

**IDENTIFIKASI BAKTERI RESISTEN SELENIUM (Se) BERDASARKAN
GEN 16S rRNA DARI KOLEKSI LABORATORIUM MIKROBIOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG**

SKRIPSI

Oleh:
NINA ERNAWATI
NIM. 15620071



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**IDENTIFIKASI BAKTERI RESISTEN SELENIUM (Se) BERDASARKAN
GEN 16S rRNA DARI KOLEKSI LABORATORIUM MIKROBIOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG**

SKRIPSI

**Oleh:
NINA ERNAWATI
NIM.15620071**

**diajukan Kepada :
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**IDENTIFIKASI BAKTERI RESISTEN SELENIUM (Se) BERDASARKAN
GEN 16S rRNA DARI KOLEKSI LABORATORIUM MIKROBIOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG**

SKRIPSI

Oleh:
NINA ERNAWATI
NIM. 15620071

Telah disetujui oleh:

Dosen Pembimbing I



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

Dosen Pembimbing II



M. Mukhlis Fahrudin, M.Si
NIPT. 20142011409

Tanggal 28 Juni 2019

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



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

**IDENTIFIKASI BAKTERI RESISTEN SELENIUM (Se) BERDASARKAN
GEN 16S rRNA DARI KOLEKSI LABORATORIUM MIKROBIOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG**

SKRIPSI

Oleh:
NINA ERNAWATI
NIM. 15620071

telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal : 28 Juni 2019

Penguji Utama	: Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si NIP. 19710919 200003 2 001	(.....)
Ketua Penguji	: Bayu Agung Prahardika, M.Si NIDT. 19900807201802011231	(.....)
Sekretaris Penguji	: Romaidi, M.Si, D.Sc NIP. 19810201 200901 1 019	(.....)
Anggota Penguji	: M. Mukhlis Fahrudin, M.Si NIPT. 20142011401	(.....)

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Biologi


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

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah rabbil 'alamin...

Tiada kata yang mampu menggambarkan kebahagiaanku saat ini, saya berterima kasih kepada Allah SWT yang telah memberikan kemudahan dari saya sehingga mampu mengerjakan skripsi ini sampai selesai. Karya ini saya persembahkan kepada orang-orang yang berjasa dalam hidup saya yang tanpa mereka saya tidak mungkin berada disini. Terima kasih kepada kedua orang tua saya yang telah memberikan support baik berupa tenaga, materi, maupun doa. Semoga setelah lulus ini saya mampu membahagiakan dan membalas jasa kalian. Adikku tercinta Jamine dan Febrí serta Keluarga besar yang lain. Terimakasih untuk teman-teman Biologi-C semua dan yang paling special Devi teman setimku yang mau menemaniku sampai saat ini, yang telah memberikan banyak pelajaran hidup dan warna-warni kehidupan. Terima kasih buat Bapak Romaidi selaku dosen pembimbing yang tanpa jasa beliau saya tidak akan mungkin dapat melakukan skripsi tepat waktu. Untuk teman-teman Genetist semoga setelah ini kalian dapat mencapai cita-cita masing-masing dan memperoleh kesuksesan.

Spesial thanks to:

1. Ayahku Lasminto dan Ibuku Tamení,
2. Dosen Pembimbing Bapak Romaidi, M.Si, D.Sc,
3. Adik-adiku Febrí dan Jasmíne,
4. Lugas, devi, anita, dan teman-teman lain Biologi-C 2015.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Nina Ernawati

NIM : 15620071

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Skripsi : Identifikasi Bakteri Resisten Selenium (Se) Berdasarkan gen 16S rRNA Dari Koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya siap menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 28 Juni 2019

Yang membuat pernyataan



Nina Ernawati
NIM. 15620071

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



IDENTIFIKASI BAKTERI RESISTEN SELENIUM (Se) BERDASARKAN GEN 16S rRNA DARI KOLEKSI LABORATORIUM MIKROBIOLOGI UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

Nina Ernawati, Romaidi, M. Mukhlis Fahrudin

ABSTRAK

Selenium merupakan unsur dengan nomor atom 34 dengan massa atom relatif 78,96, bersifat semi logam dan dibutuhkan oleh makhluk hidup. Pada kadar tinggi selenium bersifat toksik, selain itu selenium memiliki kemampuan akumulasi sehingga berpeluang mengancam kesehatan manusia. Selenium akan memberikan efek kerusakan pada ginjal, hati, kerontokan rambut, dan kerusakan sistem syaraf pusat. Kontaminasi selenium perlu ditangani agar berkurang tosisitasnya. Oleh karena itu, digunakan bakteri sebagai agen bioremediasi terhadap kontaminasi selenium. Penelitian ini berfungsi untuk mengetahui kemampuan resistensi dari isolat bakteri yang berasal dari koleksi laboratorium mikrobiologi terhadap selenat. Isolat bakteri yang digunakan sebanyak sepuluh isolat yang berasal dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah NA yang diberi penambahan natrium selenat (Na_2SeO_4) dengan konsentrasi 0; 2,5; 5, dan 10 mM. Metode dalam penelitian ini meliputi: pembuatan media NA, preparasi isolat bakteri, uji resistensi selenat, *direct* PCR, uji kualitas DNA, dan sekuensing. Isolat bakteri yang memiliki kemampuan dalam resistensi selenat, kemudian dianalisis secara molekuler berdasarkan gen 16S rRNA. Berdasarkan uji resistensi selenat diperoleh 4 isolat bakteri yang memiliki kemampuan resisten terhadap selenat, yaitu isolat: LM-1, LM-3, LM-5, dan LM-10. Berdasarkan analisis molekuler gen 16S rRNA diketahui bahwa isolat LM-1 memiliki kemiripan dengan *Bacillus megaterium* ATCC 14581 (99,33%), isolate LM-3 *Bacillus megaterium* Y108-01 (99,66%), isolat LM-5 *Bacillus megaterium* NBRC 15715 (99,33%), dan isolat LM-10 *Bacillus megaterium* 74 (99,83%).

Kata kunci: Selenium, Bakteri, Uji resisten terhadap selenat, identifikasi molekuler, gen 16S rRNA, *Bacillus megaterium*.

**AN IDENTIFICATION OF SELENIUM (Se) RESISTENT BACTERIA
BASED ON 16S rRNA GENE FROM THE COLLECTION OF
MICROBIOLOGY LABORATORY OF THE STATE ISLAMIC
UNIVERSITY OF MAULANA MALIK IBRAHIM OF MALANG**

Nina Ernawati, Romaidi, M. Mukhlis Fahrudin

ABSTRACT

Selenium is an element with an atomic number of 34 with a relative atomic mass of 78.96, which has semi-metal and also it is needed by living things. At high levels of selenium, it has toxicity, besides that selenium has the ability to accumulate it, so that it is likely to threaten human health. Selenium will have an effect on kidney, liver, hair loss and central nervous system damage. Selenium contamination needs to be handled to reduce toxicity. Therefore, bacteria are used as bioremediation agents for selenium contamination. The research tries to determine the resistance ability of bacterial isolates from the collection of microbiological laboratories to the *selenate*. The bacterial isolates used ten isolates from the collection of the Microbiology Laboratory at the State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim of Malang. The media used NA which was added with sodium *selenate* (Na_2SeO_4) with a concentration of 0; 2.5; 5, and 10 mM. The methods were: making NA media, preparation of bacterial isolates, *selenate* resistance test, direct PCR, DNA quality testing, and sequencing. Bacterial isolates that have the ability to resist *selenate* were analyzed molecularly based on the 16S rRNA gene. Based on the *selenate* resistance test, founded 4 bacterial isolates that had the ability to resist *selenate* were isolates LM-1, LM-3, LM-5, and LM-10. Based on the molecular analysis of the 16S rRNA gene, it was found that LM-1 isolates were similar to *Bacillus megaterium* ATCC 14581, i.e. (99.33%), isolates of LM-3 of *Bacillus megaterium* Y108-01 were (99.66%), isolates of LM-5 of *Bacillus megaterium* NBRC 15715 were (99.33%), and isolates of LM-10 of *Bacillus megaterium* 74 were (99.83%).

Keywords: Selenium, Bacteria, *Selenate* resistance test, molecular identification, 16S rRNA gene, *Bacillus megaterium*

تحديد البكتيريا المقاومة السيلينيوم (Se) القائمة على الجين 16S rRNA (الريبوسوم حمض الريبونوكلي) من جمع المختبر لعلم الأحياء المجهرية لجامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج

نينا إرنواتي، رميدي، م. مخلص فخر الدين

ملخص البحث

السيلينيوم هو عنصر برقم ذري 34 مع كتلة ذرية النسبية 78.96 وله أيضا نصف معدن ويحتاج إليه الكائنات الحية. عند مستوي عال، يكون السيلينيوم سامًا. وأيضًا السيلينيوم لديه القدرة على التراكم بحيث يحتمل أن يهدد صحة البشر. سيكون سيلينيوم تأثيرا على الكلى والكبد وفقدان الشعر وتلف الجهاز العصبي المركزي. تلوث السيلينيوم يجب أن يقلل السمية. لذلك، تستخدم البكتيريا كعوامل علاج حيوي على تلوث السيلينيوم. هذا البحث يحدد قدرة المقاومة والعزلات البكتيرية التي تجيء من جمع المختبر لعلم الأحياء المجهرية على السيلينات. استخدمت العزلات البكتيرية عشر عزلات التي تجيء من جمع المختبر لعلم الأحياء المجهرية بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. الوسائط البحث هي NA التي تمت إضافتها مع سيلينات الصوديوم (Na_2SeO_4) بتركيز 0 ؛ 2.5. 5 و 10 ملم. تتضمن الطرق البحث: صنع وسائط NA ، تحضير العزلات البكتيرية، اختبار مقاومة السيلينات، *direct PCR* (المباشر) ، اختبار جودة DNA ، والتسلسل. حلل العزلات البكتيرية التي لديها القدرة على مقاومة السيلينات جزيئيًا القائمة و (الريبوسوم حمض الريبونوكلي). بناء على اختبار مقاومة السيلينات، حصلت على 4 عزلات بكتيرية التي لديها القدرة على مقاومة السيلينات، فهي العزلات LM-1 : LM-3 ، LM-5 ، LM-10 واستند إلى التحليل الجزيئي على الجين 16S rRNA ، وجد أن عزلات LM-1 لها مماثلة ب *Bacillus megaterium* ATCC 14581 أي 99.33٪، وعزلت LM-3 ل *Bacillus megaterium* Y108-01 هي 99.66٪ ، وعزلت LM-5 *Bacillus megaterium* NBRC 15715 هي 99.33 ٪ ، وعزلت LM-10 *Bacillus megaterium* 74 هي 99.83%

الكلمات الرئيسية: السيلينيوم، البكتيريا، اختبار مقاومة السيلينات، تحديد الجزيئي، الجين 16S *Bacillus megaterium*، rRNA

MOTTO

لَكُمْ خَيْرٌ وَهُوَ شَيْئًا تَكْرَهُوا أَنْ وَعَسَى

“Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagimu.”

(Q.S. Al-Baqarah:261)

Tetap semangat semua akan indah pada waktunya



KATA PENGANTAR

Puji syukur Allhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian sekaligus tugas akhir ini dengan judul “Identifikasi Bakteri Resisten Selenium (Se) Berdasarkan gen 16S rRNA Dari Koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim 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. Ruri Siti Resmisari, M.Si, selaku dosen wali yang memberikan saran dan nasehat yang berguna.
6. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si dan Bayu Agung Prahardika, M.Si, selaku dosen penguji yang telah memberikan 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 (Devi) yang selalu berjuang bersama dalam suka maupun duka selama berjalannya penelitian.
10. Keluarga besar Biologi, terkhusus untuk angkatan 2015, terimakasih atas semua dukungan, semangat, dan pertemanan yang terjalin.
11. Mas Hari Ismail dan 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, 28 Juni 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT	ix
مستخلص البحث.....	x
MOTTO.....	xi
KATA PENGANTAR	xii
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan.....	6
1.4 Hipotesis	6
1.5 Manfaat.....	7
1.6 Batasan Masalah.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Amanah Kholifah	9
2.2 Selenium.....	10
2.2.1 Toksisitas Selenium	14
2.2.2 Metabolisme Selenium pada Manusia	16
2.3 Bioremediasi.....	17
2.3.1 Pemanfaatan Bakteri dalam Bioremediasi.....	20
2.3.2 Mekanisme Resistensi Bakteri terhadap Selenium	22
2.4 Bakteri.....	23
2.5 Identifikasi Bakteri.....	27
2.6 DNA	29
2.6.1 Ribosomal RNA.....	30
2.6.1 16S rRNA dan Penentuan Pohon Filogeni	31
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Rancangan Penelitian	36
3.2 Waktu dan Tempat	36
3.3 Alat dan Bahan.....	36
3.3.1 Alat.....	36
3.3.2 Bahan.....	37
3.4 Prosedur Penelitian.....	37
3.4.1 Pembuatan Media NA	37

3.4.2 Preparasi Isolat Bakteri dan Uji Resistensi Selenat	38
3.4.3 Amplifikasi dengan Direct PCR.....	38
3.4.4 Uji Kualitas DNA.....	39
3.4.5 Sekuensing Gen Penyandi 16S rRNA	39
3.5.6 Analisis Data	40
3.5 Analisis Integrasi Islam dan Sains	40
3.6 Desain Penelitian.....	41
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Uji Kemampuan Bakteri Resisten Selenat	42
4.2 Identifikasi Molekuler Bakteri yang Memiliki Kemampuan Resisten terhadap Selenat berdasarkan Gen 16S rRNA	45
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	52
5.2 Saran.....	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	65

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Ambang maksimal selenium yang dapat di konsumsi manusia berdasarkan usia.....	15
2.2 Komposisi ribosom pada prokariotik dan eukariotik	31
4.1 Hasil isolate bakteri yang tumbuh pada media NA dengan diberi penambahan natrium selenat	41
4.2 Hasil blast isolate bakteri resisten selenat.....	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Selenium dalam bentuk organik	11
2.2 Siklus biogeokimia selenium	14
2.3 Bentuk sel bakteri.....	24
2.4 Struktur sekunder dari 16S rRNA	32
2.5 Struktur pohon filogenetik	34
4.1 koloni isolat bakteri LM-5	44
4.2 Hasil elektroforesis.....	46
4.3 Rekonstruksi pohon filogeni isolat bakteri yang resisten terhadap selenat	49

DAFTAR LAMPIRAN

1. Persiapan persediaan larutan natrium selenat	65
2. Identifikasi makroskopik.....	67
3. Identifikasi mikroskopik	69
4. Nilai alignment pada proses blast di NCBI	70
5. Hasil Alignment dengan MEGA 6.0.....	72
6. Warna selenium padatan	73
7. Bukti Konsultasi Skripsi.....	74
8. Bukti Konsultasi Agama	75

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Selenium adalah unsur dengan nomor atom 34, bersifat semi logam dan berada dalam bentuk kimia yang beragam di alam ((NRC), 1983). Selenium terdapat dalam dua bentuk, yaitu bentuk organik dan anorganik. Bentuk anorganik dari selenium adalah selenat (SeO_4^{2-}) dan selenit (SeO_3^{2-}), sedangkan bentuk organikya adalah selenometionin dan selenosistein (Sunde, 2006). Kedua bentuk selenium tersebut berguna sebagai sumber mineral selenium bagi tubuh (Sunde, 2012). Namun, selenium yang berlebihan di lingkungan menyebabkan kontaminasi serius di tanah, atmosfer dan air, sehingga berdampak buruk bagi seluruh makhluk hidup (Sakamoto *et al.*, 2012).

EPA (*Enviromental Protection Agency*) menyatakan bahwa batas maksimum kandungan selenium yang diperbolehkan dilingkungan pada berbagai negara seperti Inggris, Jepang, Kanada, yaitu maksimal 3,1 $\mu\text{g/L}$ diperairan lotik (Kimura *et al.*, 2014). Sedangkan menurut peraturan pemerintah republik Indonesia no. 20 tahun 1990, kadar maksimum selenium dalam air minum adalah 0,01 mg/L (Herlambang, 2011). Selenium bersifat toksik pada kadar tinggi dan memiliki kemampuan terakumulasi sehingga berpeluang mengancam kesehatan manusia (Dietz *et al.*, 2000).

Efek kelebihan selenium pada manusia, yaitu: kerusakan pada ginjal, hati kerontokan rambut, dan kerusakan sistem syaraf pusat (Dietz *et al.*, 2000). Efek

kronis yang ditimbulkan adalah mati rasa pada telapak tangan atau jari dan masalah sirkulasi darah jika mengonsumsi selenium diatas level yang diizinkan (EPA, 2014). Tingginya kadar selenium juga dapat mempengaruhi jumlah mikroba pada lingkungan. Berdasarkan penelitian Quinn *et al*, (2011) pada daerah seleniferous kandungan selenium yang rendah jumlah bakteri yang ditemukan lebih banyak daripada yang memiliki kadar selenium yang tinggi.

Penurunan kadar kualitas lingkungan diantaranya juga ditandai dengan adanya cemaran logam. Selenium merupakan salah satu jenis bahan cemaran, meskipun bukan dalam kelompok logam berat namun unsur ini banyak mencemari lingkungan terutama perairan (Louma and Rainbow, 2008). Sumber pencemaran selenium di alam disebabkan oleh banyak hal. Menurut Triana dkk (2010) aktifitas manusia dalam bidang industri dapat menyebabkan timbulnya pencemaran selenium. Pencemaran tersebut terjadi akibat aktifitas manusia antara lain kegiatan pertambangan, pengolahan serta penggunaan bahan bakar fosil, dan beberapa bidang industri lainnya (Xia *et al.*, 2007). Aktifitas geologis seperti vulkanik juga menyebabkan akumulasi selenium dari dalam bumi ke permukaan, yang kemudian akan terurai seiring pelapukan sedimen tanah secara alami (Berrow, 1989).

Lingkungan yang rusak mengakibatkan bencana untuk saat ini atau masa yang akan datang. Rusaknya lingkungan dapat terjadi oleh beberapa faktor yaitu faktor alam dan manusia. Manusia saat ini semakin serakah dan tidak peduli dengan lingkungan. Padahal efek yang diakibatkan bukan hanya membuat diri

sendiri rugi tetapi juga anak cucu kita. Allah SWT berfirman dalam surat al A'raf (7):56 sebagai berikut:

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

Artinya: “Dan janganlah kamu membuat kerusakan di bumi, sesudah (Allah) memperbaikinya dan Berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut (tidak akan diterima) dan harapan (akan dikabulkan). Sesungguhnya rahmat Allah amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik” (QS. al-A'raaf: 56).

