العزلة وتحديد البكتيريا لمقاوم السيلينات (SeO_4^{2-}) من رواسب المانغروف لشاطئ بانيولوغور سيتوبوندو جاوة الشرقية

بحث جامعي

إعداد:

مالك نورس السعيدي

رقم القيد: 15620077

قسم البيولوجيا

كلية العلوم والتكنولوجيا

جامعة ولاية اسلامية مولانا مالك ابراهيم مالانج

2019

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

العزلة وتحديد البكتيريا لمقاوم السيلينات (SeO_4^{2-}) من رواسب المانغروف لشاطئ بانيولوغور سيتوبوندو جاوة الشرقية

بحث جامعي

إعداد:

مالك نورس السعيدي

رقم القيد: 15620077

تم الإرسال إلى:

كلية العلوم والتكنولوجيا

جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

لاستفاء شروط الاختبار النهائي للحصول على بكالوريوس العلوم (S.Si)

قسم البيولوجيا

كلية العلوم والتكنولوجيا

جامعة ولاية اسلامية مولانا مالك ابراهيم مالانج

2019

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

عزل وتحديد بكتريا مقاومة SELENATE (SeO_4^{2-}) من شاطئ MANGROVE من BANYUGLUGUR، مقاطعة سيتوبوندو، جاوة الشرقية

بحث جامعي

إعداد:
مالك نورس السعيدي
رقم القيد: 15620077

تم فحصه واعتماده للاختبار:
التاريخ: 12 ديسمبر 2019

المشرف I،	المشرف II،
الدكتور رمايدى الماجستير	محمد مخليص فهروالدين الماجستير
رقم التوظيف: 198102012009011019	رقم التوظيف: 20142011409

المعرف
رئيس قسم البيولوجي

الدكتور رمايدى الماجستير
رقم التوظيف: 19810201 200901 1 019

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

عزل وتحديد بكتريا مقاومة SELENATE (SeO_4^{2-}) من شاطئ MANGROVE من BANYUGLUGUR، مقاطعة سيتوبوندو، جاوة الشرقية

بحث جامعي

إعداد:
مالك نورس السعيدي
رقم القيد: 15620077

وقد تم الحفاظ عليها:
أمام مجلس فحص الرسائل وأعلن قبولها كأحد متطلبات الحصول على درجة بكالوريوس العلوم (S.Si)

التاريخ: 12 ديسمبر 2019

الممتحن الرئيسي	الدكتور الحاجة ألفة أوتمي، ماجستير رقم التوظيف: 19650509 199903 2 002	
رئيس الفاحص	بايو أغونغ فراهرديكا، ماجستير. رقم التوظيف: 19900807 201903 1 011	
كاتب اختبار	الدكتور رمايدي الماجستير رقم التوظيف: 19810201 200901 1 019	
عضو الاختبار	محمد مخليص فهروالدين الماجستير رقم التوظيف: 20142011409	

المعترف،
رئيس قسم البيولوجي

الدكتور رمايدي الماجستير
رقم التوظيف: 19810201 200901 1 019

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

تقرير الباحث

أنا الموقع أدناه:

الاسم : مالك نورس السعيدي

رقم القيد : 15620077

الكلية / القسم : العلوم والتكنولوجيا / علم الأحياء (البيولوجيا)

عنوان البحث : العزلة وتحديد البكتيريا لمقاوم السيلينات (SeO_4^{2-}) من رواسب المانغروف لشاطئ بانيولوغور سيتوبوندو جاوة الشرقية

حضرته وكتبته بنفسي وما زدته من إبداع غيري أو تأليف الآخر. وإذا ادعى أحد في المستقبل أنه من تأليفه وتبين أنه من غير بحثي، فأنا أتحمل المسؤولية على ذلك ولن تكون المسؤولية على المشرفين أو مسؤولي قسم البيولوجيا كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة ولاية اسلامية مولانا مالك ابراهيم مالانج

مالانج ، 26 ديسمبر 2019

الباحث

مالك نورس السعيدي

رقم القيد: 15620077

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

وإهداء

أهدى هذا البحث إلى

والدي المحترمين أبي منيرى إحسان وأمي يوس أنا, اخي واختي, الذين

شجعوني بالجد ونصحوني بالحق بارك الله فيكم أجمعين

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

توطئة

السَّلاَمُ عَلَيْكُمْ وَرَحْمَةُ اللهِ وَبَرَكَاتُهُ

الحمد لله على كل النعم والإرشاد للمؤلف قادر على إكمال هذه الأطروحة بعنوان " العزلة وتحديد البكتيريا لمقاوم السيلينات (SeO_4^{2-})من رواسب المانغروف لشاطئ بانيولوغور سيتوبوندو جاوة الشرقية"

والصلاة والسلام عل سيدنا محمدا رسول الله وعلى آله وأصحابه، أفضل الرسل، رحمة الناقل للعالمين.

وهذه الكتابة لم تصل إلى مثل الصورة بدون مساعدة الأساتيذ الكرام والزملاء الأحباء. ولذلك يقدم الباحث فوائق الاحترام وخالص الثناء إلى:

1. حضرة الأستاذ الدكتور عبد الحريس مدير جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج.
2. والدي المحترمين أبي منيرى إحسان وأمي يوس أنا, الذين شجعوني بالجد ونصحوني بالحق بارك الله فيكم أجمعين
3. فضيلة الدكتورة سري هاريني عميدة كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج.
4. مشايخي وأساتذتي الذين علموني العلم وأدبوني حسن الأدب ودعواني إلى الله لنجاحي، عسى الله أن يجعل علومي وعلومهم نافعة ويُيَسِّر أموري وأمورهم أجمعين، وخصوصا الأستاذ الدكتور رمايدي الماجستير, الأستاذة الدكتورة الحاجة ألفة أوتمي ماجستير, الأستاذ بايو أغونغ فراهرديكا ماجستير, و الأستاذ محمد مخليص فهروالدين الماجستير اللذين علموني أنواع العلوم الأكاديمية صابرين حفظهم الله.
5. أصدقاء البيولوجيا 2016 و 2017 و 2018 شكرا لدعمكم ، وآمل أن يكون هذا البحث مفيدا.
6. زملائي وزميلاتي خصوصا في قسم البيولوجيا الذين شجعوني بالجد ونصحوني بالحق بارك الله فيكم أجمعين وأخص خصوصا محمد زكريا علوي ، فرح نهدية نور ، سخو صافي ، و نوري طاباتوالصافية الفاروقي.
7. جميع الأساتيذ والأستاذات، جزاكم الله خيرا على جميع العلوم.أقول لهم شكرا جزيلا على كل مساعدتهم جميعا. وجعلنا الله وإياهم من أهل العلم والعمال والخير وجعلنا من عباده الصالحين والمخلصين، ولا يفوت عن رجائي أن ينفع هذا البحث الجامعي للباحثة وسائر القراء. آمين يارب العالمي.

