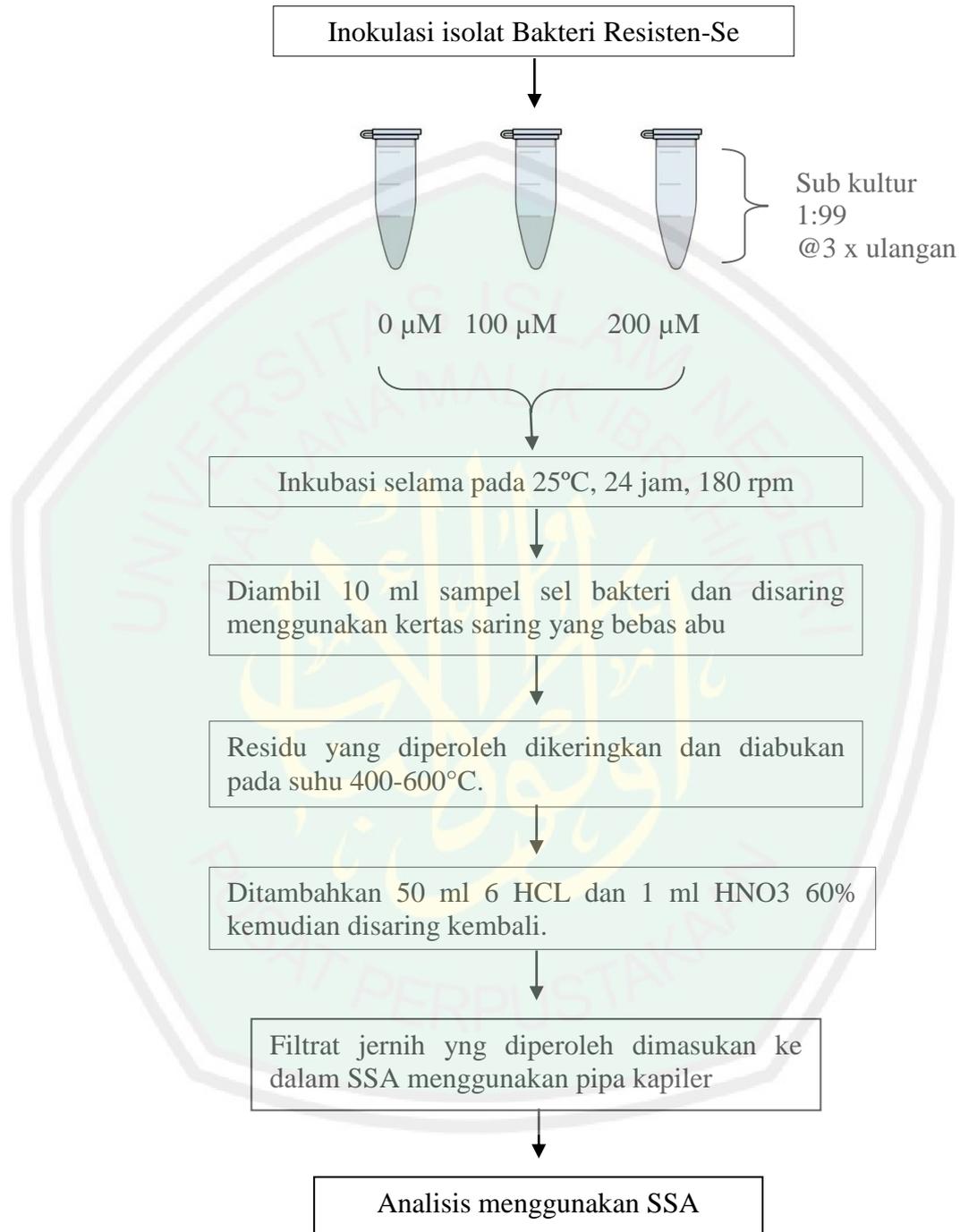
B. Pertumbuhan Bakteri

Test of Homogeneity of Variances			
kurva pertumbuhan bakteri			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.005	2	60	.995