Tafsir dari ayat al-A'raaf menurut Al-Jazairi (2007), menyatakan bahwa kata *وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ* mengandung arti janganlah berbuat kerusakan di muka bumi dengan perbuatan buruk setelah adanya islah (perbaikan) melalui tauhid dan ketaatan. Perbuatan buruk ini mencakup segala perkara yang haram, seperti, merusak tanaman, merusak pikiran, membunuh makhluk hidup dan segala perbuatan dosa lainnya. Ayat tersebut menjelaskan tentang larangan untuk merusak bumi. Alam raya telah diciptakan oleh Allah SWT dengan keadaan sempurna untuk memenuhi kebutuhan makhluk. Allah SWT telah segalanya menjadi baik, bahkan memerintahkan hamba-hamba-Nya untuk memperbaiki dan menjaganya. Merusak setelah diperbaiki lebih buruk daripada merusaknya sebelum diperbaiki, atau pada saat dia buruk. Ayat ini secara tegas menggaris bawahi larangan tersebut (Shihab, 2002).

Lingkungan alam seperti air, udara, tanah dan hutan perlu dijaga kebersihannya. Jika lingkungan rusak maka akan berdampak pada ekosistem darat, ekosistem laut, dan semua yang ada didalamnya. Dampak kerusakan yang dilakukan oleh manusia bersifat kronis dan tidak sementara. Berdasarkan hal

tersebut perlu diberikan kesadaran agar manusia menjaga kelestarian alam dan tidak merusaknya (Uar *et al.*, 2016).

Kontaminasi dari selenium perlu adanya penanganan sehingga berkurang kontaminasinya. Salah satu metode yang dapat digunakan adalah dengan bioremediasi. Bioremediasi adalah proses menghilangkan kontaminan dari lingkungan dengan menggunakan mikroba. Mikroba memiliki kemampuan dalam metabolisme yang berfungsi untuk mendegradasi atau menghilangkan polutan di lingkungan, selain itu penggunaan mikroba dalam bioremediasi menjadi suatu alternatif ekonomis yang terbukti aman dibandingkan dengan metodologi fisikokimia lainnya (Pepetuo *et al.*, 2011). Mikroba yang dapat digunakan dalam bioremediasi adalah fungi, bakteri dan alga (Yazid, 2007). Saat proses bioremediasi berlangsung bakteri memproduksi enzim yang fungsinya untuk memodifikasi struktur beracun menjadi tidak beracun (Priadie, 2012). Bakteri memiliki kemampuan dalam mendegradasi kontaminasi secara cepat dan aman (Karigar, 2011). Pemanfaatan bakteri merupakan cara yang efektif dalam bioremediasi karena tidak menghasilkan racun sehingga tidak berdampak buruk terhadap lingkungan (Dharmawibawa, 2004). Saat proses bioremediasi berlangsung bakteri memproduksi enzim yang fungsinya untuk memodifikasi struktur beracun menjadi tidak beracun (Priadie, 2012).

Penelitian ini memanfaatkan isolat bakteri yang terdapat di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Jumlah isolat yang diteliti yaitu sebanyak sepuluh isolat berdasarkan penelitian dari Safura (2018) dan Amalia (2018) yang memiliki kemampuan dalam resistensi selenit,

kemudian diuji lanjutan untuk mengetahui resistensinya pada selenat. Selenat (VI) merupakan bentuk selenium yang memiliki bilangan oksidasi lebih tinggi dari selenit (IV), sehingga menyebabkan sifat selenat lebih toksik dilingkungan daripada selenit (Nancarahiah and Lens, 2015).

Berdasarkan penelitian Jong *et al*, (2015) Sebagian besar bakteri (*Bacillus*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Paenibacillus*, *Variovorax*, *Advenella*, *Arthrobacter*, and *Staphylococcus*) yang diisolasi dari tanaman *Pediococcus acidilactici* tahan terhadap selenit 200 mM sedangkan pada selenat hanya 10 mM. Menurut Vallini *et al*, (2005) banyak bakteri dapat mereduksi selenit, sementara untuk mereduksi selenat jarang terjadi. *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis* merupakan bakteri yang mampu mereduksi selenit sekitar 90% pada konsentrasi 400 µg/ml (Javed *et al*, 2016).

Berdasarkan latar belakang diatas, penelitian ini berfungsi untuk mengetahui jenis bakteri yang mampu resisten terhadap selenat secara molekuler berdasarkan gen 16S rRNA. Menurut Janda and Abbot (2017) Analisis gen 16S rRNA digunakan karena gen ini terdapat disemua sel bakteri yang fungsinya tidak berubah dalam waktu yang lama. Selain itu urutan basa nitrogen gen 16s rRNA memiliki keragaman intraspesifik yang lebih rendah dibandingkan gen pengkode protein yang lain, serta sifat dari fragmen 16s rRNA yang lestari (Oren, 2004). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang spesies dan kemampuan dari bakteri dalam resistensi terhadap selenat berdasarkan gen 16S rRNA.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini meliputi:

1. Bagaimana kemampuan resistensi dari isolat bakteri yang berasal dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim terhadap selenat?
2. Bagaimana identifikasi secara molekuler isolat bakteri yang memiliki kemampuan resisten terhadap selenat berdasarkan gen 16S rRNA?

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui kemampuan resistensi dari isolat bakteri yang berasal dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim terhadap selenat.
2. Mengetahui spesies bakteri yang memiliki kemampuan dalam resisten selenat secara molekuler berdasarkan gen 16S rRNA.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Isolat-isolat bakteri yang resistensi terhadap selenat akan tumbuh pada media NA yang telah diberi penambahan selenat dengan mengalami perubahan warna merah pada koloninya yang menandakan bakteri tersebut dapat mereduksi selenat menjadi selenium elemental.

2. Isolat-isolat bakteri pengakumulasi selenium yang diidentifikasi berdasarkan gen 16S rRNA dengan teknik *direct PCR* sehingga didapatkan urutan basa nukleotidanya.

1.5 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah:

1. Memberi informasi tentang kemampuan isolat bakteri dalam resisten terhadap selenat.
2. Memberi informasi tentang spesies bakteri yang mampu resisten terhadap selenat secara molekuler berdasarkan gen 16S rRNA.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Isolat bakteri yang digunakan berasal dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sebanyak sepuluh isolat.
2. Uji resistensi selenat dalam penelitian ini menggunakan media NA (*Natrium Agar*) yang diberi penambahan selenat dengan konsentrasi 0, 2,5, 5, dan 10 mM.
3. Dipilih beberapa isolat yang mampu resisten terhadap selenat.
4. Primer yang digunakan dalam identifikasi molekuler yaitu: 306F (5'-CCA GAC TCC TAC GGG AGG CAG C-3 ') dan 935R (5'-CGA ATT AAA CCA CAT GCT CCA C-3 ') (Romaidi and Ueki, 2016).
5. Metode dalam isolasi DNA bakteri adalah metode *Direct PCR*.

6. Pembuatan pohon filogenetik didesain menggunakan software MEGA6.
7. Konstruksi filogenetik menggunakan metode *neighbor-joining-Tree* dan analisis *bootstrap*



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Amanah Khalifah

Pengelolaan lingkungan harus berpijak pada prinsip dan nilai-nilai dalam Al-Quran, yaitu: seluruh alam raya beserta isinya adalah milik Allah dan seluruh makhluk ciptaannya (Thobroni, 2014). Alam ini diciptakan agar dapat dikelola oleh manusia, manusia dititipi amanah oleh Allah sebagai kholifah. Sebagai khalifah, manusia memiliki tugas untuk menjaga lingkungan dan tidak berbuat kerusakan. Kerusakan yang dilakukan manusia bukan hanya berdampak buruk pada manusia saja tapi makhluk ciptaan Allah yang lain, yaitu: hewan, tumbuhan dan mikroorganisme. Apabila manusia melakukan tugasnya dengan baik maka kehidupan di bumi akan berjalan dengan baik.

Allah menciptakan alam dan seisinya sebagai rahmat untuk kemaslahatan umat manusia. Manusia berhak memanfaatkannya semaksimal mungkin untuk kesejahteraan bersama serta bentuk rasa syukur atas nikmat yang telah Allah berikan. Seperti yang disebutkan dalam surat Al-Baqarah ayat 29:

هُوَ الَّذِي خَلَقَ لَكُمْ مَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا ثُمَّ أَسْتَوَىٰ إِلَى السَّمَاءِ فَسَوَّاهُنَّ سَبْعَ سَمَوَاتٍ وَهُوَ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ

Artinya: “Dia-lah Allah, yang menjadikan segala yang ada di bumi untuk kamu dan Dia berkehendak (menciptakan_ langit, lalu menjadikan-Nya tujuh langit, dan Dia Maha mengetahui segala sesuatu (Q.S. Al-Baqarah:29)”

Ayat di atas menjelaskan bahwa alam semesta beserta isinya diciptakan Allah SWT untuk seluruh makhluk termasuk mikroorganisme yang tak kasat mata yaitu bakteri. Meskipun berukuran sangat kecil bakteri juga memiliki peran

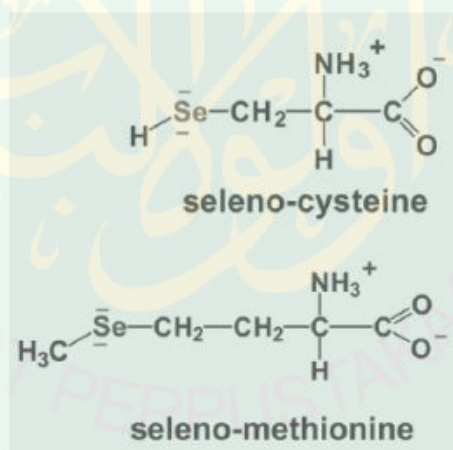
penting dalam lingkungan, bakteri ada yang bersifat merugikan sehingga menyebabkan penyakit dan sebagian besar juga menguntungkan dalam proses bioremediasi. Salah satu cara mengetahui peran bakteri dan jenisnya adalah dengan mengidentifikasinya. Identifikasi bakteri dapat dilakukan secara konvensional maupun molekuler. Menurut Pelczar and Chan (1998) identifikasi merupakan upaya untuk mengetahui nama dan sifat dari bakteri dalam suatu kelompok berdasarkan karakteristik persamaan dan perbedaan. Pengamatan dapat dilakukan secara morfologi, fisiologi dan genetik.

2.2 Selenium

Selenium memiliki nomor atom 34 dengan massa atom relatif 78,96 dan menempati golongan V1A (Martens, 2003). Pertama kali selenium ditemukan pada tahun 1817 oleh ahli kimia Swedia yaitu Jons Jacob Berzeleus (Ji and Xu, 2016) Menurut Madigan *et al.* (2010) selenium berdasarkan tabel periodik memiliki sifat kimia dan fisik antara logam dan non-logam. Selenium memiliki titik beku $-217\text{ }^{\circ}\text{C}$ dengan titik didih $684,9\text{ }^{\circ}\text{C}$. terdapat 4 bilangan valensi selenium, yaitu $(-2, 0, +4, \text{ dan } +6)$. Oksidasi $(-II)$ dalam bentuk selenida (Se^{2-} , HSe^{-}), hidrogen selenida (H_2Se) dan selenida organik. Oksidasi 0 dalam bentuk unsur selenium (Se^0). Oksidasi $(+IV)$ dalam bentuk selenit (HSeO_3^{-} , SeO_3^{2-}) dan asam seleno (H_2SeO_3). Oksidasi $(+VI)$ terdapat dalam bentuk selenat (HSeO_4^{-} , SeO_4^{2-} , dan asam selenik (H_2SeO_4) (Burger *et al.*, 2012).

Bentuk selenium terbagi menjadi 3 macam, yaitu kristal berwarna merah, bubuk berwarna merah dan kristal heksagonal warna abu-abu. Bentuk selenium

paling stabil berupa padatan semi logam berwarna abu-abu keunguan dengan struktur kimia berupa rantai polimer trigonal (News Medical, 2014). Selenium adalah unsur dominan yang terdapat dalam sistem kehidupan. Selain itu selenium memiliki unsur kimia yang berbeda (organik dan anorganik) berbentuk cair, gas dan padat (Boyd, 2011). Selenium anorganik berbentuk Selenida (Se^{2-}), selenat dan selenit (SeO_3^{2-}) (Johansson *et al.*, 2005). Sedangkan, selenium organik berbentuk selenosistein dan selenometionin (Kohrle and Gartner, 2009). Kedua bentuk selenium tersebut berguna sebagai sumber mineral selenium bagi tubuh. Selenium diperoleh dari makanan, minuman, atau suplemen selenium (Sunde, 2012).



Gambar 2.1. Selenium dalam bentuk organik (Kohrle and Gartner, 2009)

Sumber utama selenium di alam adalah bebatuan seperti batuan yang kaya karbon dan bahan organik. Misalnya, bijih pirit kaya akan emas (Au), perak (Ag) dan tembaga (Cu) akan tetapi mengandung selenium dalam kadar yang tinggi (Louma and Raibow, 2008). Selenium dapat ditemukan dalam bentuk bebatuan, mineral, tanah, aktifitas vulkanis, batu bara, kandungan sulfur dan sulfide, dan debu (Fordyce, 2013). Selenium juga dapat ditemukan pada beberapa

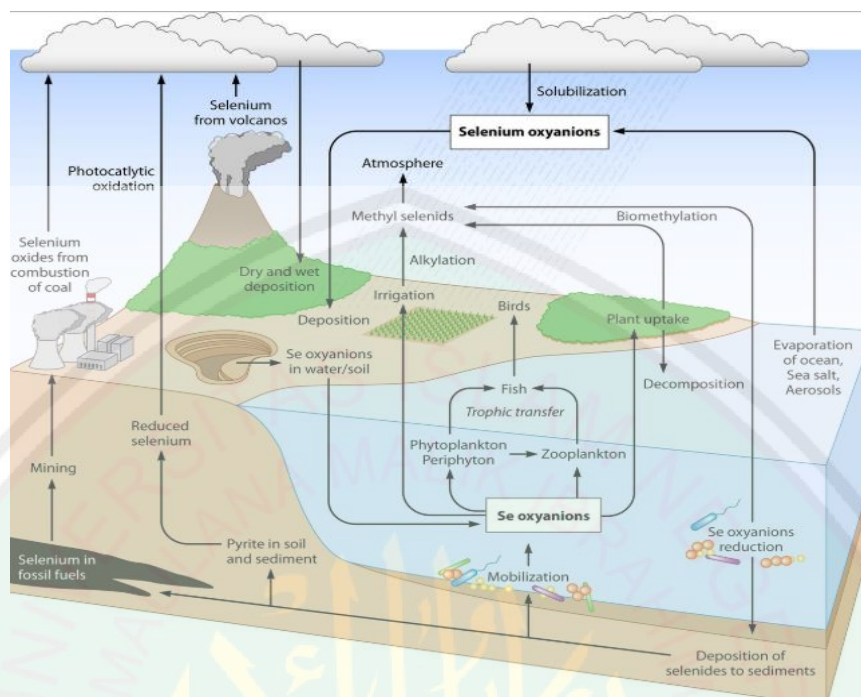
tanaman, salah satunya adalah tanaman bawang-bawangan (*Allium cepa*, *A. sativum*, *A. fistulosum*) (Yadav *et al.*, 2007). Kandungan selenium yang diperoleh tanaman berasal dari tanah yang ditentukan oleh kadar selenium dalam tanah, spesies tanaman dan kemampuan tanaman dalam menyerap selenium (Ermakov and Kovalskij, 1968).

Tanah yang mengandung selenit dan selenat (anorganik) akan diakumulasi oleh tanaman kemudian dikonversi kedalam bentuk organik (National Institute of Health, 2013). Fungsi penyerapan selenium diketahui mampu menstimulasi pertumbuhan tanaman seperti kentang, selada, ryegrass dan *Brassica oleracea* (Hajiboland and Keivanfar, 2012). Pada kentang selenium mampu meningkatkan *putrescine* (Turakainen *et al.*, 2004). Sebagian besar selenium pada tanaman diserap dalam bentuk selenometionin (Yunita and Sri, 2018).

Selenium merupakan unsur penting yang dibutuhkan oleh seluruh makhluk hidup, selenium digunakan untuk memfungsikan protein struktural dan sebagai pertahanan sel melawan kerusakan oksidatif (Chapman *et al.*, 2009). Selenium merupakan komponen penting enzim glutathion peroksidase yang berfungsi untuk mengkatalis proses reduksi hidrogen peroksidase pada jaringan (Diplock, 1981), selenium juga terlibat dalam pengaturan fungsi seluler (katalis enzim dan transduksi sinyal), mendukung fungsi otak (Rayman, 2000). Pada manusia selenium dimungkinkan berfungsi untuk melawan penyakit jantung dan kanker jika dalam jumlah yang tepat, bila berlebih maka akan bersifat toksik (Miller, 2006). Selain itu, Kebutuhan asupan selenium seseorang tergantung pada jenis kelamin, usia, kehamilan, dan area geografis (WHO, 1996).

Selenium terdapat 6 isotop stabil di alam dengan berbagai tingkat kelimpahannya : ^{74}Se (0,87%), ^{76}Se (9,02%), ^{77}Se (77,58%), ^{78}Se (23,52%), ^{80}Se (49,82%), dan ^{82}Se . Umumnya, oksianion selenium (SeO_4^{2-} dan SeO_3^{2-}) memiliki kelarutan yang tinggi, stabil dan berpotensi ditemukan dalam lingkungan tercemar (Boyd, 2011). Pelapukan tanah seleniferous dan bebatuan merupakan kontaminasi selenium secara alami (Bodnar *et al.*, 2012). Kontaminasi selenium berpotensi menyebabkan pencemaran terhadap lingkungan yang dapat menyebar ke daerah lain melalui angin, air, dll (Knox *et al.*, 2000).

Siklus biogeokimia selenium sangat kompleks. Kebanyakan limbah mengandung selenat, meskipun beberapa mengandung kombinasi selenat, selenit, organo-selenida, akan tetapi apabila limbah tersebut mengalir ke sungai ataupun lahan basah maka selenat akan terkonversi menjadi selenit dan organoselenide. Dua faktor penting yang mempengaruhi transformasi ini adalah produktivitas tanaman dan waktu kontak antara sedimen dengan air. Proses konversi ini menjadi fenomena yang patut untuk diperhatikan karena selenit merupakan bentuk yang paling bereaksi dalam siklus biogeokimia (Gambar 2.2). Di lain pihak, reaksi balik dari selenit ataupun organo-selenida ke selenat sangat lambat, sehingga kemungkinan terjadinya akumulasi selenit sangat tinggi (Luoma and Rainbow, 2008). Bakteri memiliki peran penting terhadap siklus biogeokimia selenium yang berfungsi dalam biotransformasi sehingga mampu mengubah senyawa beracun menjadi tidak beracun dengan bantuan enzim yang dihasilkan oleh bakteri itu sendiri (Pearce *et al.*, 2008).