مالانج، 12 ديسمبر 2019

الباحث

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

محتويات البحث

تصريح ..... **iii**
دتقرير لجنة المناقشة..... **iv**
تقرير الباحث ..... **v**
وإهداء..... **vi**
توطئة..... **vii**
محتويات البحث ..... **viii**
البحث عن الصور..... **xi**
جدول البحث..... **xii**
ملخص البحث..... **xiii**
ABSTRAK ..... **xiv``**
ABSTRACT..... **xv**

الفصل الأول مقدمة..... 1
1.1 خلفية البحث 1
1.2 أسئلة البحث..... 4
1.3 أهداف البحث..... 4
1.4 حدود المشكلة 4
1.5 الفوائد..... 5

الباب الثاني مراجعة المكتبة..... 6
2.1 السيلينيوم 6
2.2 مصدر السيلينيوم..... 7
2.3 الوسخ والسمي(Se) 9
2.4 المنغروف 11
2.5 المعالجة البيولوجية 13
2.6 إنتفاع البكتريا في المعالجة البيولوجية..... 14
2.7 التقني المقاوم والتراكم (Se) في الجرثوم..... 15
2.8 تقني التعرف الجزيئي والفيلوجينيتيك 16
2.8.1 العزل(DNA) 16
2.8.2 التوسيع(DNA) 17
2.8.3 الأغاروز جل الكهربائي..... 18
2.8.4 (Squencing DNA) 18
2.9 التحليل الفيلوجينيك 18

الفصل الثالث طريقة البحث 19

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.1 خطة البحث 19
3.2 وقت البحث ومكانه 19
3.3 أدوات البحث ومواده..... 19
3.3.1 أدوات البحث 19
3.3.2 مواد البحث 19
3.4 إجراءات العمل 20
3.4.1 تعقيم الأدوات والمواد 20
3.4.2 أخذ العينات 20
3.4.3 صنع الوسائط 21
3.4.4 عزل الجرثوم 21
3.4.5 اختبار مقاومة الجرثوم..... 22
3.4.6 تحديد الجرثوم..... 22
3.4.6.1 المراقبة العيانية..... 22
3.4.6.2 الملاحظات المجهرية 22
3.4.6.3 المراقبة الجزيئية..... 23
3.4.7 منحنى النمو البكتيري 24
3.4.8 تحليل البيانات 24

الفصل الرابع النتيجة والبحث 25
4.1. نوع جرثوم صامد سيلينات في رواسب المنغروف في ساحل بانيوغلوغور سيتوبوندو على أساس الخصائص المورفولوجية والجزيئية 25
4.1.1 عزل جرثوم صامد سيلينات 25
4.1.2 تحديد المجهر 26
4.1.3 ملاحظة غرام الجرثوم 27
4.1.4 تعريف الجزيئي 28
4.1.5 التحليل الوراثي 29
أ. تجانس النوع 29
ب. المسافة الوراثية للعزلات البكتيرية..... 31
ج. شجرة التكاثر..... 33
4.2. خصائص نمو جرثوم المقاومة للسيلينات المكتشفة في رواسب المنغروف في شاطئ بانيوغلوغر، سيتوبوندو في وسيط الذي يحتوي على سيلينات..... 35
4.2.1 اختبار قدرة المقاومة للجرثوم..... 35
4.2.2 منحنى نمو الجرثوم 37
4.3 محادثة نتيجة البحث بالإسلام..... 40

الفصل الخامس غطاء 44
5.1 الخلاصة 44

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

5.2 الاقتراحات 44

قائمةالمصادر والمراجع 45

المرفقات 53

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

البحث عن الصور

الصورة 2.1 الدورة السيلينيومية كرويائيا في العالم 8
الصورة 2.2 التحول السيلينيوم على جدار الخلية (*Thauera selenatis*)..... 16
الصورة 4.1 تلوين غرام في الجرثوم. 28
الصورة 4.2 طويل باسير ماركر الجينات لادير جين ب..... 29
صورة 4.3. تقديم نتيجة Blast عزل أ-5-1 30
صورة 4.4. تقديم نتيجة Blast عزل ب-10-1..... 31
صورة 4.5 شجرة التكاثر MEGA 6 34
الصورة 4.6 وسيلة YM السائل 36
صورة 4.7 نتيجة تغيير اللون في وسط ساعتان يعد إعطاء جرثم الثقافة..... 37
صورة 4.8 نتيجة تغيير اللون في وسط خلال 26 ساعة..... 37
صورة 4.7 منحنى نمو جرثوم عزل أ-5-1 38
صورة 4.8 منحنى نمو جرثوم عزل B-10-1..... 39

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

جدول البحث

الجدول 2.1 التلوث السيلينيوم في المصادر الأطعمة في الأمريكي المتحدي 9
الجدول 4.1 نتيجة عزل الجرثوم..... 26
الجدول 4.2 خصاص عزل جرثوم مقاومة سيلينات في 10 ملم 27
الجدول 4.3 خصائص نتائج طلاء الغرام في الجرثوم..... 27
الجدول 4.4 نتيجة عزل الجرثوم..... 30
الجدول 4.5 مسافة الوراث بين العزلات 33

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

العزلة وتحديد البكتيريا لمقاوم السيلينات (SeO_4^{2-}) من رواسب المانغروف لشاطئ بانيولوغور سيتوبوندو جاوة الشرقية

مالك نور السعيدي، رميدي، مخلص فخر الدين

ملخص البحث

التلوث هو مشكلة جدا التى تجب أن تواجهها لمجتمع العالمي. بالإضافة إلى تلوث الأرض، يحتاج تلوث المياه أيضًا لأن يكون اهتمام جاد. وذلك لأن المياه التي لديها مساحة واسعة جدا ومجموعة متنوعة من الأنشطة المتبقية قد تضيع في المياه. واحد من انواع تلوث البيئة المائية هو وجود التعدين والتخلص من النفايات في البحر. السيلينيوم عنصر معدني الذى يعد أحد مصادر التلوث بسبب التعدين. يمكن أن يكون السيلينيوم سامًا الى السيلينات (VI) ، ويمكن أن يتراكم حتى يتسنى ان يهدد صحة الإنسان. لذلك، استخدم البكتيريا كعوامل المعالجة الحيوية على تلوث سيلينات. الوسائط هي استخراج أجار (YMEA) مع إضافة نتريوم سيلينات (Na_2SeO_4) لتركيز 0 مم ؛ 1 مم، 2 مم، 5 مم؛ و 10 مم. الطرق هذا البحث العزلة البكتيرية ، اختبار العزلة المقاومة ، العزلة الحمض النووي البكتيريا، والتسلسل. حللت العزلة البكتيرية التي لها القدرة على مقاومة سيلينيت جزيئيًا بناء على جينات 16S rRNA وملاحظة الخصائص النمو. وجدت النتائج 2 بكتيريا يمكنان أن يتقاوما السيلينات من خلال إظهار اللون الأحمر في الوسط. كانت نتائج التسلسل التي حللتها باستخدام الأشجار التطورية حصلت عليها العزلة A-5-1 لها مسافة القرب الوراثية بنسبة 57٪ مع العزلة B-10-1 ومسافة القرب بينها هي 0.201.