ANOVA					
kurva pertumbuhan bakteri					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.029	2	.014	.031	.970
Within Groups	28.093	60	.468		
Total	28.121	62			

Lampiran 8. Prosedur Isolasi dan Uji Resistensi Selenium



Lampiran 9. Uji Bioakumulasi Bakteri Resisten-Se Terpilih

Lampiran 10. Hasil Uji Akumulasi Se

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



REPORT

Certificate of Analysis

No. : 07030/KI/IX-2017
 Code : Penelitian
 Sampel Sender : Mhs.Bio UIN Malang
 Sampel Name : Bakteri air Selenium - N
 Test : Se
 Sampel Brand :
 Sampel Identity : Cairan keruh
 Sampel Accepted :

Chemical laboratory test result is :

Kode	Se, ppm		
	1.	2.	3.
0,1	4,56	5,11	4,81
0,2	11,21	10,900	11,05
0,0		0,01	

Surabaya, 26 Sept.2017

Chemical Laboratory Reseracher



Drs. M. Fatoni, MS

Laboratory Office Jl. Ketintang Baru XVII No. 14
 Fax / Telp. 031-8281941, Bank BCA – Bank Jatim
 Surabaya



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

**BUKTI KONSULTASI
SKRIPSI**

Nama : Magstin Najla Safura
NIM : 13620072
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil/ Genap TA 2017/2018
Pembimbing : M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
Judul Skripsi : Uji Kemampuan Bakteri Resisten Selenium Dalam Mengakumulasi Selenium Dari Pantai Sendang Biru Malang

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd.
1	3 Juni 2017	Konsultasi Bab I, II, dan III	
2	10 Juni 2017	Revisi Bab I II, dan III	
3	13 Juni 2017	ACC Bab I, II dan III	
4	15 November 2017	Konsultasi Bab IV	
5	20 November 2017	Revisi Bab IV	
6	11 Desember 2017	Konsultasi Naskah Keseluruhan	
7	20 Desember 2017	ACC Naskah Keseluruhan	

Pembimbing Skripsi,

M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIPT. 201402011409

Malang, 04 Desember 2018
Ketua Jurusan,

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



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

**BUKTI KONSULTASI
SKRIPSI**

Nama : Magstin Najla Safura
NIM : 13620072
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil/ Genap TA 2017/2018
Pembimbing : Romaidi, M, Si.,D.Sc
Judul Skripsi : Uji Kemampuan Bakteri Resisten Selenium Dalam Mengakumulasi Selenium Dari Pantai Sendang Biru Malang

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	8 Maret 2017	Konsultasi judul	<i>[Signature]</i>
2	5 Mei 2017	Konsultasi Bab I	<i>[Signature]</i>
3	12 Mei 2017	Revisi Bab I	<i>[Signature]</i>
4	26 Mei 2017	Konsultasi Bab II dan Bab III	<i>[Signature]</i>
5	31 Mei 2017	Revisi Bab II dan Bab III	<i>[Signature]</i>
6	6 Juni 2017	ACC Bab I, II, dan III	<i>[Signature]</i>
7	6 Oktober 2017	Konsultasi Bab IV	<i>[Signature]</i>
8	30 Oktober 2017	Revisi Bab IV	<i>[Signature]</i>
9	15 November 2017	Revisi Bab IV	<i>[Signature]</i>
10	28 November 2017	Revisi Bab IV	<i>[Signature]</i>
11	4 Desember 2017	Konsultasi Bab V	<i>[Signature]</i>
12	11 Desember 2017	Revisi Bab V	<i>[Signature]</i>
13	13 Desember 2017	ACC bab IV dan V	<i>[Signature]</i>
14	16 Desember 2017	Konsultasi naskah keseluruhan	<i>[Signature]</i>
15	19 Desember 2017	ACC naskah keseluruhan	<i>[Signature]</i>

Pembimbing Skripsi,

[Signature]

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

Malang, 04-01-2018
Ketua Jurusan,



[Signature]

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