Gambar 2.2. Siklus Biogeokimia Selenium (Nancharaiah and Lens, 2015)

2.2.1 Toksisitas Selenium

Selenium dalam kadar tinggi bersifat toksik. Pencemaran yang disebabkan selenium dapat terjadi akibat proses geologis (alami) maupun aktivitas manusia, seperti penggunaan bahan bakar dan pertambangan (Ellis *et al*, 2004). Oksianon merupakan bentuk selenium yang sangat reaktif dan paling berbahaya (Ranjard *et al.*, 2003). Kelebihan asupan selenium berdampak buruk pada kesehatan sehingga menyebabkan selenosis. Selenosis terjadi pada daerah yang memiliki kadar selenium yang tinggi (>84 mg) dan asupan melebihi $400\text{ }\mu\text{g}$ per hari. Gejala dari selenosis yaitu kerontokan rambut, pada kuku terdapat bercak putih, kuku lepas, bau mulut, kelelahan, kerusakan syaraf ringan dan iritabilitas (Dumont, 2006). Sedangkan batas maksimal selenium yang dapat diterima pada orang dewasa per hari yaitu $400\text{ }\mu\text{g}$ (Tabel 2.1).

Tabel 2.1 Ambang maksimal selenium yang dapat dikonsumsi manusia berdasarkan usia (Kusmana, 2017)

Usia	Pria	Wanita	Hamil	Menyusui
0-6 bulan	45 µg	45 µg		
7-12 bulan	60 µg	60 µg		
1-3 tahun	90 µg	90 µg		
4-8 tahun	150 µg	150 µg		
9-13 tahun	280 µg	280 µg		
14-18 tahun	400 µg	400 µg	400 µg	400 µg
>19 tahun	400 µg	400 µg	400 µg	400 µg
*ASI, susu formula, dan makanan harus menjadi satu-satunya sumber selenium bayi				

Dampak kelebihan selenium salah satunya adalah efek karsinogenik pada sistem pernafasan manusia (Notodarmojo, 2005), toksisitas pada kulit, sistem genito urinaria, dan sistem gastro intestinal (Soemirat, 2009). Selain itu, selenium yang merupakan logam non radioaktif dapat menyebabkan tumor pada manusia dan hewan (William and Burson, 1985). Selain efek toksisitas di manusia, selenium juga menyebabkan toksisitas pada perairan. Penelitian Ohlendorf (1986) menyatakan bahwa kontaminasi selenium dalam bentuk selenit dan selenat pada drainase pertanian sehingga mengakibatkan kematian dan kecacatan pada unggas. Efek lain kelebihan selenium adalah menurunnya produktivitas ikan yang merupakan indikator dalam mengetahui kualitas air (Gillespie and Baumann, 1986).

Sebagian bakteri melakukan upaya pertahanan diri terhadap toksisitas selenium yaitu dengan cara memetilasi sehingga mampu memecah senyawa selenium beracun menjadi selenium elemental (Zhang *et al.*, 2006). Selenium

dimetilasi ditransformasi dalam bentuk seleno asam amino non-toksik (Dong *et al.*, 2002). Senyawa-senyawa *methyl selenic acid* (MSA) dan *methyl selenocysteine* (MSC) merupakan senyawa yang hanya dihasilkan oleh mikroorganisme pengakumulasi selenium. Oleh sebab itu, akumulasi senyawa tersebut dijadikan dasar toleransi dari toksisitas selenium (Whanger, 2002). Sementara untuk mikroorganisme yang tidak dapat mengakumulasi selenium, selenium hanya diserap dan diinkorporasi secara tidak spesifik ke dalam senyawa organiknya (Rayman, 2000). Hal ini berkontribusi terhadap mikroorganisme dalam menangani toksisitas selenium (Whanger, 2004). Oleh sebab itu, mikroorganisme mampu mengakumulasi selenium dimanfaatkan dalam bioremediasi pada lingkungan tercemar selenium.

2.2.2 Metabolisme Selenium Pada Manusia

Secara biologis, selenium dibutuhkan untuk memfungsikan glutathione peroksidase yang melindungi membran sel akibat oksidan ataupun peroksida yang diproduksi selama metabolisme. Selain itu, selenium juga berperan sebagai anti-karsinogen pada manusia dengan dosis tertentu (Luoma and Rainbow, 2008).

Penyerapan selenium terutama terjadi di bagian bawah usus halus lewat berbagai jalur dan mekanisme (Suzuki, 2005). Metabolisme selenium berasal dari asupan makan yang mengandung selenometionin kemudian dimetabolisme menjadi selenosistein dan diubah menjadi monometilseleno dibantu oleh enzim β -liase atau langsung masuk ke pusat metiononin dan bergabung dengan protein tubuh (Prasetyo, 2006).

Setelah diserap, selenium dibawa ke hati untuk dimetabolisme (Suzuki *et al.*, 2010). 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 selenosistein. Enzim β -liase akan mengubah selenosistein menjadi hidrogen selenida, yang kemudian akan termetilasi seperti proses diatas (Prasetyo, 2006). Selenometionin diubah menjadi hidrogen selenida bersama selenium organik, dengan bantuan ATP. Selain itu, selenosistein juga disintesis oleh tubuh. Prosesnya terkode secara genetik disistem ribosom. Karena itu, selenosistein dikenal sebagai asam amino ke-21 (Roman *et al.*, 2014).

Hidrogen selenida mengalami proses metilasi selain itu dapat masuk ke proses translasi. Proses awal yaitu terjadi perubahan hidrogen selenida menjadi selenofosfat yang kemudian bergabung dengan tRNA dan akhirnya membentuk selenoprotein (Dodig, 2004). Selenoprotein yang sudah diproduksi di hati kemudian dilepaskan ke aliran darah dan didistribusikan ke organ targetnya, tempat selenoprotein tersebut bekerja (Roman *et al.*, 2014). Selenium yang berlebih akan dikeluarkan dengan mekanisme metilasi menjadi dimetilselenida (DMSe), yang dieksresi lewat kulit, (Suzuki, 2010), gula selenide, feses dan trimetilselenida (TMSe) yang dieksresi lewat urin (Roman *et al.*, 2014).

2.3 Bioremediasi

Dewasa ini, bioremediasi telah diterapkan untuk membersihkan pencemaran yang ditimbulkan dari logam berat. Bioremediasi menurut (Priadie, 2012) yaitu

penggunaan mikroba untuk ditumbuhkan pada pencemaran tertentu sebagai upaya untuk menurunkan kadar pencemarannya. Alamiannya, ion logam terdapat dalam tubuh mikroba yang berfungsi untuk membantu pertumbuhan. Keberadaan ion logam seperti Na, P, Cu, Fe, dan Mn di membran sel mikroba berfungsi untuk mengaktifkan metaloenzim yang berperan pada fotosintesis dan transfer elektron (Crawford *et al.*, 1998). Mikroba tersebut umumnya memiliki struktur instrinsik yaitu dengan pengikatan logam didinding selnya atau melakukan translokasi dan transformasi ion logam tersebut. Unsur instrinsik yaitu berupa lapisan ekstraseluler, membran polisakarida dan dinding sel impermeable (Stantford and Keyness, 1990).

Berkenaan dengan bioremediasi, pemerintah Indonesia telah mengatur standar baku kegiatan bioremediasi dalam mengatasi permasalahan lingkungan akibat seperti pertambangan, peminyakan, dan pencemaran lainnya (logam berat dan pestida) melalui Kep Men LH No.128 (2003) dicantumkan bahwa bioremediasi dilakukan dengan menggunakan mikroba lokal. Pengendalian pencemaran air termasuk bioremediasi dengan memanfaatkan mikroba bukanlah hal baru namun telah memerankan peran penting dalam mengelola limbah konvensional sejak tahun 1900-an (Mara and Horan, 2003). Saat ini, bioremediasi telah berkembang pada pengelolaan air limbah yang mengandung senyawa-senyawa kimia yang sulit didegradasi seperti logam-logam berat, petroleum hidrokarbon, senyawa-senyawa organik terhalogenasi (herbisida dan pestisida) (Gerard *et al.*, 2010)

Pengembangan IPTEK dalam bioremediasi berfungsi dalam mendetoksifikasi atau menurunkan polutan dalam mengurangi pencemaran. Metode ini lebih menguntungkan dibandingkan metode dengan penggunaan bahan kimia. Bahkan saat ini flokulan dari alumunium yang berfungsi menurunkan pencemaran air telah digantikan dengan bioflokulan yang mikroorganismenya diisolasi dari lumpur aktif sehingga dapat menurunkan turbiditinya sebesar 84-94% (Buthelezi *et al.*, 2009). Selain itu, keberadaan mikroba seperti bakteri, jamur dan protozoa dalam pengolahan air limbah memiliki peran yang baik dalam menjaga keseimbangan ekologis perairan (Gerardi, 2006).

Jalur utama selenium masuk dalam tubuh organisme aquatik yaitu melalui makanan (Louma and Rainbow, 2008). Mekanisme bioakumulasi menurut Chojnacka (2010) yaitu proses logam berat meracuni sel bakteri. Kemampuan bioakumulasi setiap jenis spesies berbeda-beda. Selain itu, faktor kondisi individu, berat badan dan umur juga mempengaruhi biokumulasi. Penelitian Riget (2000) membuktikan bahwa bertambahnya ukuran kupang (*Mytilus edulis*) maka konsentrasi selenium berkurang dan sebaliknya, bertambahnya umur burung camar (*Larus hyperboreus*), anjing laut (*Phoca hispida*) konsentrasi selenium akan bertambah.

Mikroorganisme perlu bertahan hidup dalam pencemaran logam salah satunya dengan cara biokumulasi. Bioakumulasi mikroorganisme menurut Chipasa (2003) yaitu interaksi aktif antara sel mikroorganisme dengan logam berat dimana ion logam akan masuk kedalam sel mikroorganisme tersebut.

Bioakumulasi logam berat pada mikroorganisme hidup dideskripsikan sebagai jalur migrasi polutan dari suatu level trofik ke level lainnya,

Jumlah logam berat setiap level tropik berbeda. Hal tersebut tergantung pada karakteristik bioakumulasi logam yang terkonsentrasi (Arunakumara *et al.*, 2008). Bioakumulasi Selenium pada organisme perairan terjadi pada proses pencernaan makanan. Bioakumulasi dan transfer melalui jaring-jaring makanan di perairan merupakan jalur biogeokimia utama pada selenium dalam ekosistem aquatik. Selenium oksianion terlarut (selenat dan selenit) dan selenida organik berasimilasi ke dalam jaringan produsen pertama pada perairan (organisme trofik 1). Selenium oksianion kemudian mengalami biotransformasi menjadi organoselenium pada organisme hidup. Organisme ini bersama dengan sumber selenium terikat partikel lainnya merupakan fraksi selenium partikulat di perairan. Selenium dari fraksi partikulat ini kemudian ditransfer ke konsumen primer (organisme trofik tingkat 2), dan kemudian menuju ke predator (trofik tingkat 3 dan selebihnya) (Nancharaiah and Lens, 2015).

2.3.1 Pemanfaatan Bakteri dalam Bioremediasi Selenium

Mikroorganisme yang sering dimanfaatkan dalam proses bioremediasi logam berat adalah bakteri. Jenis bakteri tertentu dapat hidup pada lingkungan yang mengandung logam berat pada efek toksik yang ditimbulkan dari adanya logam berat tersebut (Yazid, 2007). Mikroorganisme tersebut dapat berasal dari daerah yang terkontaminasi atau dari tempat lain kemudian dibawa ke tempat yang kontaminan (Gupta and Mohapatra, 2003).

Bakteri yang toleran terhadap logam berat memungkinkan memiliki kandungan logam dengan kepekaan lebih besar daripada biasa (Yazid, 2007). Adanya kontaminasi berupa logam berat dapat menekan fungsi enzimatik bakteri (Singh *et al.*, 2014). Cara yang dilakukan untuk mengurangi pencemaran logam berat yaitu menggunakan mikroorganisme dengan cara detoksifikasi, biohidrometalurgi, bioleaching dan biometalurgi dan bioakumulasi (Atlas and Bartha, 1981; Baldi, *et al.*, Rai and Malick, 1992):

1. Detoksifikasi (biosorpsi), merupakan perubahan ion logam berat yang bersifat toksik menjadi senyawa yang bersifat tidak toksik. Proses ini umumnya berlangsung dalam kondisi anaerob.
2. Biohidrometalurgi, merupakan perubahan ion logam yang terikat pada suatu senyawa yang tidak larut dalam air menjadi senyawa yang larut dalam air.
3. Bioleaching merupakan aktivitas mikroorganisme dalam melarutkan logam berat dari senyawa yang mengikatnya dalam bentuk ion bebas. Biasanya mikroba menghasilkan asam dan senyawa pelarut untuk membebaskan ion logam dari senyawa pengikatnya. Proses ini biasanya diikuti dengan akumulasi ion logam.
4. Bioakumulasi merupakan interaksi mikroba dan ion-ion logam yang berhubungan dengan lintasan metabolisme.

Beberapa bakteri yang resisten terhadap selenium telah berhasil diisolasi diantaranya: (1) *Ralstonia metallidurans* merupakan bakteri yang dapat hidup terhadap selenite hingga konsentrasi 6 mM. (2) *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis*, memiliki kemampuan untuk mereduksi selenit, bakteri ini mampu

mereduksi sekitar 90% pada konsentrasi 400 µg/ml, sedangkan *Bacillus subtilis* mereduksi sekitar 85% dari konsentrasi 22 awal selenit 200 g/ml, (3) *Bacillus* sp. mampu mereduksi selenat pada kondisi anaerob (Roux *et al.*, 2001; Kashiwa *et al.*, 2001; Javed *et al.*, 2016).

2.3.2 Mekanisme Resistensi Bakteri Terhadap Logam Selenium

Sebagian bakteri terbukti memiliki kemampuan resistensi terhadap selenium. Resistensi tersebut tergantung dari reduksi selenat dan selenit kedalam bentuk selenida. Selenium bentuk anion metil selenida atau selenol terbukti dapat menginduksi apoptosis pada sel tumor dalam bentuk selenometionin dan selenosistein terbukti mampu menginduksi apoptosis pada sel kanker melalui aktivasi kapsul. Hal ini menandakan jika selenometionin dan selenosistein tidak toksis jika dibandingkan dengan selenat dan selenit (Amalia, 2017).

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

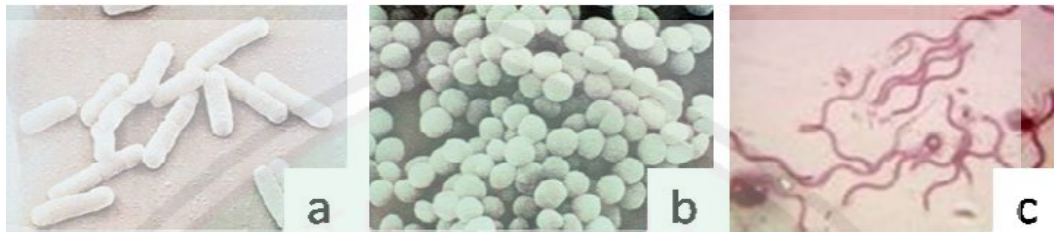
Mekanisme detoksifikasi selenium terjadi ketika bakteri terpapar selenium dalam bentuk selenit (SeO_3^{2-}) dan selenat (SeO_4^{2-}). Pada membran luar bakteri SeO_3^{2-} akan melalui dua jalur mekanisme yang berbeda. Pertama, SeO_3^{2-} akan langsung direduksi oleh FDh menjadi Se0 dan dikeluarkan dari tubuh mikroorganisme. Selain itu, SeO_3^{2-} dapat langsung diproses melalui membran luar menuju membran plasma dan berinkorporasi menjadi protein GS-Se-SG (selenodiglutathione) yang kemudian akan diubah menjadi GS-SeH dan dikonversi lagi lalu dikeluarkan dari sel menjadi $(\text{CH}_3)_2\text{-Se}$ (dimetil 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).

Reaksi ini bisa berperan dalam toksisitas diselenida dan alkilselenol. Mekanisme reduksi SeO_4^{2-} ke elemental selenium dimediasi oleh tiol di sitoplasma (Chaudiere *et al.*, 1992). 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 Se0 atau SeO_3^{2-} masuk ke dalam plasma sel dan berinkorporasi menjadi asam amino dan protein (Van, 2017).

2.4 Bakteri

Bakteri berasal dari kata: “*Bakterion*” yang memiliki arti tongkat atau batang. Istilah bakteri banyak dipakai untuk tiap makhluk hidup yang bersel satu (Adam, 1992). Bakteri termasuk mikroorganisme yang memiliki banyak jenis

dengan berbagai bentuk seperti bulat, batang, spiral, koma atau vibrios (Gambar 2.3).



Gambar 2.3. Bentuk sel bakteri (a) Basil, (b) Kokus, (c) Spiral (Kayser, 2005)

Bakteri merupakan kelompok organisme yang tidak memiliki membran inti sel, berukuran sangat kecil, dan memiliki peran besar dalam kehidupan (Madigan, 2009). Bakteri memiliki sel tunggal, berukuran $0,5 - 1,0 \mu\text{m}$ dengan lebar $0,5 - 2,5 \mu\text{m}$ tergantung pada jenisnya (Buckle *et al.*, 1987). Segala ciptaan Allah SWT memberi manfaat bagi hambanya, baik itu hal kecil. Bakteri merupakan makhluk yang berukuran sangat kecil dan penting untuk diteliti karena habitatnya yang kosmopolit, proses pertumbuhannya yang dapat diamati dalam waktu yang relatif singkat, hingga manfaatnya bagi kehidupan manusia. Allah SWT berfirman dalam surat Yunus (10): 61:

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

Artinya: “Kamu tidak berada dalam satu keadaan dan tidak membaca suatu ayat dari Al Quran dan kamu tidak mengerjakan suatu pekerjaan melainkan Kami menjadi saksi atasmu di waktu kamu melakukannya. Tidak luput dari pengetahuan Tuhanmu biarpun sebesar zarah di bumi ataupun di langit. Tidak ada yang lebih kecil dan tidak (pula) yang lebih besar dari itu, melainkan (semua tercatat) dalam kitab yang nyata (Lauh Mahfudz) (QS. Yunus (10): 61)”.