الكلمات الرئيسية: العزلة، البكتيريا المقاوم، سيلينات ، رواسب المانغروف

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Resisten Selenate (SeO_4^{2-}) dari Sedimen Mangrove Pantai Banyuglugur Kabupaten Situbondo

Malik Nuris Su'aidi, Romaidi, M. Mukhlis Fahruddin

ABSTRAK

Pencemaran menjadi masalah serius yang harus dihadapi oleh masyarakat global. Selain pencemaran di darat, pencemaran di perairan juga perlu menjadi perhatian serius. Hal ini dikarenakan perairan yang memiliki Kawasan yang sangat luas dan berbagai residu kegiatan memungkinkan akan terbuang di dalam perairan. Diantara pencemaran terhadap lingkungan perairan adalah adanya penambangan dan pembuangan limbah terhadap laut. Selenium merupakan unsur logam yang menjadi salah satu sumber cemaran akibat adanya penambangan. Selenium dapat bersifat toksik menjadi Selenate (VI), dan dapat terakumulasi sehingga berpeluang mengancam kesehatan manusia. Oleh karena itu, digunakan bakteri sebagai agen bioremidiasi terhadap kontaminasi selenate. Media yang digunakan adalah *yeast media ekstrak agar* (YMEA) dengan penambahan natrium selenate (Na_2SeO_4) konsentrasi 0 mM; 1 mM, 2 mM, 5 mM; dan 10 mM. Metode dalam penelitian ini meliputi isolasi bakteri, uji resistensi isolat, isolasi DNA bakteri, dan sekuensing. Isolat bakteri yang memiliki kemampuan dalam resistensi selenate dianalisis secara molekuler berdasarkan gen 16S rRNA dan pengamatan karakteristik pertumbuhan. Hasil penelitian didapatkan 2 bakteri yang dapat resisten selenate dengan menunjukkan warna merah pada media. Hasil *squencing* yang di analisis dengan pohon filogenik diperoleh isolat A-5-1 memilik jarak kedekatan genetik 57% dengan isolat B-10-1 dan jarak kekerabatan antar keduanya sebesar 0,201.

Kata kunci: Isolasi, Bakteri Resisten, Selenate, Sedimen Mangrove

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Isolation and Identification of Selenate Resistant Bacteria (SeO_4^{2-}) from Mangrove Sediment of Banyuglugur Beach, Situbondo Regency

Malik Nuris Su'aidi, Romaidi, M. Mukhlis Fahruddin

ABSTRACT

Pollution is a serious problem that must be faced by the global community. In addition to land pollution, water pollution also needs to be a serious concern. This is because the waters that have a very wide area and a variety of residual activities may be wasted in the waters. Among the pollution of the aquatic environment is the existence of mining and disposal of waste to the sea. Selenium is a metal element that is one source of pollution due to mining. Selenium can be toxic to Selenate (VI) and can accumulate so that it has the potential to threaten human health. Therefore, bacteria are used as bioremediation agents against selenate contamination. The media used were yeast agar extract (YMEA) with the addition of sodium selenate (Na_2SeO_4) concentration of 0 mM; 1 mM, 2 mM, 5 mM; and 10 mM. The methods in this study include bacterial isolation, isolate resistance testing, bacterial DNA isolation, and sequencing. Bacterial isolates which have the ability in selenate resistance were analyzed molecularly based on 16S rRNA genes and observed growth characteristics. The results found 2 bacteria that can be resistant to selenate by showing red in the media. The results of sequencing analyzed with phylogenic trees obtained isolate A-5-1 had genetic proximity of 57% with isolate B-10-1 and the distance between them was 0.201.

Keywords: Isolation, Resistant Bacteria, Selenate, Mangrove Sediment

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

الفصل الأول

مقدمة

1.1 خلفية البحث

لا يزال التلوث البيئي يمثل أهمية عالمية وهو أحد التحديات الرئيسية التي يواجهها المجتمع العالمي. يمكن أن يكون التلوث في شكل مركبات طبيعية والتي عندما تتلامس مع البيئة تسبب تغييرات سلبية. هناك أنواع مختلفة من التلوث، وهي غير العضوية والعضوية والبيولوجية (ماسيندي، 2018). خاليا من نوع التلوث، فإنه يحظى باهتمام كبير بسبب تأثيره على البيئة. من بين جميع الملوثات البيئية، تحظى المعادن الثقيلة باهتمام كبير من قبل الكيميائيين البيئيين بسبب طبيعتها السامة. عادة توجد المعادن الثقيلة بكميات صغيرة في المياه الطبيعية ولكن الكثير منها سامة حتى في تركيزات منخفضة. المعادن مثل الزرنيخ والرصاص والكادميوم والنيكل والزئبق والكروم والكوبالت والزنك والسيلينيوم شديدة السمية حتى بكميات صغيرة (سالومونز، وآخرون، 1995). المعادن الثقيلة تصبح سامة عندما لا يتم استقلابها من قبل الجسم وتتراكم في أنسجة الجسم (هيراواتي، وآخرون ، 2000 ؛ هي وآخرون ، 2005).

تأتي المعادن الثقيلة من العمليات الطبيعية والبشرية، وينتهي بها المطاف في مقصورات بيئية مختلفة (الأرض، والماء، والهواء). أبلغت العديد من الدراسات عن مصادر طبيعية مختلفة للمعادن الثقيلة، بما في ذلك الانفجارات البركانية، وبخاخات ملح البحر، وحرائق الغابات، والتجوية الصخرية، والمصادر الحيوية وجزيئات التربة التي تحملها الرياح. تتسبب عملية التجوية الطبيعية في إطلاق المعادن من مناطقها المستوطنة إلى مقصورات بيئية مختلفة. يمكن العثور على المعادن الثقيلة على شكل هيدروكسيدات، وأكاسيد، وكبريتيد، وكبريتات، وفوسفات، وسيليكات ومركبات عضوية. المعادن الثقيلة الأكثر شيوعًا هي الرصاص (Pb) والنيكل (Ni) والكروم (Cr) والكادميوم (Cd) والزرنيخ (As) والزئبق (Hg) والزنك (Zn) والنحاس (Cu) (هيراواتي وآخرون، 2000).

السيلينيوم (Se) هو عنصر له خصائص شبه معدنية وله أشكال متنوعة موجودة بشكل طبيعي وتنتشر في العالم، كما هو الحال في الصخور والتربة (يونيتا، 2018). يوجد السيلينيوم في شكلين، هما الشكل غير العضوي والشكل العضوي. الأشكال غير العضوية من السيلينيوم هي السيلينات (SeO_4^{2-}) والسيلانيت (SeO_3^{2-})، والسيلينيوم في تكوينه العضوي هو سيلينومتيونين وسيلينوسيستين (سوند ، 2006). وفقًا للنانشاريا ولنس، (2015) السيلينات (VI) هو شكل من أشكال السيلينيوم الذي يحتوي على عدد أكسدة أعلى من السيلانيت (IV). أضاف جورج وآخرون، (2008) أن ارتفاع عدد الأكسدة في السيلينيوم يسبب مستوى عاليًا من السمية بحيث يكون في البيئة أكثر خطورة من السيلانيت (IV).

تسبب الحالات ذات السمية الأعلى من السيلينيوم أن يكون السيلينات (VI) أحد مصادر التلوث على البيئة. سبب تلوث السيلينيوم في الطبيعة بسبب عدة أشياء. يوضح ريشير وآخرون أن Se في البيئة يمكن الحصول عليها من العمليات الجيولوجية الطبيعية

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

مثل الانفجارات البركانية التي تسبب إطلاق السيلينيوم إلى الهواء ويمكن أن تتراكم في التربة وأيضًا على سطح الماء. وفقًا لغولدهير (2003)، ومصر وآهرون (2011)، وتجومبس (1998) ينشأ السيلينيوم في الغالب من الأنشطة في مجال الإلكترونية. يمكن العثور على Se أيضًا في صناعات الزجاج والبلاستيك والطلاء والحبر والمطاط وفي تصنيع الأدوية (إضافات الأعلاف الغذائية للدواجن والماشية). يشرح إيكي وآخرون (2000) وجافيد وآخرون (2016) أن Se مستخدم أيضًا في إنتاج الأصباغ والمبيدات الحشرية والفولاذ المقاوم للصدأ ويوجد في نتائج إنتاج دباغة النفايات وليس استثناءً من محطات توليد الطاقة التي تساهم في وجود المعادن السيلينيوم في البيئات المائية. هذا يمكن أن يزيد من كمية السيلينيوم التي، إذا تراكمت، سيكون لها تأثير سلبي على البيئة والحياة البحرية.

فيما يتعلق بالتلوث في البيئة، فإن الضرر الفعلي أو التلوث الذي يحدث بسبب تصرفات الإنسان. إنهم مهتمون بالأمور الشخصية أكثر من اهتمام الناس أو الاهتمام بالبيئة. قال الله تعالى في سورة الروم آية 41:

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ الَّذِي عَمِلُوْا لَعَلَّهُمْ يَرْجِعُوْنَ

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

إن موقع البشر كخليفة على الأرض له تفويض مهم للغاية لمنع الضرر على الأرض. كلمة (الفَسَادُ) الواجهة وفقا للأصفهاني هي إطلاق شيء ما من التوازن، إما قليلاً أو كثيرًا. تُظهر الكلمة المستخدمة أي شيء، ماديًا أو روحيًا أو أشياء أخرى. معنى الآية في الواقع أن الضرر الذي يحدث هو عدم التوازن وانخفاض قيمة الفوائد التي تم الحصول عليها من الأرض أو من المياه. لقد تلوث البحر، أصبحت الأرض ساخنة على نحو متزايد بسبب الجفاف الطويل وهو مثال على الضرر الناشئ عن النشاط البشري. تم إنشاء الكون من قبل الله في نظام متناغم جدا ووفقا للحياة البشرية. لكنهم يقومون بأنشطة سيئة تتداخل مع الضرر بحيث يحدث الخلل الطبيعي في نظام العمل الطبيعي (شهاب ، 2002).

يمكن أن يكون العنصر ضارًا لجسم الإنسان إذا تجاوزت المستويات العتبة المقبولة العادية. وفقًا لنوتودارموجو (2005)، يمكن أن تكون Se سامة أيضًا في جسم الإنسان إذا تراكمت أو استهلكت بشكل مفرط. بعض المشاكل التي يمكن أن تنشأ بسبب الاستهلاك المفرط ل Se، على سبيل المثال اضطرابات في الجهاز التنفسي بسبب استنشاق Se، وكذلك اضطرابات الجلد، ويمكن أن تسبب أيضا أعراض القلب والأوعية الدموية. يشرح ليملي (2004) أن مستوى Se في المستويات العالية يمكن أن يكون سامًا وسامًا جدًا لجسم الحيوانات والنباتات عندما يكون Se في شكل أوكسيون مذاب. سيكون للتأثير المزمن لتعرض السيلينيوم تأثير على السيليني،

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

والسمية العصبية، ويمكن أن يتسبب أيضًا في اضطراب في وظيفة الغدد الصماء في عملية تخليق هرمون تيرين (فينتجينتي، وآخرون ، 2014).

إن ظهور المعادن الثقيلة للسيلينيوم في بيئة حياة الإنسان هو مثال على المواقف البشرية التي تستخدم الموارد الطبيعية على الأرض من خلال عدم التفكير في الأشياء التي ستحدث بعد ذلك على المدى الطويل. وفقًا لكوزدروج وفان إلساس (2001)، فإن الأنشطة البشرية قد تلوث البيئة بالمعادن الثقيلة السامة والفلزات خلال 200 عام الماضية، وبالتالي تسببت في اضطراب شديد في التوازن البيئي في معظم النظم الإيكولوجية، بما في ذلك في البيئة الساحلية. أحد الشواطئ التي من المحتمل أن تتأثر بتلوث السيلينيوم بالمعادن الثقيلة على مستوى +6 (سيلينيت) هو شاطئ بانيوغلوغور، سيتوبوندو. تعتبر حالة الساحل المتاخمة مباشرة للوحدة الثالثة من محطات توليد الطاقة بخار بيطان مؤشرا على احتمال تلوث محتمل للجزيئات المعلقة في المياه. بالإضافة إلى ذلك، من الممكن أيضًا أن يكون وجود مراكب الفحم التي تنقل نتائج التعدين حول الساحل مصدرًا للتلوث الناجم عن النفايات في المياه وعلى الرواسب الساحلية.