Lafadz dzarrah dalam bahasa Arab berarti benda kecil yang tidak dapat dibagi lagi. Adapun maksud lafadz ذَرَّةٌ dalam ilmu biologi adalah makhluk paling kecil yang tidak dapat diamati dengan menggunakan mata telanjang, termasuk bakteri yang terdapat dipantai Sendang Biru. Bakteri tidak dapat dilihat hanya dengan mata telanjang tetapi harus menggunakan alat bantu yaitu mikroskop. Berdasarkan penjelasan tersebut, dapat diketahui bahwa keberadaan bakteri merupakan kehendak Allah SWT, sebagaimana yang terkandung dalam kalimat “tidak ada satupun di bumi ini yang luput dari pengetahuan dan penglihatan Tuhanmu” meskipun sebesar dzarrah termasuk bakteri atau yang lebih besar darinya semuanya telah Allah SWT catat dalam Lauh Mahfudz (Shihab, 2002).

Berdasarkan taksonomi, bakteri dikategorikan dalam kerajaan *Monera*, filum *Eubacteria* dan kelas *Schizomutaceae*. Kelas tersebut, kemudian dibagi menjadi beberapa ordo. Bakteri yang berperan dalam bidang pangan umumnya dimasukkan dalam ordo Eubacteriales dan Pseudomonadales. Penggolongan lain didasarkan pada bentuk, ukuran, susunan (*arrangement*), pewarnaan gram, motil (dapat bergerak) tidaknya, ada tidaknya endospora, dan penampakannya sebagai koloni pada medium buatan atau bahan pangan (Fardiaz, 1989).

Sel bakteri terdiri atas membran dan sitoplasma. Selnya terbungkus dinding sel, pada sebagian bakteri dinding sel dikelilingi oleh kapsula atau lapisan lendir. Kapsul tersebut berisi polisakarida dan polipeptida (Suendra, 1991). Kapsul ini umumnya berfungsi untuk melindungi diri baik dari sistem pertahanan tubuh (bagi

patogen) atau dari kondisi lingkungan yang kurang baik, seperti kekeringan, kurang nutrisi dan panas (Victor, 2001).

Bakteri berkembang biak dengan cara pembelahan secara biner. Pertumbuhan bakteri dapat dipengaruhi beberapa faktor seperti, suhu atau temperatur, O₂, CO₂, pH, nutrisi dan cahaya (Suendra, 1991). Bakteri memiliki flagella yang terdapat dalam membran sel, berbentuk seperti cambuk. Flagella ini adalah alat gerak bakteri yang dilakukan dengan cara mendorong bakteri dalam cairan (Gaman and Sherington, 1994).

Berdasarkan komposisi selnya, bakteri dibedakan menjadi bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif dinding selnya terdiri dari peptidoglikan yang tebal sekitar 20-80 nm sehingga memiliki tekstur yang kaku. Sedangkan pada bagian luar peptidoglikan terdapat senyawa yang disebut asam teikhoat yang mengandung alkohol (gliserol atau ribitol) dan fosfat (Pratiwi, 2008). Asam teikhoat berfungsi sebagai transport ion positif untuk keluar atau masuknya ion. Sifat larut air inilah yang menunjukkan bahwa dinding sel bakteri gram positif bersifat lebih polar. Senyawa bioaktif seperti flavonoid, saponin, dan tanin merupakan metabolit sekunder yang bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar daripada lapisan lipid yang nonpolar (Pratiwi, 2017).

Bakteri gram negatif mengandung peptidoglikan dalam jumlah yang sedikit (sekitar 5-10 nm) akan tetapi di bagian luar peptidoglikan terdapat membran luar (*outer membrane*) yang terdiri dari lipid, polisakarida, dan rantai karbohidrat. Bakteri gram negatif memiliki daerah periplasma, yaitu daerah yang terdapat di

antara 10 membran plasma dan membran luar. Di dalam dinding sel bakteri gram negatif tidak terdapat asam teikoat, dan karena hanya memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis maka dinding sel bakteri gram negatif relatif lebih tahan terhadap kerusakan mekanis (Pratiwi, 2008).

2.5 Identifikasi Bakteri

Teknik identifikasi bakteri berbasis sekuens umumnya menggunakan informasi berupa gen pengkode spesifik (Emerson *et al.*, 2008). Di antara beberapa yang digunakan sebagai penanda molekuler teknik rRNA paling banyak digunakan. Pada prokariot terdapat tiga jenis rRNA, yaitu 5S, 16S, dan 23S rRNA. Di antara ketiga gen tersebut, 16S rRNA yang sering digunakan. Hal ini dikarenakan molekul 5S rRNA memiliki urutan basa terlalu pendek, sehingga tidak ideal dalam analisis, sementara molekul 23S rRNA memiliki struktur yang cukup panjang sehingga menyulitkan analisis. Analisis gen penyandi 16S rRNA menjadi prosedur baku untuk menentukan hubungan filogenetik dan menganalisis suatu ekosistem (Pangastuti, 2006).

Pada tahun 1980-an dikembangkan standar terbaru dalam mengidentifikasi bakteri. Penelitian woose menunjukkan bahwa sifat *conserved* dari gen 16S rRNA diduga karena peran dari gen ini terhadap fungsi sel. (Claridge, 2004). Penelitian Nolte (2008) menyatakan bahwa untuk mengidentifikasi bakteri yang berasal dari saluran pernafasan, metode mikrobiologi konvensional dinilai kurang akurat sehingga jarang dilakukan. Metode identifikasi berbasis molekuler dengan amplifikasi asam nukleat dan sekuensing menunjukkan keunggulan dari segi

waktu, sensitivitas dan akurasi yang lebih baik. Penelitian lain oleh Lau *et al*, (2004) menggunakan analisis sekuensing gen 16S rRNA untuk mengidentifikasi *Arcobacter* dari penderita apendisitis akut gangrenosa. *Arcobacter* adalah bakteri gram negatif yang sulit untuk diidentifikasi melalui karakteristik fenotip 3.

Kuppeveld *et al*, (1992) menggunakan sekuensing 16S rRNA untuk menentukan spesies *Mycoplasma* yang secara klinis sulit serta membutuhkan waktu lama untuk ditumbuhkan/dikultivasi. Selain dari isolat klinis, sekuensing gen 16S rRNA juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi bakteri patogen yang terdapat di lingkungan. Magray *et al*, (2011) melakukan identifikasi bakteri patogen dari sumber air minum di Srinagar, India, dan menemukan bahwa *Escherichia coli* adalah bakteri patogen terbanyak. Sekuensing gen 16S rRNA juga digunakan untuk mengidentifikasi bakteri tertentu yang tidak dapat diidentifikasi lagi secara fenotip. Menurut Ochman (2005) Identifikasi bakteri berdasarkan sifat fenotipik memiliki kelemahan utama, yaitu kerapnya terjadi kesalahan dalam pembedaan spesies galur bakteri. Kesalahan tersebut disebabkan hadirnya karakter fenotipik bakteri yang tidak biasa. Terlebih karakter fenotipik bakteri tidak statis dan dapat berubah seiring dengan perubahan kondisi organisme dan lingkungan hingga menyebabkan evolusi.

Streptococcus pneumonia adalah bakteri Gram positif yang dapat dikarakterisasi secara fenotipik berdasarkan sensitivitasnya terhadap antibiotik optochin. Namun saat ini *S. pneumonia* telah mengembangkan resistensi terhadap optochin sehingga diperlukan metode identifikasi lain yang lebih akurat. El Aila *et al*, (2010) melakukan identifikasi *S. pneumoniae* dengan analisis sekuensing gen

16S rRNA dan memberikan hasil yang lebih akurat. Sacchi *et al*, (2002) menggunakan gen 16S rRNA untuk mengidentifikasi *Bacillus anthracis*, bakteri yang sering digunakan dalam bioterorisme.

2.6 DNA

DNA merupakan materi genetik yang diturunkan dari generasi ke generasi. DNA terdiri atas dua rangkaian nukleotida yang tersusun secara linear. Kedua rangkaian tersebut berbentuk seperti tali berpilin (double helix) (Muladno, 2002). DNA berfungsi untuk menyimpan informasi genetik yang diperlukan untuk mencirikan struktur semua protein dan RNA tiap-tiap spesies, untuk membuat program yang tepat untuk menempatkan biosintesis sel dan komponen jaringan secara teratur serta menentukan kekhususan organisme tertentu (Lehninger, 1994).

DNA tersusun atas tiga komponen yaitu asam fosfat, gula, dan basa nitrogen. Gula penyusun DNA adalah gula pentose yang mengandung lima atom karbon C. Basa nitrogen ini terdapat dua jenis yaitu dari golongan purin dan pirimidin. Basa nitrogen golongan purin terdiri dari Guanin (G), dan Adenin (A), sedang golongan Pirimidin terdiri dari Sitosin (C) dan Timin (T). walaupun terdapat empat macam basa nitrogen tetapi satu molekul gula hanya dapat mengikat salah satu jenis basa nitrogen saja (Irawan, 2008). Saat guanin berikatan dengan sitosin, maka terbentuk tiga ikatan hidrogen, sedangkan saat adenin berikatan dengan timin maka terbentuk dua ikatan hydrogen (Faatih, 2009).

DNA yang merupakan materi genetik yang bersifat hereditas dalam seluruh sistem kehidupan. Genom merupakan keseluruhan dari materi genetik (DNA) yang

dimiliki suatu organisme yang terorganisasi menjadi kromosom. DNA dapat diisolasi dari seluruh makhluk hidup. DNA manusia diisolasi melalui darah. Darah manusia terdiri atas plasma darah. Plasma darah tersebut terdiri atas eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih) dan trombosit (platelet). Komponen darah yang diisolasi yaitu sel darah putih. Hal ini karena sel darah putih memiliki nucleus dimana didalam nukleus terdapat DNA. DNA pada tumbuhan juga dapat diisolasi, misalnya pada tumbuhan *Allium cepa* dan *Musa* sp. (Faatih, 2009).

2.6.1 Ribosomal RNA

Ribosom merupakan organel kecil dan padat dalam sel yang terdiri atas protein dan molekul RNA (*ribonucleic acid*). rRNA (ribosomal RNA) merupakan salah satu jenis molekul dari tiga jenis molekul RNA hasil transkripsi (tRNA, mRNA dan rRNA). rRNA dan protein ribosomal bergabung membentuk partikel ribonukleoprotein yang disebut ribosom. Ribosom tersebut berperan dalam sintesis protein (Arham, 2015). Fungsi dari ribosom yaitu dalam proses translasi (sintesis protein) (Yuwono, 2007).

rRNA merupakan molekul yang sempurna karena mempunyai fungsi yang konstan pada tiap organisme, tersebar secara universal, dan mempunyai urutan sekuen yang terkonservasi dengan baik diantara anggota filogenetik yang luas (Madigan *et al.*, 2000). Ribosom disusun oleh molekul-molekul RNA dan beberapa macam protein. Ribosom tersusun atas dua subunit, yaitu subunit kecil dan subunit besar ditunjukkan pada tabel 2.2. Ribosom organisme prokariotik berukuran 70S dan terdiri dari 2 subunit besar dan kecil berukuran 30S dan 50S,

dimana huruf S menyatakan konstanta *Svedberg* yaitu satuan koefisien sentrifugasi. Subunit 30S mengandung rRNA berukuran 16S dan protein sebanyak 21 buah. Sedangkan subunit 50S mengandung rRNA berukuran 5S dan 23S serta protein sebanyak 34 buah (Wulandari, 2011).

Tabel 2.2 Komposisi Ribosom pada prokariot dan eukariot (Yuwono, 2007)

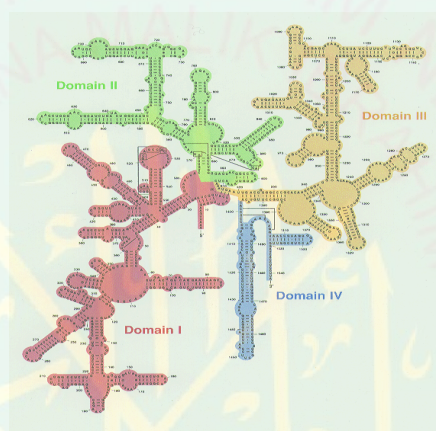
	Subunit	RNA	Protein
Prokariot	30S 50S	16S	21 macam
		5S	31 macam
		23S	
Eukariotik	40S 60S	18S	33 macam
		5S	49 macam
		5,8S	
		28S	

Molekul 16S rRNA mempunyai ukuran sekuen 1541 bp, molekul 23S rRNA mempunyai ukuran sekuen 2904 bp, dan molekul 5S rRNA mempunyai ukuran sekuen 120 bp. Woese (1967) menampilkan tiga domain dari “theory of life” berdasarkan gen yang mengkode ribosom RNA, meliputi eubacteria, archaea, dan eukariot. Gen yang mengkode ribosom RNA bersifat *conserved* (dipertahankan) oleh suatu spesies dan tersebar di seluruh organisme. Urutan DNA pengkode rRNA, yaitu rDNA, digunakan untuk merekonstruksi filogenetik, mengidentifikasi golongan taksonomi suatu organisme, memperkirakan hubungan suatu golongan dengan golongan lainnya, serta mengestimasi tingkat perbedaan suatu spesies dengan spesies lainnya. Ribosom DNA (rDNA) ini penting dalam pembuatan pohon filogenetik yang berkaitan dengan evolusi.

2.6.2 16S rRNA dan Penentuan Pohon Filogeni

16S RNA ribosom atau 16S rRNA merupakan komponen dari subunit kecil 30S pada ribosom prokariot. Panjang sekuen 16S rRNA mencapai 1500 bp

(Gambar 2.4). Sekuen basa tersebut digunakan untuk merekonstruksi filogeni. 16S rRNA mempunyai fungsi, antara lain menerjemahkan posisi protein dari ribosom, berinteraksi dengan 23S dan membantu dalam pengikatan dua subunit ribosom yaitu unit 50S dan 30S, serta menstabilkan pasangan kodon-antikodon melalui pembentukan ikatan hidrogen antara atom N1 dari adenine dengan 'OH pada mRNA (Weisburg *et al.*, 1991).



Gambar 2.4 Struktur sekunder dari 16s rRNA (Serianni, 2019)

16S rRNA digunakan sebagai penanda molekuler dikarenakan memiliki sifat ubikuitus dengan fungsi yang identik pada seluruh organisme. Molekul ini dapat berubah sesuai jarak evolusinya, sehingga dapat digunakan sebagai kronometer evolusi yang baik. Molekul 16S rRNA memiliki beberapa daerah yang memiliki urutan basa yang relatif konservatif. Perbandingan urutan basa yang konservatif berfungsi dalam mengkonstruksi pohon filogenetik universal karena mengalami perubahan relatif lambat dan mencerminkan kronologi evolusi bumi. Sebaliknya, urutan basa yang bersifat variatif dapat digunakan untuk melacak keragaman dalam satu spesies. Jika urutan basa 16S rRNA menunjukkan derajat kesamaan yang rendah antara dua taksa, deskripsi takson baru dapat dilakukan tanpa

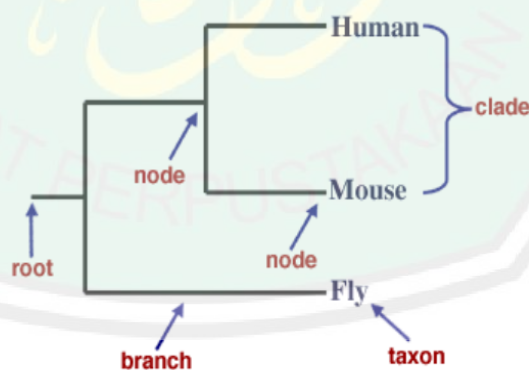
hibridisasi DNA (Stackebrandt and Goebel, 1995). Jika derajat kesamaan urutan basa gen penyandi 16S rRNA kurang dari 97% spesies tersebut dianggap sebagai spesies baru (Pangastuti, 2006).

Identifikasi bakteri berdasarkan gen 16S rRNA dilakukan dengan melihat perbandingan urutan basa yang konserf. Jika urutan basa memiliki persamaan yang tinggi maka strain tersebut dimasukkan dalam spesies yang sama. Hasil analisis gen 16S rRNA dengan homologi kurang dari 98% menandakan bahwa spesies yang dibandingkan merupakan spesies berbeda, homologi antara 93-95% menunjukkan bahwa spesies tersebut dibandingkan pada genus yang berbeda dan homologi antara 89-93% menunjukkan spesies yang dibandingkan pada famili yang berbeda. Data urutan basa dari berbagai spesies mikroba telah dikumpulkan dalam database. Kumpulan data spesies tersebut berisi data klasifikasi, diagnosa dilakukan analisis berdasarkan perasamaan urutan basa menggunakan jarak matrik, metode yang sering digunakan adalah *Multiple Sequence Alignment* (MSA) (Wulandari, 2011).

Prinsip pengamplifikasi gen 16S rRNA dengan teknik PCR menggunakan DNA template dapat dibuat pustaka klon gen tersebut. Sekuen dari gen 16S rRNA tersebut dapat berfungsi dalam mengetahui sifat-sifat dari organisme yang belum terspesiesi, mengidentifikasi model untuk kultivasi (dari kerabat dekat), sintesis pelacak oligonukleotida bertujuan untuk identifikasi; pemisahan morfologi, fisik, deteksi pertumbuhan spesifik dalam kultur campuran, dll. Karena kemudahan dan kecepatannya, saat ini teknik PCR digunakan secara luas sebagai metode dalam mengamplifikasi fragmen DNA spesifik. Beberapa primer universal yang dapat

digunakan untuk amplifikasikan gen 16S rRNA pada bakteri, meliputi 23F dan 24F serta 1392R dan 1492R (penomoran primer mengikuti konsensus sekuen 16S rRNA *E. coli*) (Zulfiana, 2008).

Fungsi filogenetik menurut Alpert (1994) adalah untuk menentukan hubungan evolusi diantara subgenera. Dalam studi filogenetik, cara paling tepat untuk menentukan hubungan kekerabatan beberapa organisme yaitu dengan membuat pohon filogenetik. Fungsi pohon filogenetik adalah untuk membatasi taksa masing-masing kelompok individu yang saling terhubung. Pohon filogenetik terdiri dari *node* dan cabang. Dimana *node* mewakili unit taksonomi berupa individu, spesies dan populasi, sedangkan cabangnya mewakili hubungan antar unit taksonomi. Satu cabang pada pohon filogenetik dapat menghubungkan dua *node* atau lebih yang masih berkerabat. Percabangan tersebut dinamakan opologi (Sukartiningrum, 2012).