من المرجح أن يكون للأنشطة التعدينية الكثيفة في وسط البحر وأنشطة الشحن لشركات نقل الفحم والأنشطة الجيولوجية الطبيعية تأثير على منطقة المانغروف المحيطة بالساحل. منطقة المنغروف هي الحدود بين المياه والأراضي التي تسمح لجميع أشكال المخلفات أو النتائج المتبقية للأنشطة الصناعية والتعدين الذي تقوم به التيارات البحرية سوف تترك حول أشجار المانغروف، سواء على النباتات وعلى رواسب المنغروف. يمكن أن تتخذ المخلفات أشكالًا مختلفة، بما في ذلك نفايات السيلينيوم في المعادن الثقيلة الناشئة عن أنشطة المجتمع حول الساحل التي تحملها الأمواج ووجود مخلفات الصرف في المصانع في مناطق مختلفة مسؤولة أيضًا عن وجود تلوث السيلينيوم في الماء.

إن وجود جزيئات معلقة للمعادن الثقيلة في المياه الساحلية يؤدي إلى تلوث سام، سواء في البيئة أو في الكائنات الحية. الجهود المبذولة للحد من آثار تلوث Se هو القيام بالعلاج للحد من الآثار الضارة على الكائنات الحية. وفقًا لليو وآخرون (2015)، تتضمن العديد من طرق العلاج الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية (المعالجة البيولوجية). من بين الطرق الثلاث، تعد المعالجة البيولوجية هي الطريقة الأكثر أمانًا ولا تتسبب في استخدام تأثيرات سلبية في علاج الظروف البيئية الملوثة. بالإضافة إلى ذلك، من حيث التكلفة، هذه الطريقة أكثر فعالية لأنها تستخدم الكائنات الحية كوكلاء. تستخدم المعالجة البيولوجية بشكل عام كوسيلة لتقليل التسمم بالمعادن الثقيلة، بما في ذلك السيلينيوم. يمكن إجراء المعالجة الحيوية للسيلينيوم باستخدام وسطاء لأنواع مختلفة من الكائنات الحية (النباتات)، وكذلك الكائنات الدقيقة، مثل الفطريات والبكتيريا (سرينيفاس، 2008).

لم يتم دراسة البحوث على البكتيريا كعامل علاج للسيلينيوم على نطاق واسع. البحث عن البكتيريا التي يمكن أن تكون مقاومة ويمكن أن تقلل من مستوى سمية السيلينيوم وجدت في التربة والمياه العذبة. بعض الأمثلة على البكتيريا الموجودة تشمل

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Ralstonia metallidurans CH-34 في رواسب نباتات الزنك في بلجيكا (روكس وآخرون 2001)، *Shewanella oneidensis* الموجودة في رسوبيات النهر (كلونوسكا وفيرميغليو، 2005)، *Pseudomonas stutzeri* و *P. flourecens* في مياه النهر اليابانية (إيكو وآخرون، 2000) *P. putida* KT2440 معزولة عن مياه الصرف الملوثة بالسيلينيوم في وادي سان جواكين، كاليفورنيا (أفيندانو، 2016) *Desulfovibrio dessulfuricans* (تومي وآخرون، 1995). في حين أن البكتيريا المعزولة من المياه البحرية لا توجد على نطاق واسع، وخاصة التي لديها القدرة على الحد والتراكم من مستويات السيلينيوم عالية المستوى أو السيلينات (SeO_4^{2-}). في حين أن بعض البكتيريا في بيئة المانغروف لا تزال محدودة. لذلك، يركز هذا البحث في محاولة للعثور على البكتيريا التي يمكن مقاومتها ويعتقد أنها قادرة على تجميع السيلينيوم على مستوى عالٍ من السمية (SeO_4^{2-}) من رواسب المانغروف في شاطئ بانيوغلوغور، سيتوبوندو، والتي تم الحصول عليها من المراقبة العيانية حتى المرحلة الجزيئية.

1.2 أسئلة البحث

بناءً على خلفية البحث السابقة، يتضمن هذا البحث أسئلة التالية:

1. ما هي أنواع البكتيريا التي لديها القدرة على مقاومة سيلين في رواسب المانغروف في شاطئ بانيوغلوغور، سيتوبوندو استنادًا إلى الخصائص المورفولوجية والجزيئية؟
2. ما هي خصائص نمو بكتيريا سيلينيت المقاومة الموجودة في رواسب المانغروف في شاطئ بانيوغلوغور، سيتوبوندو في وسائط سيلينيت؟

1.3 أهداف البحث

أهداف هذا البحث هي:

1. تحديد أنواع البكتيريا التي لديها القدرة على مقاومة سيلينيت في رواسب المانغروف في شاطئ بانيوغلوغور، سيتوبوندو استنادًا إلى الخصائص المورفولوجية والجزيئية.
2. معرفة خصائص نمو البكتيريا المقاومة للسيلين الموجودة في رواسب المانغروف في شاطئ بانيوغلوغر، سيتوبوندو في سيلينيت الوسائط.

1.4 حدود المشكلة

حدود المشكلة هذا البحث هي:

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

1. يتم إجراء أخذ العينات في منطقة رواسب المانغروف في شاطئ بانيوغلوغور، سيتوبوندو.
2. يتم أخذ العينات من سطح الرواسب حول موقع المنغروف.
3. تحديد محطات أخذ عينات الرواسب التي تم الحصول عليها من ثلاث نقاط.
4. تركيز سيلينات الصوديوم المستخدم في هذا الاختبار هو 0 ملم، 1 ملم، 2 ملم، 5 ملم، و 10 ملم.
5. وسائط النمو البكتيرية باستخدام YMEA، YMEB التي تحتوي على سيلينات الصوديوم (Na_2SeO_4).
6. الأسلوب المستخدم في عزل البكتيريا عن طريق التخفيف المتعدد المستويات الملقح على YMEA الصلب من خلال لوحة متتالية.
7. أسلوب تحليل البكتيريا عن طريق تحديد المجهري، والطلاء غرام، وتحديد الجزيئي 16s rRNA وتحديد الهوية.

1.5 الفوائد

فوائد هذا البحث هي:

1. تقديم معلومات حول أنواع الجرثوم برواسب المنغروف لشاطئ بانيوغلوغور، سيتوبوندو التي يمكن أن تكون مقاومة للاسيلنات المعدنية.
2. تقديم معلومات حول دور البكتيريا المقاومة والمراكم في التغلب على تلوث السيلينيوم في النظم الإيكولوجية البحرية.
3. إلهام المزيد من البحوث المتابعة حول البكتيريا والمراكم المقاومة من المياه البحرية، وخاصة في رواسب المانغروف.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

الباب الثاني
مراجعة المكتبة

2.1 السيلينيوم

السيلينيوم هو العنصر الكيمياء الذي يملك النمرة الذرة 34 ويملك الكتلة الذرة 78.96 (g/mol). وقع السيلينيوم في الفرقة 16، بين العنصر الكبريت ومعدن لامع ذو صفائح، وبين الزرنيخ والبروم في الفترة 4. يتبين دفيت ال (Devi*et al*) 2017 العنصر من السيلينيوم، يسمى بمجموعة الكلكوجين أيضا. سوى لأن في مجموعة 6أ، يستطيع السيلينيوم ان يشكل الكبريتيد (H_2S). يملك الكبريتيد الهدروجين غازة التي لاتلوّن، سام شديد، وأوديفيروس (*odiferous*).

يملك السيلينيوم 4 الأحوال الأكسدة الطبيعية (4 العدد التكافؤية)، هي التكافؤ −2،0 ، +4، و+6 (Butter *et al.,* 2012). في الأكسدة (.)، تتكون من السيلينيوم الأولي (Se^0): الأكسدة (−2) تتكون من السيلينيد الصوديوم (Na_2Se) والسيلينيد الهيدروجين (H_2Se): العدد الأكسدة (+4) تتكون من السيلينيد الصوديوم (Na_2SeO_3)، الثاني الأكسيد السيلينيوم (SeO_2)، والحمض السيلينيوس (H_2SeO_3): العدد الأكسدة (+6) تتكون من السيلينيد الصوديوم (Na_2SeO_4)، وحمض السيلينات (H_2SeO_4) (Dummont, 2006). عند ستادمان (Stadtman) 1990 وستولز (Stolz *et al.,*) أنّ العنصر السيلينيوم هو العنصر اللافلز، صفة من بين المعدن وغيرالمعدن.

عاما، ينقسم السيلينيوم إلى الشكلين، هو العضوي وغيرالعضوي. الشكل العضوي من السيلينيوم يتعلق بالبروتين حمضا أمينيا الذي يستطيع ان يكتشف الجسم في الشكل السيلينوسيستيين والسيلينوميتيونين (Dilaga, 1992; Budiyanto, 2014). أما عند (Johanson*et al.,*) 2005 يتبين في الشكل الغير العضوي، يتكون السيلينيوم من السيلينيد (Se^{2-}) والسيلينات (SeO_3^{2-}). عاما، يكتشف العنصر العضوي السيلينيوم في الشكل البروتين السيلينو هو ل- سيلينو ميثونين، ميثيونين الذي تبدل المجموعة الكبريات سيلينيوما. أما عند (Nuttal) 2006، البضعة من أشكال السيلينيوم العضوي التي تكون في العلم، مثل السيلينوسيستيين، السيلينوسيستين، ديسيلينوسيستين، السيلينوميتيونين، والسيلينوديجلوتاتيون. عند (Vincenti, *et al*) 2014، يصبح السيلينيوم في الشكل السيليد (SeO_4^{2-}) والسيلينات (SeO_3^{2-}) عنصرا أخطرا وساما شديدا للأشخاص لأن العدد أكسدته.

يستطيع "سي" ان يمتص بالسهل الشديد إلى الهضم. يدخل إلى الجسم يمر على الطعام الذي يحمل السيلينيوم، مثل الحبة، اللحم، والبيض. عند (Sunde *et al.,*) 2012، الطعام البحر واللحم العضو هما المصدر الطعام الأغني السيلينيوم. أما المصدر

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

الطعام الأخر من السيلينيوم أيضا يتضمن اللحم الليفي، الحبوب، والبذرات، ويستطيع ان يكتشف على الإنتاج الحلب. (Risher *et al*)، يمتص الجسم الشخص مركبا سيلينوميا عضويا بالسهل (مثل، الحمض السيلينو الأمينو).

يستطيع السيلينيوم ان يدخل إلى الجسم يمر على المياه الشرب أيضا بالشكلة السيلينات الصوديومات والصوديوميات غير العضوية. بل، عدد السيلينيوم في المياه الشرب تافه تعذيتا. بناء على تحليل البيانات عام 2009-2010 الذي يفعل (*National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES)، تعادل غذاء السيلينيوم اليومي في الأمريكي بالعمر 2 أو فوقه هو 108،5 (mcg) الذي ينال من الطعام و 120،8 (mcg) من الإضافي (*U.S. Department of Agriculture*). يملك الرجل غذاءا يوميا أعلى (134 (mcg) من الطعام و 151 (mcg) من الإضافي) من النساء (93 (mcg) من الطعام و 108 (mcg) من الإضافي). حول 18 % حتى 19 % من الناضجين والأطفال في الأمريكي، يستخدمون الإضافي الطعام الذي يحمل السيلينيوم (Bailey *et al.*,2011).

2.2 مصدر السيلينيوم

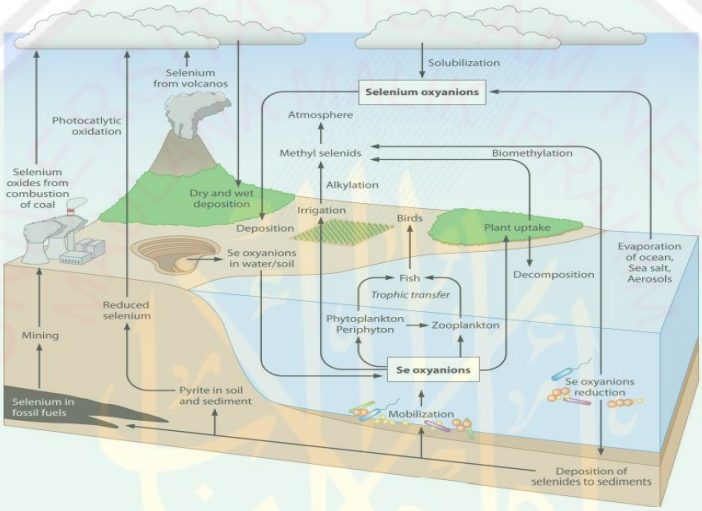
السيلينيوم هو بعض من عناصر الكلكوجين (VIA) الذي لايفيض وجوده في قشرة الأرض مثل عناصر الكلكوجين أخرى، كما كبريت ومعدن لامع ذو صفائح (Staicu, 2017). طبيعيا مكونا، لايستطيع السيلينيوم ان يجعل أو يتلف، ولو يستطيع ان يتغير الشكل في البيئة. ينقسم طلوع السيلينيوم 2، هما يطلع طبيعيا وصنعيا. طبيعيا، يطلع العاقبة من الأنشطة البركانية، التجوية الصخور والرواسب التربة، والأنشطة الكيميا بيولوجية. أما صنعيا، تصبح الأنشطة في القطاع الصناعي أكبر المتصدق من طلوع السيلينيوم في البيئة، يتضمن المياه. الأنشاط الصناعية التي تصبح المصدر من موجود السيلينيوم في البيئة، مثل في عملية الإجعال المطاط، الزجاج، المكون الكهربائي، وإستعمال الوقود. يطلع السيلينيوم عاقبة من الأنشطة في القطاع الزراع أيضا، مثل استخدام المبيدات الحشرية، سماد التربة، خليف الفوسفات (Eswayah, 2018: Triana, 2010; Haygart, 1994; Gebreyessus, 2019). عند (Budiyanto) 2014، المصدر الرئيسي الذي يصبح طلوع السيلينيوم في العالم هو من الصخور الغنية الكربونية والمادات العضويات. سوى الفحم، يملك البنزين محتويات السيلينيوم في العدد الأعلى أيضا (Luoma dan Rainbow, 2008).