Gambar 2.5 Struktur pohon filogenetik (Theobald, 2004)

Struktur pohon filogenetik pada gambar terdiri atas *root*, *branch*, *node*, *branch length*, dan *clade* (Gambar 2.5). *Root* merupakan nenek moyang semua taksa, *branch* menggambarkan hubungan antar taksa. *Node* mewakili unit

taksonomi yang berupa suatu spesies. *Branch length* mewakili jumlah perubahan yang terjadi. *Clade* berupa kelompok dua taksa atau lebih (Sukartiningrum, 2012).



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif kualitatif dan eksperimental. Penelitian bersifat deskriptif kualitatif karena data hasil pengamatan berupa hasil amplifikasi pita DNA gen 16S rRNA. Sedangkan, penelitian bersifat eksperimental dilakukan dengan eksplorasi keberadaan gen 16S rRNA dalam isolat bakteri resisten selenat yang berasal dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Malang.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari – Juni 2019. Bertempat di Laboratorium Mikrobiologi dan Genetika Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Sedangkan, *sequencing* dilakukan di Bioneer Korea Selatan.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, *laminar Air Flow*, inkubator, oven, panci destruks, timbangan analitik, PCR *Thermal Cyler*, lemari pendingin -20 °C, seperangkat alat elektroforesis dengan *power supply*, *gel-doc transilluminator*, *microwave*, mikropipet, tip biru, tip kuning, tip putih, cawan petri, tabung reaksi, bunsen, gelas ukur 100 ml, gelas beaker, erlenmeyer,

pipet volume, bola hisap, spatula, pengaduk kaca, stirrer, jarum ose, tube 1.5 ml, sentrifuge, pipet tetes, *deck glass*, *cover glass*, korek, Bunsen, plastik, plastic wrap, aluminium foil, tisu, kapas, karet, kertas label, hotplate, dan *spin down*.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media *Natrium agar*, aquades, alkohol 70%, nuclease free water, sukrosa, *loading dye*, 2,5 taq polymerase, natrium selenat (Na_2SeO_4), pcr mix, dNTP, GeneRuler™ 1 Kb Ladder (Intron), *ethidium bromide* (EtBr), gel agarosa 1 % dan primer 306F dan 935R, 10 isolat bakteri koleksi laboratorium mikrobiologi Universitas Islam Negeri Malang.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan Media NA

Media NA dibuat menurut acuan jurnal Tandah (2016) untuk volume 1000 ml media membutuhkan Sebanyak 23 gr NA yang dilarutkan dalam 1000 ml akuades kemudian media dipanaskan dan diaduk dengan menggunakan magnetik stirrer sampai homogen. Media yang sudah homogen kemudian dituang dierlenmeyer dengan total volume 20 ml dengan diberi penambahan selenat (konsentrasi 0; 2,5; 5; 10 mM). Ditutup dengan kasa dan plastik wrap kemudian disterilisasi pada suhu 121 °C tekanan 1 atm. Media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C untuk mengetahui adanya kontaminan.

3.4.2 Preparasi Isolat Bakteri dan Uji Resistensi Selenat

Isolat bakteri disimpan gliserol stok dengan suhu $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Isolat diambil sebanyak $10\text{ }\mu\text{L}$ dan dituang dalam media padat NA yang telah diberi campuran natrium selenat (Na_2SeO_4) dengan konsentrasi 0, 2,5 5, dan 10 mM. kemudian diinkubasi selama 24 jam. Penuangan isolat bakteri dilakukan dengan teknik sebar (*Spread Plate*). Setelah bakteri tumbuh kemudian dilanjutkan pengujian untuk mengetahui bakteri tersebut resisten terhadap selenat. Uji resistensi selenat diujikan terhadap 10 isolat bakteri yang berasal dari koleksi laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Dalam uji resistensi ini dipilih 4 isolat yang memiliki kemampuan dalam resistensi selenat. kemudian diinkubasi dengan suhu $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 7x24 jam secara anaerobik. Terbentuknya koloni berwarna merah pada media mengindikasikan terjadinya perubahan selenat menjadi selenium elemental.

3.4.3 Amplifikasi dengan Direct PCR

Proses amplifikasi gen penyandi 16S rRNA dari bakteri pengakumulasi selenium dilakukan dengan metode *Direct PCR Amplification*. Metode ini dilakukan dengan cara mengambil koloni tunggal bakteri dalam cawan petri menggunakan menggunakan tusuk gigi steril dan dipindahkan ke dalam tube kemudian ditambahkan PCR mix $25\text{ }\mu\text{L}$, DNA template $1\text{ }\mu\text{L}$, Primer forward $1\text{ }\mu\text{L}$ 10 pmol, primer reverse $1\text{ }\mu\text{L}$ 10 pmol, ddH₂O $7,5\text{ }\mu\text{L}$, PCR mix $12,5\text{ }\mu\text{L}$. Primer yang digunakan dalam penelitian ini adalah 306F (5'-CCA GAC TCC TAC GGG AGG CAG C-3 ') sebagai *forward primer* dan 935R (5'-CGA ATT AAA CCA CAT GCT CCA C-3 ') sebagai *reverse primer*. Proses amplifikasi gen penyandi

16S rRNA dari bakteri pengakumulasi selenium dilakukan dengan kondisi denaturasi awal yaitu suhu 94 °C selama 2 menit, denaturasi 94 °C selama 30 detik, annealing pada suhu 50 °C selama 40 detik, elongasi pada suhu 72 °C selama 40 detik dan pemantapan 72 °C selama 2 menit. Proses denaturasi, annealing dan polimerisasi dilakukan sebanyak 30 siklus.

3.4.4 Uji Kualitas DNA

Sebanyak 250 mL larutan buffer TBE 1x dibuat dengan mencampurkan 5 mL TBE 50x kedalam 245 mL aquades. Gel agarosa 1% dibuat dengan cara 0,2 g agarosa dilarutkan ke dalam buffer TBE 1x hingga volum 20 mL. sebanyak 10 µL sampel DNA dan 2 µL *loading dye* 6x dimasukkan kedalam sumur gel. *Elektroforesis* dilakukan pada voltase 100 V dan waktu *running* 30 menit. Kemudian hasil *elektroforesis* dilihat dengan menggunakan alat *Geldoc*.

3.4.5 Sekuensing gen penyandi 16S rRNA

Hasil amplifikasi yang didapatkan kemudian dilakukan proses *sequencing* menggunakan jasa Bioneer Korea Selatan. Hasil *sequencing* yang diterima kemudian dianalisis menggunakan web NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) program BLAST (Basic Local Alignment Search Tools) secara online (Haddad *et al.*, 2014). Selanjutnya data dianalisis dengan cara mensejajarkan sekuens isolat yang diperoleh dengan sekuens bakteri pembanding yang diperoleh dari GenBank NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Kemudian sekuens disejajarkan dengan program Mega (Thompson, 1997). File fasta hasil penyejajaran kemudian diimport ke dalam program MEGA 6.0 untuk dibuat pohon filogenetik dengan menggunakan metode algoritma *Neighbor Joining* (NJ).

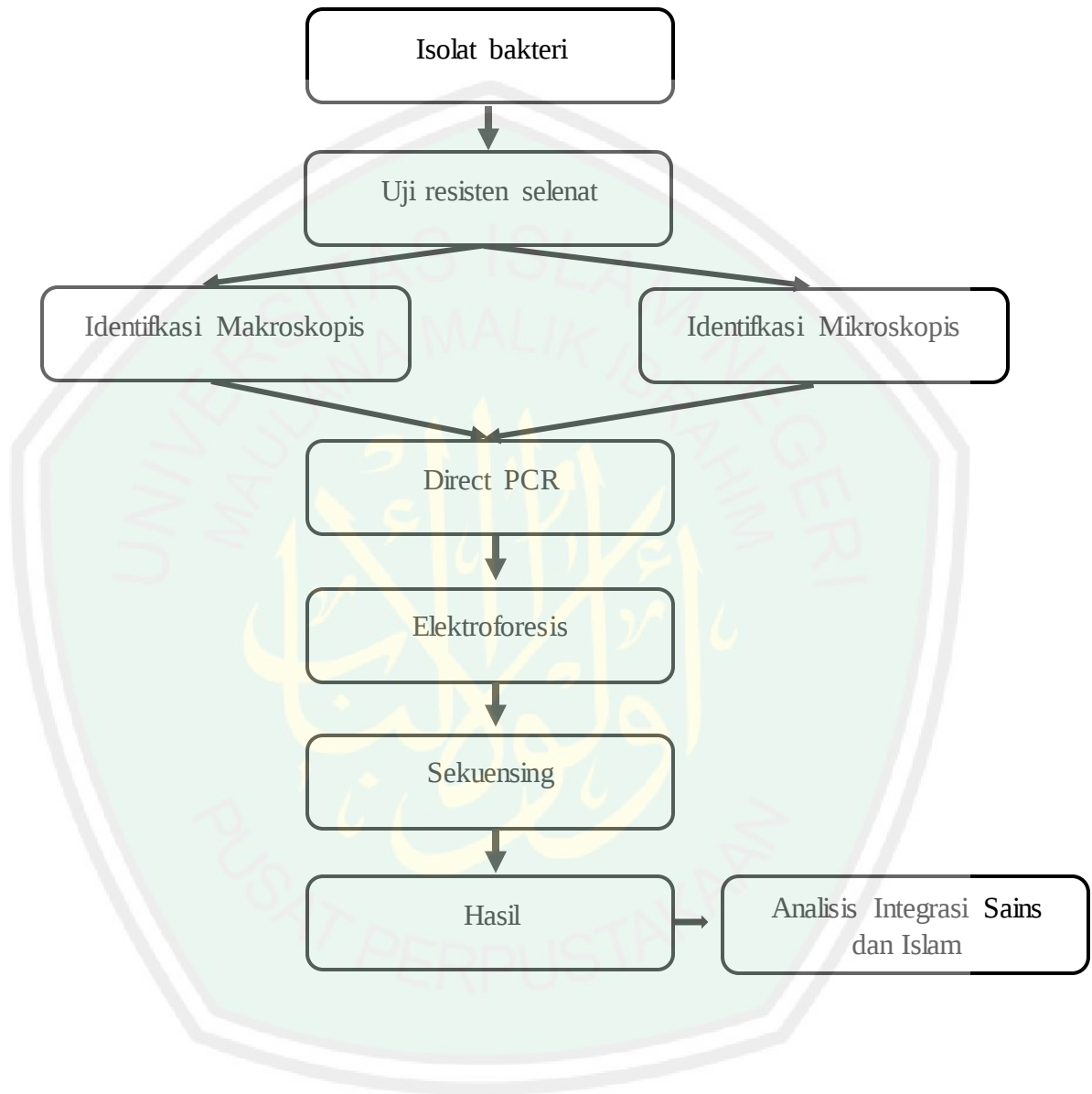
3.4.7 Analisis Data

Data berupa hasil koloni bakteri yang memiliki kemampuan resisten terhadap selenat dengan konsentrasi 0; 2,5; 5, dan 10 mM yang disajikan secara deskriptif dan kualitatif berdasarkan kualitas DNA berdasarkan gen 16S rRNA menggunakan elektroforesis dengan primer 306F dan 935R. Adapun untuk mengetahui jenis spesies dilakukan *sequencing* sehingga diperoleh susunan basa nukleotidanya dan dilanjutkan pembuatan pohon filogenetik.

3.5 Analisis Integrasi Sains dan Islam

Penelitian ini bertujuan untuk menjadikan Al-Qur'an dan hadits sebagai alat analisis dalam ilmu pengetahuan Sains sehingga menumbuhkan pemahaman tentang kesadaran dalam konsep islam.

3.6 Desain Penelitian



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Kemampuan Bakteri Resisten Selenat

Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari koleksi laboratorium Mikrobiologi sebanyak 10 isolat yang diberikan kode sebagai berikut: LM-1, LM-2, LM-3, LM-4, LM-5, LM-6, LM-7, LM-8, LM-9, dan LM-10. Sampel isolat bakteri selanjutnya diinokulasi kedalam media NA yang mengandung natrium selenat (Na_2SeO_4) dengan konsentrasi 0; 2,5; 5, dan 10 mM. Sampel diinkubasi selama 7 hari dengan suhu 25 °C.

Uji resistensi terhadap selenat bertujuan untuk mendapatkan bakteri yang mempunyai kemampuan resistensi terhadap selenium yang memiliki toksisitas tinggi atau dalam bentuk selenat. Menurut Fujita, *et al* (1997) selenat lebih sukar dikurangi daripada selenit dikarenakan selenat memiliki nilai oksidasi lebih tinggi daripada selenit. Hasil uji resistensi selenat pada 10 isolat bakteri tersebut dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil isolat bakteri yang tumbuh pada media NA dengan diberi penambahan natrium selenat.

Isolat Bakteri	Konsentrasi natrium selenat			
	0 mM	2,5 mM	5 mM	10 mM
LM-1	+	+	-	-
LM-2	+	-	-	-
LM-3	+	+	-	-
LM-4	+	-	-	-
LM-5	+	++	++	++
LM-6	+	-	-	-
LM-7	+	-	-	-

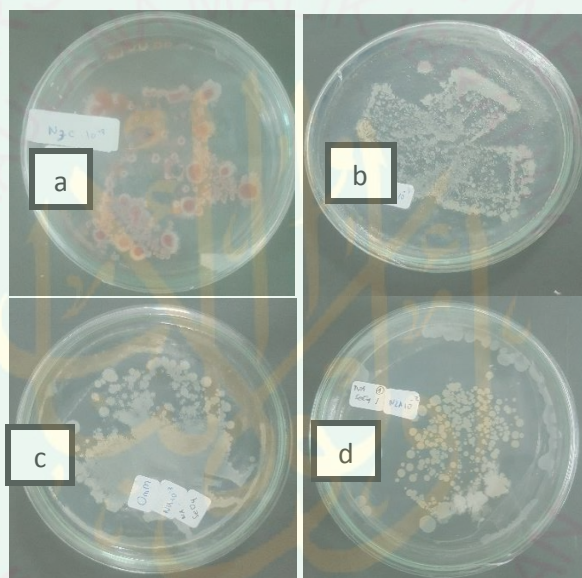
LM-8	+	-	-	-
LM-9	+	-	-	-
LM-10	+	+	-	-

Keterangan : (+) bakteri tumbuh warna putih
 (++) bakteri tumbuh warna merah
 (-) tidak tumbuh

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa terdapat 3 isolat bakteri yang resisten terhadap selenat pada konsentrasi 2,5 mM, yakni isolat LM-1, LM-3, LM-10. Ketiga isolat tersebut mampu tumbuh dalam media yang mengandung 2,5 mM selenat dengan koloni berwarna putih yang menandakan bahwa isolat tersebut resisten terhadap selenat tetapi tidak mengakumulasinya. Berdasarkan Ellis *et al*, (2004) kemampuan organisme dalam meresistensi selenium dipegang oleh salah satu enzim yaitu enzim selenometil transferase (SMT). Enzim ini adalah protein fungsional yang disandi oleh gen SMT. Gen SMT disebut sebagai gen yang menyandi sifat resistensi selenium dengan cara mengkatalisis proses transfer gugus metal S-adenosi-metionin untuk memetilasi selenosistein menjadi protein selenometil selenosistein (Se-MSC) (Nauhierl *et al.*, 1999). Hasil katalisis berupa selenoprotein yang tidak toksik pada makhluk hidup (Dumont, 2006).

Satu isolat lainnya yakni isolat LM-5 memiliki kemampuan resistensi terbaik terhadap selenat. Isolat ini mampu tumbuh pada media yang diberi penambahan selenat pada konsentrasi 10 mM dengan koloni berwarna merah yang menandakan bahwa isolat tersebut resisten terhadap selenat dan mengakumulasinya. Berdasarkan hal tersebut diketahui bahwa LM-5 memiliki resistensi tertinggi terhadap selenat (Gambar 4.1.a). Menurut Hunter *et al*, (2009) bakteri yang diisolasi berwarna merah muda sampai merah pekat pada media yang

mengandung selenat disebabkan oleh akumulasi dari unsur ini. Warna merah mengindikasikan selenat yang berwarna merah (lampiran 7) telah dirubah menjadi selenium elemental dalam tubuh bakteri (Avendaño *et al.*, 2016). Selenium elemental disimpan sebagai granul diskrit dalam sitoplasma (Tomei *et al.*, 1995). Oremland *et al.*, (2004) menyatakan bahwa akumulasi granul (Se^0) dapat terjadi secara intraseluler maupun ekstraseluler.



Gambar 4.1 a) koloni isolat LM-5 yang diberi selenat dengan konsentrasi 10 mM, b,c,d) koloni isolat LM-1, LM-3, dan LM-10 yang diberi selenat dengan konsentrasi 2,5 mM.

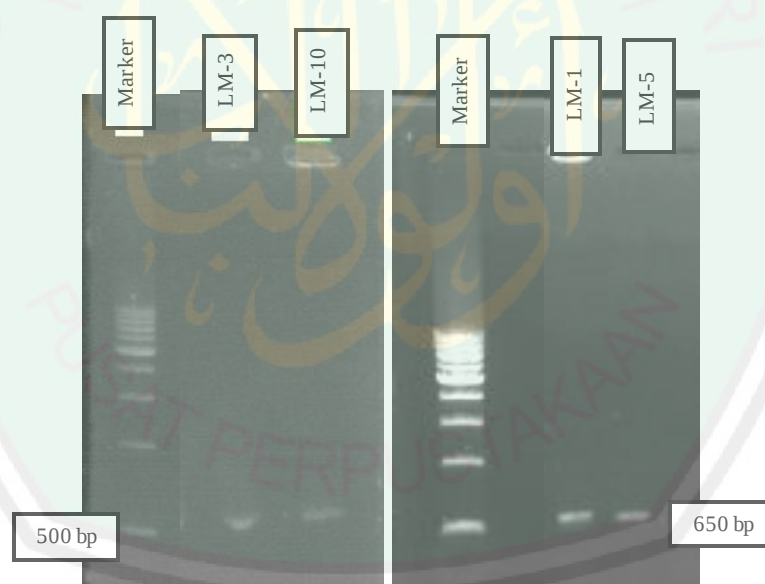
Hasil pengamatan pada isolat lain, yaitu: LM-2, LM-4, LM-6, LM-7, LM-8, dan LM-9 tidak ditumbuhi koloni bakteri yang menandakan isolat tersebut tidak resisten terhadap selenat. Berdasarkan Avendaño *et al.*, (2016) bakteri yang tidak memiliki pelengkap enzimatik maka tidak dapat melakukan proses respirasi selenat. Proses tersebut bertujuan untuk mereduksi selenat menjadi selenit. Mekanisme reduksi secara umum menurut Macy, *et al* (1993) yaitu mereduksi

selenat (SeO_4^{2-}) menjadi selenit (SeO_3^{2-}) pada bagian membran periplasmik. Reaksi reduksi selenat melibatkan 2 donor elektron (e^-) dan 2 ion hidrogen H^+ yang menghasilkan selenit dan 1 molekul air (H_2O). Reaksi ini dibantu oleh serABC yang merupakan enzim hasil sekresi dari membran periplasmi bakteri yaitu reduktase selenat yang berperan dalam menyediakan donor elektron (e^-). Selenit kemudian direduksi kembali menjadi selenium elemental (Se^0) dalam tubuh bakteri (Debieux *et al.*, 2011). Salah satu mekanisme selenit (SeO_3^{2-}) menjadi selenium elemental (Se^0) terjadi karena adanya donor 4 elektron (e^-) dan 6 ion hidrogen H^+ , yang bereaksi dengan selenit (SeO_3^{2-}) sehingga membentuk 3 molekul air (H_2O). Reduksi selenat (SeO_4^{2-}) menjadi selenium elemental (Se^0) dimediasi oleh tiol disitoplasma sebagai bagian dari detoksifikasi mikroba. Tiol menurut Neuhierl, *et al* (1999) merupakan salah satu enzim pereduksi senyawa selenium, tiol mengandung glution (GSH) dan thioredoxin (TRX) yang disekresikan oleh sitosol dengan fungsi melindungi sel dari berbagai stress oksidatif.