الصهريج السيلينيوم الأكبر في الأرض هو الخام الكبريتيد، البيريت المعدن، والفحم بنسبة عالية من الكبريت. يخلي المصدر الجيولوجي والصنعي سيلينوميا (SeO_4^{2-}) إلى البيئة (الصورة 2.1). السيلينيوم، العنصر المهم، يستعيب من السيلينيد أو السيلينات عن المكروب والزراع في أساس شبكات الغذاء ثم التالي عن الحيوان. ثم، يستعيب السيلينيوم ان يصبح سيلينيدات الجهاز (مثل السيلينو البروتين) في الكائن الحي. يخلي انحلال الكائن الميت سيلينيوما لرجوع إلى البيئة. أنشطة المنجمية، الإحتراق الوقود المستحاث، الزراع،

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

إنفجار البركان، وتخلي أنشطة الوقود النووي سيلينيوما إلى الجو، الأرض، الماء في الشكل الذي يستطيع متأخرا، مثل (SeO_4^{2-} dan SeO_3^{2-}). تعلب الكائنات الحية الدقيقة دورة مهمة في الدورة المركبة السيلينيومية في العالم (Nancharaiah dan Lensa, 2015).

ذرة السيلينيوم التي يحمل الهواء مثل الحارق، تستطيع ان تسوي في الأرض أو المياه السطحية. يستطيع التصرف السيلينيوم في الإنتاج التجاري والنفاي ان يرتفع عدد السيلينيوم في الأرض. يعتمد شكل السيلينيوم في الأرض شديدا في الحموضة البيئية وتفاعليته مع الأكسجين. تصبح الدائرة بالمكان قريب من الجبل البركاني أعلى شديدا عن التركيز السيلينيوم، تبدأ من 50–90 (µg/kg) ومع أن الانكسار أعلى (Gebreyassus, 2019).



الصورة 2.1 الدورة السيلينيومية كرويائيا في العالم (Nancharaiah dan Lensa, 2015).

يؤثر موجود السيلينيوم في البيئة شديدا عن المرحلة الأكسدة والإختلافات العاقبة من إفعال مراكب كيمياءه المختلف (EPA, 1979; NAS, 1976). يعتمد حال الأكسدة السيلينيومية في البيئة إلى حوله أيضا، خاصة في (pH, pE) والأنشطة البيولوجية (Maier *et al.*, 1988). سوى السيلينيوم موجود في بيئة الحاصل من الأنشطة الصنعية والبقايا من الأنشطة الصناعية، يستطيع العنصر السيلينيوم ان يكتشف في المصدر الطعام طبيعيا. مثل الثمار، الفاصولي، والحليب (الجدول 2.1).

السيلينيوم ضوئية، هي القدرة في التغيير النور إلى الكهرباء. تلوث السيلينيوم في المياه السطحية أصل من المصادر، يتضمن من المياه الملاصقة التي تمكن ان تتضمن السيلينيوم، ومن الصرف السفلى من المينه السطحية. المصنعة المعالجة النفايات هي المصدر الأخر الإطلاق السيلينيوم إلى الماء. تصبح النفاية من المصنعة المعالجة النفايات والمصافة النفطة مصدرا رئيسيا سيلينيوميا في النظام المصب سان فرانسيسكو (Cutter 1989). يكتشف السيلينيوم ويخلى حينما تعدين الفحم لأن الأكسدة البيرايت التي تحمل السيلينيوم (Dreher dan Finkelman 1992). بيانات (WHO) 1971، تكتب أن دون موجود الدور من العنصر الصنعي،

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

تركيز السيلينيوم في العالم منخفض جدا وأنّ لأكثر من حول (ng–µg/L). إنتشار التلوث السيلينيوم. عند (Luoma dan Rainbow) 2008، التلوث السيلينيوم محلّيّ ولايستطيع ان ينتشر مثل في الجنس المعدن الزئبق (Hg).

الجدول 2.1 التلوث السيلينيوم في المصادر الأطعمة في الأمريكي المتحدي (mg selenium/kg, wet weight) (Schubert *et al.,* 1987; Secor dan Lisk, 1989).

الجنس الطعم	المتعادل	الحد الأقل	الحد الأكثر
الفواكه والخضروات			
التفاح الخام	0.004	0.003	0.006
الجزر الخام	0.017	0.006	0.029
البرتقال	0.015	0.013	0.018
السميك	0.013	0.004	0.023
الخروع، الجوز، والحبوب			
الخبز الأبيض	0.32	0.23	0.54
الخبز القمح الكامل	0.44	0.28	0.67
الحبوب الذرة	0.063	0.026	0.12
الشعري البيض المجفف	0.66	0.43	1.35
الشعري البيض الطبخ	0.19	0.14	0.42
المكسرات البرازيل	14.7	0.20	253
الإنتاج الحليب	0.016	0.011	0.025
الحليب	0.083	0.062	0.10
الجبنة السويسرية	0.060	0.052	0.068
اللحم	0.21	0.17	0.26
الدجاجة الطبخة	0.26	0.15	0.52
اللحم البقر الطبخ	0.33	0.19	0.51
المأكولات البحرية	0.75	0.31	1.49
السمك السلمون المعلب	0.64	0.21	1.61
الجمبري المعلب	2.84	2.54	3.44

2.3 الوسخ والسمي (Se)

يصبح التلوث المعدن الثقيل مسألة مهمة لسيطرة. ولويكون التنظيم أو التقرير الذان ينظم ويربط عن الحكومة بخروج (PP No. 82 tahun 2001) و(Permen LH No. 13 Tahun 2010). إتضاحا، مازله ان يكتشف ضعيف التطبيق والإشراف في الميدان حتى يسبب جودة الماء ونظم إيكولوجيته ان ينخفض. في (PP No. 82 tahun 2001) نظّم عن إدارة

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

جودة الماء وسيطرة الوسخ الماء، العتبة من السيلينيوم هي 0،01 (mg/L) للفصل 1 و 0.05 (mg/L) للفصل 2،3،4 (Priadie, 2012).