4.2 Identifikasi Molekuler bakteri yang memiliki kemampuan resisten terhadap selenat berdasarkan gen 16S rRNA

Berdasarkan uji resistensi selenat terhadap sepuluh isolat bakteri terdapat empat isolat yang resisten terhadap selenat yaitu isolat LM-1, LM-3, LM-5 dan LM-10. Empat isolat tersebut kemudian diidentifikasi lebih lanjut berdasarkan gen 16S rRNA-nya. Menurut Armougom and Raoult (2009) gen 16S rRNA dapat ini digunakan sebagai penanda molekuler untuk penentuan spesies bakteri. Kemiripan urutan basa nukleotida gen 16S rRNA dapat digunakan sebagai “*gold standard*” untuk mengidentifikasi bakteri sampai pada tingkat spesies

Amplifikasi gen penyandi 16S rRNA pada isolat bakteri LM-1, LM-3, LM-5 dan LM-10 dilakukan dengan menggunakan metode *Direct PCR*. *Direct PCR* menurut Sunarno, *et al* (2013) merupakan metode diagnostik yang cepat, mudah, dan terjangkau. Hal tersebut karena *Direct PCR* tidak membutuhkan proses ekstraksi DNA. Produk dari *Direct PCR* kemudian di elektroforesis pada gel agarosa (1%) untuk mengetahui ukuran dan ada tidaknya pita DNA dengan menggunakan primer spesifik 306F dan 935R. Amplifikasi daerah gen 16S rRNA dari isolat bakteri resisten selenat diharapkan menghasilkan amplifikasi fragmen DNA tunggal dengan ukuran sekitar 650 bp (Romaidi and Ueki, 2016).



Gambar 4.2 Hasil Elektroforesis

Hasil divisualisasi dengan gel doc yang menunjukkan bahwa band dari isolat bakteri LM-1, LM-3, LM-5, dan LM-10 terletak pada daerah dengan ukuran sekitar 650 bp (Gambar 4.2). berdasarkan penelitian Rinanda (2011) bahwa gen 16S rRNA berukuran sekitar 1550 pasang basa dan sekitar 500 basa dibagian

ujung sekuens merupakan daerah yang disebut dengan *hypervariable region*. Daerah ini merupakan bagian yang membedakan antar organisme lain. Primer yang digunakan dalam amplifikasi sekuens akan mengenali daerah yang *conserved* dan mengamplifikasi *hypervariable region*, dengan demikian akan diperoleh sekuens yang khas pada organisme tersebut.

Berdasarkan gambar 4.2 terlihat pita tunggal hasil PCR 16S rRNA pada hasil visualisasi elektroforesis gel agarosa 1%, hal tersebut mengindikasikan bahwa kedua pasang primer dapat mengamplifikasi secara spesifik fragmen DNA yang diharapkan, yakni sekitar 650 bp. Dari hasil visualisasi elektroforesis, maka semua sampel selanjutnya dikirim untuk proses sekuensing. Adapun hasil sekuensing kemudian di Blast pada web server NCBI sehingga diperoleh nama spesies dari bakteri resisten selenium (Tabel 4.2).

Tabel 4.4 Hasil Blast Isolat Bakteri Resisten Selenat

No	Kode Isolat	Hasil Blast		
		Nama Spesies	Identifikasi	Seq Id
1	LM-1	<i>Bacillus megaterium</i> ATCC 14581	99,33%	NR116873.1
2	LM-3	<i>Bacillus megaterium</i> Y108-01	99,66%	GU143907.1
3	LM-5	<i>Bacillus megaterium</i> NBRC 15715	99.33%	NR.113800.1
4	LM-10	<i>Bacillus megaterium</i> 74	99,83%	KX216392.1

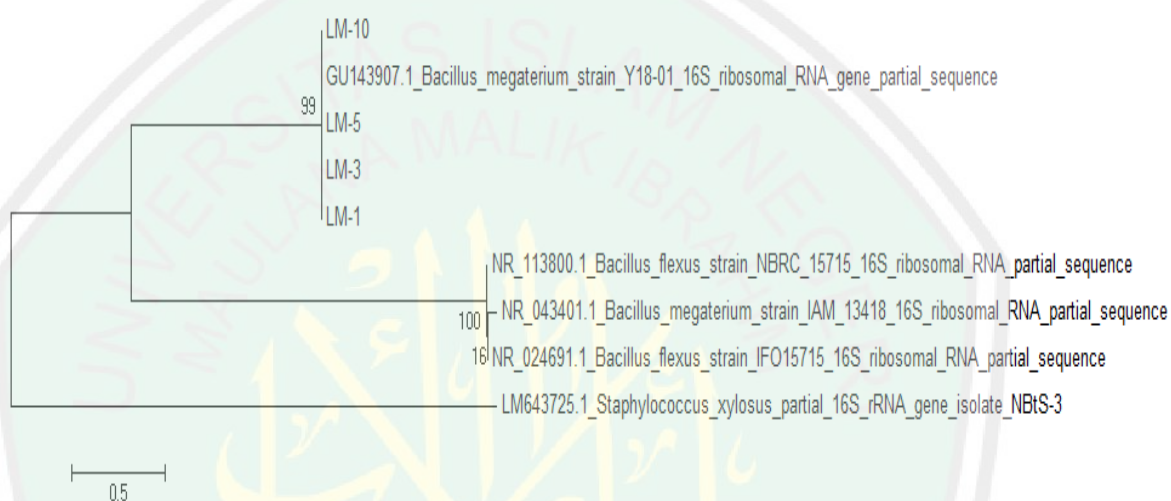
Berdasarkan hasil uji blast semua sekuens DNA isolat bakteri resisten selenat disejajarkan dengan sekuens DNA bakteri lainnya yang terdapat pada server NCBI untuk mengetahui tingkat kemiripannya. Hasil penelitian menunjukkan Kode isolat LM-1 mempunyai kemiripan pada spesies *Bacillus*

megaterium ATCC 14518 sebesar 99,33%, LM-3 mirip dengan *Bacillus megaterium* Y108-01 sebesar 99,66%, LM-5 mirip dengan *Bacillus megaterium* NBRC 15715 sebesar 99,33%, dan LM-10 mirip dengan *Bacillus megaterium* 74 sebesar 99,83%. Menurut Pangastuti (2006) Derajat kesamaan urutan basa gen penyandi 16S rRNA lebih dari 97% bukan spesies baru atau termasuk dalam satu spesies. *Bacillus megaterium* merupakan bakteri aerob, gram positif, berbentuk batang dengan ukuran sel sekitar 1,2-1,5 μm dengan panjang 2,0-2,4 μm , bentuk sel-sel silindris, dan endospora kebanyakan dibentuk dalam 48 jam dengan suhu optimum untuk pertumbuhannya antara 28-35 °C dan suhu maksimumnya antara 40–45 °C (Holt *et al.*, 1994).

Isolat LM-5 merupakan isolat bakteri yang memiliki tingkat resistensi tertinggi terhadap selenat sampai 10 mM, sedangkan isolat lain (LM-1, LM-3, dan LM-10) mampu resisten terhadap selenat hanya sampai 2,5 mM. Hal tersebut menurut penelitian Safura (2018) isolat LM-5 diambil dari lokasi yang memiliki kadar selenium paling tinggi. Dengan demikian isolat bakteri tersebut memiliki kemampuan resistensi tertinggi. Menurut Chojnacka (2010) bakteri yang diisolasi dari lingkungan yang tercemar logam sangat potensial digunakan sebagai agen bioremediasi karena memiliki toleransi dan resistensi logam yang ada disekitarnya.

Hasil blast sekuens kemudian disejajarkan untuk pembuatan pohon filogeni. Metode yang digunakan dalam rekonstruksi pohon filogenetik yaitu *Neighbor Joining method* (Tamura *et al.*, 2011). Berdasarkan hasil rekonstruksi pohon filogenetik diketahui bahwa keempat isolat (LM-1, LM-3, LM-5 dan LM-

6) terdapat dalam satu klad dengan sekuens *Bacillus* lain yang digunakan sebagai pembanding in group. Hal ini menunjukkan kekerabatan yang dekat. Sedangkan sekuens *Staphylococcus xylosus* digunakan sebagai out group yang menandakan adanya perbedaan dengan in group, meskipun dalam satu kingdom (Gambar 4.3).



Gambar 4.3 Rekonstruksi pohon filogeni isolat bakteri yang resisten terhadap selenium.

Allah menciptakan alam seisinya sebagai rahmat untuk kemaslahatan umat manusia. Manusia berhak untuk memanfaatkan kekayaan alam semaksimal mungkin untuk meningkatkan kesejahteraan mereka serta sebagai bentuk rasa syukur atas nikmat yang telah diberikan oleh Allah SWT. Makhluk ciptaan-Nya tersebut terdiri dari berbagai macam jenis tumbuhan, hewan maupun mikroorganisme. Seperti yang disebutkan dalam Al-Qur'an surat Al-Baqarah ayat 26:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ ءَامَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ

Artinya: “Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang kafir mengatakan: "Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?". Dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik”

Lafadz فَمَا فَوْقَهَا (“atau yang lebih rendah dari itu”) pada ayat diatas maksudnya yaitu sesuatu yang lebih rendah dari nyamuk dalam hal makna dan fisik mengingat nyamuk adalah makhluk kecil yang tidak berarti. Adapun ukuran hewan yang lebih kecil dibanding nyamuk antara lain yaitu bakteri. Bakteri adalah organisme uniseluler dan prokariot serta umumnya tidak memiliki klorofil dan berukuran renik (mikroskopis). Bakteri merupakan organisme yang paling banyak jumlahnya dan lebih tersebar luas dibandingkan makhluk hidup yang lain. Bakteri memiliki ratusan ribu spesies yang hidup di darat hingga lautan dan pada tempat-tempat yang ekstrim. Terdapat bakteri yang menguntungkan dan ada pula yang merugikan (Warsito, 1995).

Bakteri yang resisten terhadap selenium merupakan jenis bakteri yang menguntungkan karena mampu mendetoksifikasi selenium yang bersifat toksik menjadi tidak toksik sehingga tidak berbahaya dilingkungan. Dalam konteks agama kerusakan lingkungan bertentangan dengan tugas dan fungsi manusia sebagai hamba Allah dan *Khalifatullah fil ardl'* yang berkewajiban untuk

melakukan proses pengolahan dan pemeliharaan alam dan lingkungan sebagai media untuk beribadah kepada Allah.

Berdasarkan hal tersebut dapat dipahami bahwa terdapat pesan yang terkandung dalam Al-Qur'an yang bersifat menyeluruh, tidak hanya berputar dalam persoalan agama, melainkan juga terdapat ilmu pengetahuan atau Sains. Manusia dapat mengambil pesan dalam Al-Qur'an berupa ilmu pengetahuan untuk menjalankan tanggung jawab sebagai khalifah. Menurut Fakhri (2010) Al-Qur'an adalah landasan religius seluruh aspek kehidupan. Al-Quran merupakan inspirasi kehidupan yang mengarah kepada kebenaran dan kebaikan, memberikan ide moral pada seluruh aspek kehidupan manusia.

Penelitian ini bertujuan memberikan informasi tentang kemampuan isolat bakteri dalam resisten terhadap selenat. Isolat bakteri yang memiliki kemampuan dalam meresistensi selenat sehingga merubah dari selenat yang bersifat toksik menjadi tidak toksik, kemudian dilakukan uji lanjutan secara molekuler berdasarkan gen 16S rRNA untuk mengetahui jenis spesiesnya. Fungsi dari identifikasi molekuler dapat digunakan sebagai referensi dan solusi dalam menanggulangi pencemaran akibat selenium. Dengan berkurangnya pencemaran dan pengrusakan maka akan membuat kesejahteraan seluruh makhluk di bumi ini. Hal tersebut sesuai dengan tugas khalifah yaitu memakmurkan bumi.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dalam penelitian ini meliputi:

1. Berdasarkan hasil uji resistensi 10 isolat bakteri koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang terhadap selenat didapatkan 3 isolat bakteri yaitu LM-1, LM-3, dan LM-10 yang resisten terhadap selenat pada konsentrasi 2,5 mM dan 1 isolat bakteri yaitu LM-5 yang resisten terhadap selenat pada konsentrasi 10 mM.
2. Berdasarkan uji identifikasi molekuler terhadap keempat isolat resisten selenat tersebut didapatkan hasil bahwa LM-1 mempunyai kemiripan dengan *Bacillus megaterium* ATCC 14581 sebesar 99,33%, LM-3 dengan *Bacillus megaterium* Y108-01 sebesar 99,66 %, LM-5 dengan *Bacillus megaterium* NBRC 15715 dengan *Bacillus megaterium* NBRC 15715 sebesar 99,33%, dan LM-10 dengan *Bacillus megaterium* 74 sebesar 99,83%.

5.2 Saran

Saran dalam penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukan uji resistensi isolat bakteri terhadap selenat dengan menggunakan jenis media lainnya selain NA.
2. Perlu dilakukan identifikasi gen *SMT* untuk mengetahui mekanisme resistensi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, Ghoffar M. 2004. *Tafsir Ibnu Katsir*. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'I.
- Abdullah, Amin. 1997. *Falsafah Kalam di Era Post Modernisme*. Jakarta: Pustaka Pelajar,
- Adam, S. 1992. *Dasar-Dasar Mikrobiologi dan Parasitologi untuk Perawat*. Jakarta: EGC.
- Al Jazairi, Abu Bakar Jabir. 2007. *Tafsir Al-Qur'an Al-Aisar*. Jakarta: Darus Sunnah Press.
- Amalia, Wafiatun. 2017. *Bioakumulasi Selenium oleh Bakteri Resisten Selenium yang Diisolasi dari Pantai Utara (Desa Campurejo Kecamatan Penceng Gresik)*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang. Malang. Skripsi.
- Amman, RI., Ludwig, W., Schleifer, K.H. 1995. Phylogenetic Identification and In Situ Detection of Individual Microbial Cells without Cultivation. *Microbiol Rev*. 59(1): 143-69.
- Alpert G., D. 1994. A comparative study of the symbiotic relationships between beetles of the genus *Cremastocheilus* (Coleoptera, Scarabaeidae) and their host ants (Hymenoptera, Formicidae). *Sociobiology*. 25: 1-266.
- Arifin, A. R. 2006. *Perencanaan Daya Mesin Kapal Ikan Yang Telah Dilengkapi Cold Storage Untuk Daerah Sendang Biru*. www.mysciencework.com. Diakses pada tanggal 20 Maret 2019.
- Arunakumara, K. K. I. U., and Zhang, X. 2008. Heavy Metal Bioaccumulation and Toxicity with Special Reference to Microalgae. *Journal of Ocean University of China*. 7(1). 60-64.
- Atlas, R. M., and Bartha, R. 1981. *Microbial ecology: fundamentals and applications*. Amerika Serikat: Addison-Wesley Publishing Company.
- Armougom, F., and Raoult, D. 2009. Exploring microbial diversity using 16S rRNA highthroughput methods. *JCSB*. 2:074-092
- Avendaño, R., Chaves, N., Fuentes, P., Sánchez, E., Jiménez, J. I., and Chavarría, M. 2016. Production of selenium nanoparticles in *Pseudomonas putida* KT2440. *Scientific Reports*. 6: 1-9.
- Baldi, F., Vaughan, A. M., and Olson, G. J. (1990). Chromium (VI)-resistant yeast isolated from a sewage treatment plant receiving tannery wastes. *Applied and Environmental Microbiology*. 56(4). 913-918.
- Berrow M.L., Ure A.M., In: Ihnat M. 1989. *Occurrence and Distribution of Selenium*. Florida, U.S.A: CRC Press, Boca Raton.

- Bodnar, M., Konieczka, P., and Namiesnik, J. 2012. The Properties, Functions, and Use of Selenium Compounds in Living Organisms. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*. 30(3). 225-252.
- Boyd, R. 2011. Selenium stories. *Nature chemistry*. 3(7). 570.
- Budiyanto, Fitri. 2014. Siklus Selenium dan Dampaknya terhadap Lingkungan Laut. *Oseana*, 39: 55-56.
- Buckle, K. A., Edwards, R. A., Fleet, G. H., and Wootton, M. 1987. *Ilmu Pangan Edisi kedua*. Jakarta: UI Press. Terjemahan dari: Food Science.
- Buthelezi, S. P., Olaniran, A. O., and Pillay, B. 2009, Turbidity and microbial load removal from river water using biofloculants from indigenous bacteria isolated from wastewater in South Africa. *African Journal of Biotechnology*. 8(14).3261-3266.
- Burton, G. A., Giddings, T. H., Debrine, P., Fall, R. 1987. High Incidence of Selenite-Resistant Bacteria from a Site Polluted with Selenium. *Applied and Environmental Microbiology* 53(1): 185-188.
- Chapman, P. M., Adams, W. J., Brooks, M. L., Delos, C. G., Luoma, S. N., Maher, W. A., Ohlendorf H. M., Presser, T. S., and 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*. New York: CRC Press.
- Chaudiere, J., Courtin, O., and Leclaire, J. 1992. Glutathione oxidase activity of selenocystamine: a mechanistic study. *Archives of biochemistry and biophysics*. 296(1): 328-336.
- Chipasa, K. B. 2003. Accumulation and Fate of Selected Heavy Metals in a Biological Wastewater Treatment System. *Waste Management*. 23(2). 135-143.
- Chojnacka, K. 2010. Biosorption and Bioaccumulation-The Prospects for Practical Applications. *Environment International*. 36(3), 299-307.
- Coenye T., and Vandamme, P. 2003. Intragenomic heterogeneity between multiple 16S ribosomal RNA operons in sequenced bacterial genomes. *FEMS Microbiol. Lett.* 228 (1): 45–49.
- Crawford, RL. 1998. *Bioremediation. Principles and application*. Australia: Melbourne Cambridge university press.
- Dafa'alla, Trig H., Gerd, H., and Horzt, Z. 2000. Direct Colony Identification by PCR-miniprep. *Molecular Biology Today*. 1(3).
- Debieux, C. M., Dridge, E. J., Mueller, C. M., Splatt, P., Paszkiewicz, K., Knight, L., and Richardson, D. J. 2011. A Bacterial Process for Selenium Nanosphere Assembly. *Proceedings of the National Academy of Science*. 108(3): 13480-13485.

- Dharmawibawa, I.D. 2004. *Isolasi, Identifikasi dan Uji Kemampuan Bakteri Pengurai Minyak Solar dari Perairan Pelabuhan Benoa Bali*. Bali: Universitas Udayana.
- Dietz, R., F. Riget., and E.W. Born. 2000. An Assessment of Selenium to Mercury in Greenland Marine Mammals. *The Science of the Total Environment*. 245: 15-24.
- Dilaga, SH. 1992. *Nutrisi Mineral Pada Ternak. Kajian Khusus Unsur Selenium*. Jakarta: Akademika.
- Diplock, A., 1981. Metabolic and Functional Defects in Selenium Deficiency. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 294(1071): 105-117.
- Dodig, S., dan Cepelak, I. 2004. The Fact and Controverses About Selenium. *Acta Pharm*. 54: 261-276.
- Dong Y, HE Ganther, C Stewart, and C Ip. 2002. Identification of Molecular Target Associated with Selenium-induced Growth Inhibition in Human Breast Cells Using cDNA Microarrays. *Cancer Research*. 62: 708-714.
- Dumont, E., Ogra, Y., Vanhaecke, F., Suzuki, K. and Cornelis, R. 2006. Liquid chromatography–mass spectrometry (ICP–MS): A powerful combination for selenium speciation in garlic (*Allium sativum*). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 384: 1196- 1206.
- Dungan RS, Frankenberger WT. 1999. Microbial transformations of selenium and the bioremediation of seleniferous environments. *Biorem J* (3):171–188
- El Aila, N. A., Emler, S., Kajjalainen, T., Baere, T.D., Saerens, B., Alkan, E., Deschaght, P., Verhelst, P., and Vaneechoutte, M. 2010. The Development of a 16S rRNA Gene Based PCR for the Identification of *Streptococcus pneumoniae* and Comparison with Four Other Species Specific PCR Assays. *BMC Infectious Diseases*. 2010. 104(10):1-8.
- Ellis, D. R., Sors, T, G., Brunk D.G., Albrecht, C., Orser, C., and Lahner, B. 2004. Production of Se-methylselenocystein in Transgenic Plants Expressing Selenocysteine Methyltransferase. *BMC Plant Biology*. 4(1): 1-11.
- Emerson, David, Agulto, L., Liu, H., dan Liu, L. 2008. Identifying and Characterizing Bacteria in an Era of Genomics and Proteomics. *BioScience*. 58 (10): 925-936.
- EPA. 2014. *Basic information about selenium in drinking water*. <http://water.epa.gov>. diakses tanggal 20 Maret 2019.
- Ermakov, V., and Kovalskij, V. 1968. *The Geochemical Ecology of Organism at High Selenium Levels In The Environment*. In: *Transactions of The Biogeochemical Laboratory*. Moskow: Nauka Publishing House. 204-237.
- Fakhri, J. 2010. Sains Dan Teknologi Dalam Al-Qur'an Dan Impliksinya Dalam Pembelajaran. *Ta'dib*. 96(1): 122-142.

- Faatih, Mukhlissul. 2009. Isolasi dan Digesti DNA kromosom. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*. 10(1): 61 – 67.
- Fardiaz, S. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Bogor. PAU Pangan dan Gizi IPB.
- Fordyce, F. M. 2013. *Selenium deficiency and toxicity in the environment: In Essentials of medical geology*. Netherland: Springer Netherlands.
- Forootanfar, H., Sardou, M. A., Nikkhoo, Mebrabani, M., Haidari, B. A., Shabverdi, A. R., and Sbakibaie, M. 2014. Antioxidant and cytotoxic effect of biologically synthesized selenium nanoparticles in comparison to selenium dioxide. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 28:75-79.
- Fujita, M., Ike, M., Nishimoto, S., Takahashi, K., and 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.
- Gaffar, Sharbani. 2007. *Buku Ajar Bioteknologi Molekul Jurusan Kimia FMIPA: Universitas Padjajaran*. Bandung: UNPAD Press.
- Gaman, P. M., and Sherington, K. B. 1994. *Ilmu Pangan: Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi dan Mikrobiologi*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Gerard, J. T., Berdell R. F., and Christine, L. 2010. *Microbiology: an introduction*. North Dakota State University: Person.
- Gerardi, M. H. 2006. *Wastewater Bacteria*. New Jersey: John Willey
- Gillespie, R. B., and Baumann, P. C. 1986. Effects of high tissue concentrations of selenium on reproduction by bluegills. *Transactions of the American Fisheries Society*. 115(2): 208-213.
- Ghoffer, M.A. 2004. *Tafsir Ibnu Katsir, Jilid 7*. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Gupta, R., and Mohapatra, H. 2003. Microbial biomass: an economical alternative for removal of heavy metals from waste water. *Indian J. Exp Biol*. 41(9):66-945.
- Hageman, S. P., Van der Weijden, Weijima, J., and Busiman, C. J. 2013. Cicrobiological Selenate to Selenite Conversion for Selenium Removal. *Water Res* 47(7): 21-28.
- Hajiboland, R., and Keivanfar, N. 2012. Selenium supplementation stimulates vegetative and reproductive growth in canola (*Brassica napus* L.) plants. *Acta agriculturae Slovenica*. 13-19.
- Harsono, 2009. *Distribusi Pendapatan dan Pertumbuhan Ekonomi Petani*. Jakarta: Rajawali.

- Herlambang, A. 2011. Pencemaran Air dan Strategi Penanggulangannya. *Jurnal Air Indonesia*. 2(1).
- Hermawan, David. 2006. Prospektif Pengembangan Kawasan Pesisir Sendang Biru Untuk Industri Perikanan Terpadu. *Prospektif Pengembangan Kawasan Pesisir Sendang Biru*. 13(2).
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley and S.T. Williams. 1994. *Gram negative aerobic microaerophili rods and cocci. Group 4*, In: "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology: 93-153.
- Hunter W. J. (2014). *Pseudomonas seleniipraecipitans* proteins potentially involved in selenite reduction. *Curr. Microbiol.* 69: 69–74.
- Irawan, Bambang. 2008. *Genetika Molekuler*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Javed, S., Sarwar, A., Tassawar, M., and Faisal, M. 2016. Conversion of selenite to elemental selenium by indigenous bacteria isolated from polluted areas. *Chemical Speciation & Bioavailability*. 27(4): 162-168.
- Janda, M. J., and Abbott, S. L. 2007. 16S rRNA Sequencing for Bacterial Identification in the Diagnostic Laboratory; Pluses, Perils, and Pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology*. 45(9).
- Ji, S. Xia, J., and 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.
- Jong, M. S., Reynolds, R. J. B., Richterova, K., Musilova, L., Staicu, L. C., Chocolata, I., Cappa, J. J., Taghavi, S., Van der Lelie, D., Frantik., Delinova, I., Strejcek, Michal, Cochran, A. T., Lovecka, P., and Pillon-Smith, E. A. H. 2015. Selenium Hyperaccumulators Harbor a Diverse Endophytic Bacterial Community Characterized by High Selenium Resistance and Plant Growth Promoting Properties. 6: 113.
- Johansson, L., Gafvelin, G., and Arnér, E. S. 2005. Selenocysteine in Proteins—properties and Biotechnological Use. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 1726(1). 1-13.
- Karigar, C. S., & Rao, S. S. 2011. Role of microbial enzymes in the bioremediation of pollutantd: a review. *Enzyme research*.
- Kashiwa, M., Ike, M., Mihara, H., Esaki, N., and Fujita, M. 2001. Removal of soluble selenium by a selenate-reducing bacterium *Bacillus* sp. SF1. *BioFactors*, 14(1-4): 261-265.
- Kayser. 2005. *Medical Micobiology*. New York: Thieme Stuttgart.
- Kepel, Billy and Fatimawali. 2015. Penentuan Jenis Dengan Analisis Gen 16SrRNA dan Uji Daya Reduksi Bakteri Resisten Merkuri Yang Diisolasi

- Dari Feses Pasien Dengan Tambalan Amalgam Merkuri di Puskesmas Bahu Manado. *Jurnal Kedokteran Yarsi*. 23 (1): 045-055.
- Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No. 128 Tahun 2003. *Tata Cara dan Persyaratan Teknis dan Pengelolaan Limbah Minyak Bumi dan Tanah Terkontaminasi oleh Minyak Bumi secara Biologis (Bioremediasi)*.
- Klonowska, A., Thierry, K., Andre, V. 2005. Selenite and tellurite reduction by *Shewanella oneidensis*. *Applied and Environmental Microbiology*. 71(9):5607-5609.
- Kimura, H., Arima, T. H., Oku, T., and 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.
- Knox, A. S., Seaman, J., Pierzynski, G., and Adriano, D. C. 2000. Chemophytostabilization of metals in contaminated soils. *Environmental Science and Pollution Control Series*: 811-836.
- Kohrle, J. & Gartner, R., 2009. Selenium and thyroid. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 23: 815- 827.
- Kuppeveld, F. J. M., Logt, J. T. M., Angulo, A. F., Zoest, M. J., Quint, W. G. V., Niesters, H. G. M., Galama, J. M. D., and Melchers, W. J. G. 1992. Genus- and Species-Specific Identification of Mycoplasmas by 16S rRNA Amplification. *Appl. Environ. Microbiol.* 58(8): 15-2606.
- Kurtzman, C.P. and Fell, J. W. 1998. *The yeasts: A taxonomic study*. 4rd ed. Amsterdam: Elsevier.
- Kusmana, Felix. 2017. Selenium: Peranannya Dalam Berbagai Penyakit Dan Alergi. *IAI*. 44(4).
- Lau SKP, Woo PCY, Teng JLL, Leung KW, Yuen KY. Identification by 16S Ribosomal RNA Gene Sequencing of *Arcobacter butzleri* Bacteraemia in a Patient with Acute Gangrenous Appendicitis. *J Clin Pathol: Mol Pathol*. 55:182–185.
- Lehninger, A. L. 1994. *Dasar-dasar Biokimia*. Jilid 3. Terjemahan Maggry Thenawijaya dari Principles of Biochemistry. Jakarta: Erlangga, 1994.
- Lubis, P. A. H. 2015. *Identifikasi Bakteri Escherichia coli serta Salmonella sp. Yang Diisolasi dari Soto Ayam*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta. Skripsi.
- Luoma, S. N., and Rainbow, P. S. 2008. *Metal contamination in aquatic environment: Science and lateral management*. Inggris: Cambridge University Press: 537.

- Macy, J. M., Michel, T. A., and Kirsch, D. G. 1989. Selenate Reduction by *Pseudomonas* Species: A New Mode of Anaerobic Respiration. *FEMS Microbiol Lett.* 6:135-142.
- Mader, S.S. 1996. *Biology* 5th Ed. [online], [www. marietta. edu/~biol/102/2bioma95.htm](http://www.marietta.edu/~biol/102/2bioma95.htm). Diakses 18 Maret 2019.
- Madigan, M. T., Clark, D. P., Stahl, D., and Martinko, J. M. 2010. *Brock Biology of Microorganisms 13th edition*. San Francisco: Benjamin Cummings.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., and Parker, J. 2000. *Brock Biology of Microorganisms, Ninth Edition*. London: Prentice-Hall.
- Madigan, M.T., Martinko, J. M., and Parker, J. 2009. *Biology of Microorganisms. 12th ed*. New York: Prentice Hall International.
- Magray, M. S. U. D, Kumar, A., Rawat, A. K., and Srivastava S. 2011. Identification of *Escherichia coli* through Analysis of 16S rRNA and 16S-23S rRNA Internal Transcribed Spacer Region Sequences. *Bioinformation*. 6(10): 370-371
- Mara, Duncan., and Horan, N. J. 2003 *Handbook of water and wastewater microbiology*. Elsevier.
- Miller, R. 2006. *The Elements what you Really Want To Know*. Amerika: Twenty Fierst Century Book.
- Muladno. 2002. *Seputar Teknologi Rekayasa Genetika*. Bogor: Pustaka Wirausaha Muda.
- Munawar, A. 2012. *Monograf Tinjauan Proses Bioremediasi*. Surabaya: UPN Veteran Jawa Timur.
- Murray, R.G.E., Holt, and John G. 2001. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd Edition, Volume 1, The archaea and the deeply branching and phototrophic bacteria*. New York: Springer.
- Nancharaiah, Y. V., and Lens, P. N. L. 2015. Ecology and biotechnology of selenium-respiring bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 79(1): 61-80.
- National Institute of Health. 2013. *Selenium*. <https://www.ninr.nih.gov/>. diakses tanggal 17 Maret 2019.
- Neuhierl, B., and Bock, A. 1996. On the Mechanism of Selenium Tolerance in Selenium Accumulating Plants: Purification and Characterization of a Specific Selenocystein Methyltransferase from Cultured Cells of *Astragalus Bicuslatus*. *European Journal of Biochemistry*. 239(1):235-238.
- News Medical. 2014. *Selenium*. <http://www.newsmedical.net/> diakses tanggal 17 Maret 2019.

- Notodarmojo, S. 2005. *Pencemaran Tanah dan Air Tanah*. Bandung: ITB Press.
- Nolte, F. S. 2008. Molecular Diagnostics for Detection of Bacterial and Viral Pathogens in Community-Acquired Pneumonia. *Clin Infect Dis*. 47(3):6-123.
- N. R. C. 1983. *Selenium in Nutrition*. Washington DC: Subcommittee on Selenium, Committee on Animal Nutrition.
- Ochman, H. 2005. Genomes on the Shrink. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*. 102(34): 11959-11960
- Ohlendorf, H. M., Hoffman, D. J., Saiki, M. K., and Aldrich, T. W. 1986. Embryonic mortality and abnormalities of aquatic birds: apparent impacts of selenium from irrigation drainwater. *Science of the Total Environment*. 52(1-2), 49-63.
- Oremland, R. S., Herbel, M. J., Blum, J. S., Langley, S., Beveridge, T.J., Ajayan P. M., Sutto, T., and Curran, S. 2004. Structural and Spectral Features of Selenium Nanospheres Produced by Se-Respiring Bacteria. *Appl Environ Microbiol*. 70(1): 52-60.
- Pangastutui, Artini. 2006. R E V I E W: Definisi Spesies Prokaryota Berdasarkan Urutan Basa Gen Penyandi 16s rRNA dan Gen Penyandi Protein. *BIODIVERSITAS*. 7(3).
- Pearce, C. I., Coker, V. S., Charnock, J. M., Patrick, R. A., Mosselman, J. F. W., Law, N., and 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., Michael, J., and Chan, E. C. S. 2007. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid I*. Jakarta: UI Press.
- Prasetyo, H. 2006. *Kandungan Selenium Total Dalam Bakteri Termofilik Terseleksi Dari Sumber Air Panas*. Program Studi Biokimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Skripsi.
- Pratiwi, and Sylvia, T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga,
- Pratiwi, D., Setyawati, T. R., and Yanti, A. H. 2017. Komposisi Mikroalga di Sungai Mentuka Kabupaten Sekadau. *Jurnal Protobiont*, 6(3): 102-107.
- Presindo. Kohrle, J., and Gartner, R. 2009. Selenium and thyroid. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 23: 815- 827.
- Priadie, B. 2012. Teknik Bioremediasi Sebagai Alternatif Dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Air. *Jurnal ilmu lingkungan*, 10(1): 38-48.
- Quinn C. F., Wyant K., Wangeline A. L., Shulman J., Galeas M. L., Valdez J. R., et al. (2011). Selenium Hyperaccumulation Increases Leaf Decomposition Rate in a Seleniferous Habitat. *Plant Soil*. 341: 51–61

- Rai, L. C., and Mallick, N. 1992. Removal and assessment of toxicity of Cu and Fe to *Anabaena doliolum* and *Chlorella vulgaris* using free and immobilized cells. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 8(2): 110-114.
- Ranjard, L., Nazareth, S., and Cournoyer, B. 2003. Freshwater Bacteria Can Methylate Selenium Through the Thiopurine Methyltransferase Pathway. *Applied Environment Microbiology*. 69(7): 3784-3790.
- Rayman, M. P. 2000. *The importance of selenium to human health. The Lancet*. 356(9225): 233-241.
- Riget, F., Dietz, R., Johansen, P., and Asmund, G. 2000. Lead, mercury, cadmium and selenium in Greenland marine biota and sediments during AMAP phase I. *The Science of the Total Environment*. 245: 3- 14.
- Rinanda, Tristia. 2011. Analisis Sekuensing 16S rRNA di Bidang Mikrobiologi. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 11(3).
- Rohmah, N. S. 2017. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri yang Berpotensi sebagai Agen Bioremediasi Timbal dari Lumpur Lapindo*. Universitas Negeri Malang. Skripsi.
- Romaidi and Ueki. 2016. Bioaccumulation of Vanadium by Vanadium-Resistant Bacteria Isolated from the Intestine of *Ascidia sydneiensis samea*. *Mar. Biotechnol*. 18(3): 71-359.
- Roman, M., Jitaru, P., and Barbante, C. 2014. Selenium biochemistry and its role for human health. The Royal Society of Chemistry. *Metallomics*. 6: 25-54.
- Roux, M., Sarret, G., Pignot-Paintrand, I., Fontecave, M., and Coves, J. 2001. Mobilization of selenite by *Ralstonia metallidurans* CH34. *Applied and environmental microbiology*. 67(2), 69-773.
- Sacchi, C. T., Whitney, A. M., Mayer, L. W., Morey, R., Steigerwalt, A., Boras, A., Weyant, R. S. and Popovic, T. 2002. Sequencing of 16S rRNA Gene: A Rapid Tool for Identification of *Bacillus anthracis*. *Emerging Infectious Diseases*. 8(10): 1117-23
- Safura, M. N. 2017. *Uji kemampuan Bakteri Resisten-Selenium Dalam Mengakumulasi Selenium Dari Pantai Sendang Biru Kabupaten Malang*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang. Malang. Skripsi.
- Saitou, N., and Imanishi, T. 1989. Relative efficiencies of the Fitch-Margoliash, Maximum-Parsimony, Maximum Likelihood, Minimum Evolution and Neighbor-joining Methods of phylogenetic tree construction in obtaining the correct tree. *Mol. Biol. Evol*. 6(5): 514 – 525.
- Sakamoto, M., Chan, H.M., Domingo, J.L., Kubota, M., Murata, K. 2012. Changes in body burden of mercury, lead, arsenic, cadmium and selenium

- in infants during early lactation in comparison with placental transfer. *Ecotoxicol. Environ.* 84: 179–184.
- Salim, Abd.Muin. 199. *Metodologi Tafsir, Sebuah Rekonstruksi Epistemologis, Memantapkan Keberadaan Ilmu Tafsir Sebagai Ilmu*. Ujung pandang: IAIN Alauddin.
- Sambrook, J., and Russel, D.W. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Harbor, ME: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Serianni, A.S., Principles of Biochemistry, <http://www.nd.edu> . 13 Maret 2019
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan, dan Keserasian AlQur'an*. Jakarta: Lentera Hati Press.
- Singh, R., Singh, P., Sharma, R. 2014. Microorganism as a tool of bioremediation technology for cleaning environment: A review. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences*. 4(1).
- Shukla, K. P., Singh, N. K., and Sharma, S. 2010. Bioremediation: developments, current practices and perspectives. *Genet. Eng. Biotechnol. J.* 3(8), 1-20.
- Soemirat, J. 2009. *Toksikologi Lingkungan*. Yogyakarta: UGM Press.
- Stanford. S., and Keyness, M. 1990. *Microbiological of Extreme Environment*. Oxford: AIda Press.
- Stackebrandt, E., Goebel, B.M. 1994. Taxonomic note: A place for DNA–DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 44: 846-849.
- Strong, P. J., and Burgess, J. E. 2008. Treatment methods for wine-related and distillery wastewaters: a riview. *Bioremediation Journal*. 12(2): 70-87.
- Suendra. 1991. *Buku pedoman mata ajaran mikrobiologi lingkungan*. Jakarta: Pusat pendidikan tenaga kesehatan Depkes RI.
- Sunarno, Rizki, A., Sariadji, K., Malik, A., Karuniawati, A., dan Soebandrio, A. 2013. Direct Polymerase Chain Reaction: Sebuah Alternatif Metode Diagnostik Difteri Secara Cepat, Mudah, dan Hemat. *Makara Seri Keehatan*. 17(2)::88-94.
- Sunde, R. A. 2006. *Selenium. In: Present Knowledge in Nutrition 9th Edition*. Washington DC: International Life Sciences Institute: 480-497.
- Sunde, R. A. 2012. *Selenium. In: Modern Nutrition in Health and Disease 11th Edition*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins: 225-237.
- Suriyani, Irma dan Kotijah, Siti. 2013. Kajian Islam Dalam Masalah Lingkungan Hidup di Kota Samarinda. *Risalah Hukum Fakultas Hukum Unmul*. 9(1): 71-78.

- Suryani, Y. 2011. Bioremediasi Limbah Merkuri Dengan Menggunakan Mikroba Pada Lingkungan Yang Tercemar. *Mikrobiologi*. 5(1-2).
- Suzuki, K. T., Kurasaki, K., Okazaki, N., and Ogra, Y. 2005. Selenosugar, trimethylselenonium among urinary Se metabolites: Dose- and age-related changes. *Toxicol Appl Pharmacol*. 206:1–8.
- Suzuki, Y., Hashiura, Y., Matsumura, K., Matsukawa, T., Shinohara, A., and Furuta, N. 2010. Dynamic pathways of selenium metabolism and excretion in mice under different selenium nutritional status. *Mettalomics*. 2:126-32.
- Syamsudin, Hamid. 2010. *Kamus Lengkap Biologi*. Jakarta: Gama Press.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using maximum likelihood, evolutionary Distance and Maximum Parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*. 28: 2731-2739.
- Tandah, M. R. 2016. Daya Hambat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Terhadap Escherichia coli. *Jurnal Kesehatan* 2(1):1-77.
- Temmerman, L. D., Waegeneers, N., Thiry, C., Laing, G. D., Tack, F., and Ruttens, A. 2014. Selenium content of belgian cultivated soils and its uptake by field crops and vegetables. *Science of the Total Environment*: 77-82.
- Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., and Higgins DG. 1997. The Clustal X Windows Interface: Flexible Strategies for Multiple Sequence Alignment Aided by Quality Analyse Tools. *Nucleic Acids Res*. 25: 4876-4882.
- Triana, E., Novik N., Titin, Y., Ernawati, K., and Ratih M. D. 2010. Identifikasi Gen Selenometil Transferase (*Smt*) pada Isolat *Geobacillus* sp. 20k yang Resisten terhadap Selenium. *Berita Biologi*, 10: 323-328.
- Tomei, F. A. Barton, L. L., Cheryl, L., Lemaski, Thomas, C. Z., Nancy, H. F., and Sillerud, L. O, 1995. Transformation of selenate and selenite to elemental selenium by *Desulfovibrio desulfuricans*. *Journal of Industrial Microbiology* 4:329-336.
- Turakainen, M., Hartikainen, H., and Seppanen, M. M. 2004. Effects of selenium treatments on potato (*Solanum tuberosum* L.) growth and concentrations of soluble sugars and starch. *J. Agric. Food Chem*. 52: 5378-5382.
- Uar, N., D. Murti, S., H., dan Hadisusanto, S. 2016. Kerusakan Lingkungan Akibat Aktivitas Manusia pada Ekosistem Terumbu Karang. *Majalah Geografi Indonesia*. 30(1): 88-95.
- Vallini G., Di Gregorio S., Lampis S. (2005). Rhizosphere-induced selenium precipitation for possible applications in phytoremediation of Se polluted effluents. *Z. Naturforsch*. 60C: 349–356.

- 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.
- Warsito. 1995. *Pengantar Metodologi Penelitian*. Jakarta: Gramedia Pusaka.
- Weisburg, W.G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., and Lane, D. J. 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*. 173 (2): 697-703
- W. H. O. 1996. *Trace Elements In Human Nutrition And Health*. Geneva: WHO.
- Whanger, P. D. 2002. Selenocompounds in Plant and Animals and Their Biological Significance. *Journal of American Col Nutrition*. 21: 223-232
- Whanger, P. D. 2004. Selenium and Its Relationship to Cancer. *British Journal of Nutrition*. 91: 11-28.
- William Philip., and James, B. L. 1985. *Industrial Toxicology. Safety and Health Application in The Workplace*. New York: Van Nostrand Reinhold Co.
- Wulandari, Rita. 2015. *Analisis Gen 16 rRNA pada Bakteri Penghasil Enzim Fitase*. Tidak diterbitkan: Tesis. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Xia, X., Enokida, Y., Sawada, K., and Ohnuki, T. 2007. Bioreduction of selenium by sulfate reducing bacterium and its influence on selenium transport in geological environment. *Proceedings of International Symposium on EcoTopia Science, ISETS07*: 1074-1078.
- Yadav, S., Gupta, S., Prakash, R., Spallholz, J., and Prakash, N. T. 2007. Selenium uptake by *Allium cepa* grown in Se-spiked soils. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*. 2(1): 80-84.
- Yazid, M. 2007. Kajian Pemanfaatan Bakteri Hasil Isolasi Sebagai Agen Bioremediasi Radionuklids Uranium Di Lingkungan. *Jurnal Prosiding. PPI*. ISSN 0216-3128.
- Yunita and Sumiwi, S. A. 2018. Selenium dan Manfaatnya untuk Kesehatan: Review Jurnal. *Farmaka Suplemen*. 16(2).
- Zhang, S. Y., Zhang, J., Wang, H. Y., and Chen, H. Y. 2004. Synthesis of selenium nanoparticles in the presence of polysaccharides. *Materials Letters*. 58(21). 2590-2594.
- Zulfiana, Machmud. 2018. *Identifikasi Molekular Bakteri pada Saliva Anak Anjing Liar (Canis lupus) Ras Herder*. UIN Alauddin Makassar. SKRIPSI.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Persiapan Sediaan Larutan Natrium selenat (Na_2SeO_3)

1. Pembuatan Larutan Stok Natrium Selenat (Na_2SeO_4) 100 mM

Masa molar Natrium Selenit (Na_2SeO_4) $\rightarrow$ 173 g/mol

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

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

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

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

Jadi, cara untuk membuat larutan stok 100 mM dalam 100 mL yaitu dengan menimbang natrium selenat 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 selenat

Untuk mendapatkan volume larutan natrium selenat 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 selenat

V2 = Volume total media pada cawan petri

M1 = Konsentrasi larutan stok natrium selenat

M2 = Konsentrasi larutan natrium selenat yang digunakan

- Pembuatan larutan perlakuan 5 mM natrium selenat

$$V1 . M1 = V2 . M2$$

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

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

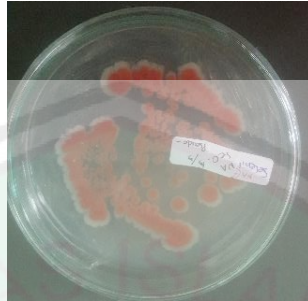
- Pembuatan larutan perlakuan 10 mM natrium selenat

$$V1 . M1 = V2 . M2$$

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

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

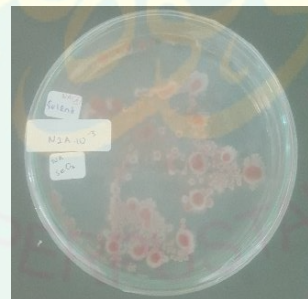
Lampiran 2. Identifikasi Makroskopis



koloni isolat LM-5 yang diberi selenat dengan konsentrasi 2,5 mM



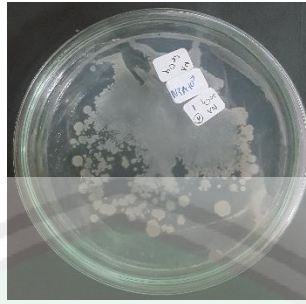
koloni isolat LM-5 yang diberi selenat dengan konsentrasi 5 mM



koloni isolat LM-5 yang diberi selenat dengan konsentrasi 10 mM



koloni isolat LM-1 yang diberi selenat dengan konsentrasi 2,5 mM



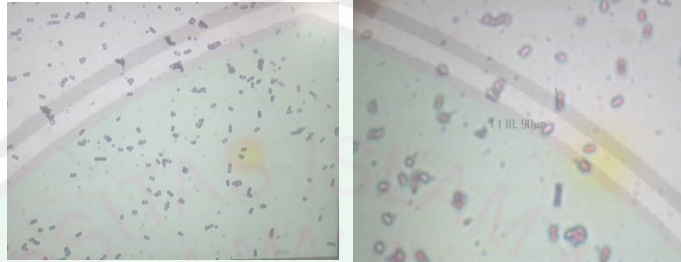
koloni isolat LM-3 yang diberi selenat dengan konsentrasi 2,5 mM



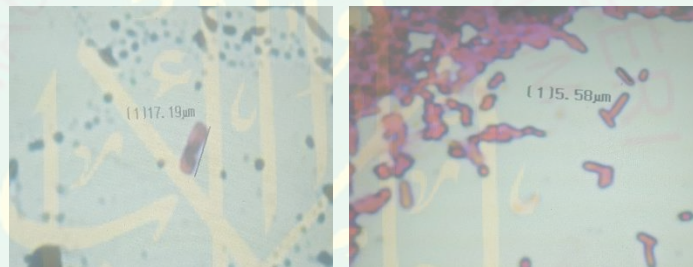
koloni isolat LM-10 yang diberi selenat dengan konsentrasi 2,5 mM

Lampiran 3. Identifikasi Mikroskopis

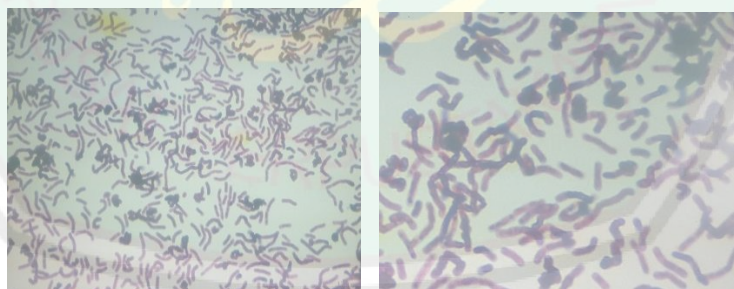
1. Isolat LM-5 perbesaran 100x



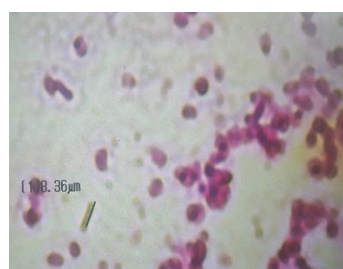
2. Isolat LM-3 Perbesaran 400x



3. Isolat LM-5 perbesaran 400x



4. Isolat LM-10 perbesaran 400x



Lampiran 4. Nilai alignment pada proses BLAST di NCBI

1. Urutan Basa nukleotida LM-1

AATGATTCGCATGGACGAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTG
 ATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAG
 TACAAGAGTAACTGCTTGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCC
 ACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAG
 CGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTCTT
 AAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGA
 AACTGGGGAAC TTGAGTGCAGAAGAGAAAAGCGGAATTCCACGTG
 TAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGCGGAAG
 GCGGCTTTTTTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGG
 AGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGA
 GTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCTAACGC
 ATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAA
 AGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGTTTTAAA
 TTCGAAA

2. Urutan Basa nukleotida LM -3

AATGGCACCTTCGCATGGACGAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTG
 AGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAA
 CAAGTACAAGAGTAACTGCTTGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAA
 AGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGG
 CAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTT
 TCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAT
 TGGAAGTGGGGAAC TTGAGTGCAGAAGAGAAAAGCGGAATTCCA
 CGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGC
 GAAGGCGGCTTTTTTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGT
 GGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACG
 ATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCTA
 ACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAAC
 TCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGTTT
 TAAATTCA

3. Urutan Basa nukleotida LM -5

AAGGATTCGCATGGACGAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGT
 GATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAA
 GTACAAGAGTAACTGCTTGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGC
 CACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAA
 GCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTCT

TAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGG
 AACTGGGGAAC TTGAGTGCAGAAGAGAAAAGCGGAATTCCACGT
 GTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAA
 GGCGGCTTTTTGGTCTGTAAC TGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGG
 GAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATG
 AGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCTAACG
 CATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCA
 AAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGATGGTTTTTAAT
 TTTCGAA

4. Isolat Bakteri LM-10

GATGGACTTCGCATGGACGAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAG
 TGATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAAAC TCTGTTGTTAGGGAAGAACA
 AGTACAAGAGTAACTGCTTG TACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAG
 CCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAAATACGTAGGTGGCA
 AGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTC
 TTAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTG
 GAAACTGGGGAAC TTGAGTGCAGAAGAGAAAAGCGGAATTCCACG
 TGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGA
 AGGCGGCTTTTTGGTCTGTAAC TGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGG
 GGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGAT
 GAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCTAAC
 GCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTC
 AAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTTTTTT
 ATTCCCG

Lampiran 5. Hasil alignment dengan MEGA 6.0

DNA Sequences Translated Protein Sequences

Species/Abbrev	Gr	A	C	G	T
1. NR_113800.1_Bacillus_flexus_strain_NBRC_15715_16S_ribosomal		G	G	C	G
2. LM-1		G	G	C	G
3. NR_043401.1_Bacillus_megaterium_strain_IAM_13418_16S_ribosomal		G	G	C	G
4. LM-3		G	G	C	G
5. NR_024691.1_Bacillus_flexus_strain_IFO15715_16S_ribosomal_R		G	G	C	G
6. LM-5		G	G	C	G
7. LM-10		G	G	C	G
8. GU143907.1_Bacillus_megaterium_strain_Y18-01_16S_ribosomal		G	G	C	G
9. LM643725.1_Staphylococcus_xylosous_partial_16S_rRNA_gene_iso		G	G	C	G

Lampiran 6. Warna selenium padatan



Lampiran 7. Bukti konsultasi Skripsi



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

Jalan Gajayana No. 50 Malang 65144
Telepon 551354/ Faksimile (0341) 572533
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id>
Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Nina Ernawati
NIM : 15620071
Program : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2018/2019
Pembimbing : Romaidi, M.Si., D.Sc
Judul Skripsi : Identifikasi Bakteri Resisten Selenium (Se) Berdasarkan gen 16S rRNA Dari Koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd Pembimbing
1	1 April 2019	Bab I	
2	11 April 2019	Revisi Bab I dan Konsul Bab II	
3	15 April 2019	Revisi Bab II dan Konsul Bab III	
4	16 April 2019	Revisi Bab III	
5	20 April 2019	Acc Bab I, III, III	
6	5 Mei 2019	Konsul Bab IV	
7	11 Mei 2019	Revisi Bab IV dan Konsul Bab V	
8	25 Mei 2019	Revisi Bab IV dan V	

Pembimbing Skripsi

Malang, 28 Juni 2019
Ketua Jurusan

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

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

Lampiran 8 Bukti Konsultasi Agama



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

Jalan Gajayana No. 50 Malang 65144
Telepon 551354/ Faksimile (0341) 572533
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id>
Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI INTEGRASI ISLAM DAN SAINS

Nama : NINA ERNAWATI
NIM : 14620021
Program : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2018/2019
Pembimbing : M. Mukhlis Fahrudin, M.SI
Judul Skripsi : Identifikasi Bakteri Resisten Selenium (Se) Berdasarkan gen 16S rRNA Dari Koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd Pembimbing
1	11 April 2019	Bab I dan II	
2	12 April 2019	Revisi Bab I-II	
3	15 April 2019	Konsul Bab III	
4	11 April 2019	Acc Bab I, II, dan III	
5	16 April 2019	Bab IV	
6	25 Mei 2019	Acc Bab IV	

Pembimbing Skripsi

Malang, 14 Juni 2019
Ketua Jurusan

M. Mukhlis Fahrudin, M.SI
NIPT. 20142011409

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