إرتباط على السيلينيوم، (Nuttal) 2006 يتبين أن المسألة المهمة هي السيلينيوم يقرر تركيز مجموعه، تخلّع عن الواقع أن أشكال الكيمياء السيلينيوم تملك الإحتمال السام المختلف للبيئة والتي تعيش فيها. في النشرة الكتابة، يتضمن تركير المصل السيلينيوم على هذا الصف: يرتبط (400–30.000 µg/L) على السمية الحادة، 500–1400 (µg/L) التي ترتبط على السمية المزمنة، و<1400 (µg/L) خالية من السمية، تقرر الفئة علامة وأعراض للمريض. أعظم النشرة الذي يصور التسمم السيلينيوم الحاد ان يشرك الإستهلاك المركب غير العضوي مثل الحمض السيلينيوس، الذي يكتشف في السمسار الذي يزرقّ المسدس، والموت الذي يحدث في اليوم الأول، يرتبط على قدر السيلينيوم الدام التشريح>1400 (µg/L). يدل قدر السيلينيوم الشبكي نمطا معقدا والارتفاع الهام في العضو مثل الكلوة، لاتشير سمية دائمة.

يعتبر (Dumont) 2006 العنصر من السيلينيوم هو واحد من 18 (*trace element*) المهمة في البدن، خاصة في عملية الأيض. يتبين (Mertz) 1981 أنّ كل (*trace element*) في العنصر تستطيع ساميا إذا العدد الأعلى وتركيزها أكثر العتبة. تقرر المعلمات قيمة مثلى من المعدني، ليس إلا السيلينيوم.

الدراسة التصرفية مباشرة من المصافي النفط في سان فرانسيسكو تكتشف متعادل التركيز السيلينيوم في النفاية هي 0،067 (mg/L) بالنطاق 0،0066–0،156 (mg/L). (Barceloux 1999; Cutter 1989). حول 50–76 % من المجموع في النفاية السيلينيومية هو السيلينيد (Cutter 1989). حول 15.000–460.000 طن السيلينيوم كل العام، يحفظ في الشكل الحارق الفحم (Andren dan Klein 1975; Doran 1982). يكتب (Lemly) 1985 أن تركيز 0،10–0،25 (mg/L) يكتشف في الأحواض المجاري من الحارق الفحم في (North Carolina). فيض الحوض الحارق من المرافق المحطة التولدة الكهربائية بالوقود الفحم إلى البحيرة (Belews) يحصل السيلينيوم في المياه السطحية أيضا بتركيز 0،005–0،020 (mg / L) حول الولاية الحوضة البحيرة. ذروة التركيز السيلينيوم تحدث العام 1996، حول <0،001 (mg / L) (Lemly 1997). كتابة التركيز السيلينيوم على 0،28 (mg / L) للنفاية الخامية، 0،045 (mg / L) لنفاية الرئيسية، و 0،050 (mg / L) للنفاية الثانوية (Baird *et al.*, 1972).

سوى الماء، يكتشف الوسخ والسمي السيلينوم في الأرض أيضا. العنصر الرئيسي الذي ينظّم تركيز السيلينيوم في الأرض هو إقتناع السيلينيوم من المادة الصخرة الرئيسية التي تخلي السيلينيوم ان يمر العملية التجوية والغسلية (NAS 1976). إقتراضا، العملية التجوية الطبيعية تخلي حول 100.000–200.000 المتري الطون السيلينيوم كل عام (Andren dan Klein 1975). يساهم الترسيب السيلينيوم في الجو للسيلينيوم في الأرض أيضا. في الماضي، يستخدم السيلينيوم في إنتاج المبيدات الحشرية. بل، لأن

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

مستقره في الأرض والتلوث التالي في الزراعة الأطعمة. الأن، استخدامه في إنتاج المبيدات الحشرية يحدد. لم يكتب الخلع السيلينيوم إلى الأرض من تسوية البرك الحارق المطاير وموقع النفايات الخطيرة كثيرا.

يعتبر (Gupta) 2017 أنّ الأنشطة الجيولوجية العالمية تصبح العنصر الرئيسي عن الحالة التسممية العناصر السيلينيومية في المياه. عند (Grutzmacher) 2013، الأثر من وسخ السيلينيوم في البيئة يؤثر الكائن الحي الذي يعيش حوله. عاما، يحدث التسمم السيلينيوم إذا أيون على السيلينيوم الخاص في الأرض أو المياه السطحية الاستيعابية عن الكائن الحي وتراكم في بدن الكائنة الحية. أعطى الإسلام تبيانا دقائقا وواضحا يمر على مصدرين رئيسيين (القرأن والحديث) عن الظاهرة أو المصيبة التي يصيب الإنسان في الأرض. إرتباطها مع المصيبة التي تحدث على هذه الأرض، قال الله تعالى في السورة إبراهيم الأية 7.

وَإِذْ تَأَذَّنَ رَبُّكُمْ لَئِنْ شَكَرْتُمْ لَأَزِيدَنَّكُمْ وَلَئِنْ كَفَرْتُمْ إِنَّ عَذَابِي لَشَدِيدٌ

Artinya: "Dan (ingatlah juga), tatkala Tuhanmu memaklumkan: "Sesungguhnya jika kamu bersyukur, pasti Kami akan menambah (ni`mat) kepadamu, dan jika kamu mengingkari (nikmat-Ku), maka sesungguhnya azab-Ku sangat pedih".

المصيبة أو البلائية هي العقاب ولعنة من الله للناس الكفر على نعمته مثل العالم الذي طالما ان يفسد دون نظر منفعته للحياة. عند مالك مداني (1997)، الإنكر أو كفر الإنسان لنعمة الله الذي يجعل إنزال العذاب الثقيل في الأرض. هدفها لكي الناس يحس إفعالهم حتى سيرجعون إلى الله، هو السبيل الحق، السبيل الذي يشكر دائما على النعمة التي يقبل من الله تعالى كل هذا الوقت. واضحا، يتبين أن الإفساد الذي يقصد في تلك الأية هو يسبب عن إفعال يد الناس، إفعال المعصية وإفساد الأخلاقية الأخرى أيضا.

2.4 المنغروف

المنغروف أو الغاب المنغروف هو موئل الأحيائي الشاطئ الذي يحتوي ربع الخط الشاطئ الإستوائي العالم بل يهدد نادرا. يملك المنغروف منافعا بيئيا، مثل يصبح المصدر الرئيسي المادي الأغراض العضوي الأرضي للبحر، ويصبح النقطة لإكزة التنوعة البيولوجية. عند (Simões *et al.*,) 2015، الميكروب هو المقوم الرئيسي التنوع البيولوجي الذي يكون النظم الإيكولوجي المنغروف، ب 91 % هو الجرثوم والفطر من مجموع الكتلة الحيوية التي تعيش حول المنغروف.

المنغروف هو الموطن الساطئ الفذ والبيئي الذي يبرز في المنطقة الإستوائية وشبه الإستوائية وكثير لنظر الحياة النباتية الرائدية في المنطقة الساطئية. المنطقة الخاصة لمكان الزراعة المانجروئية تنبث، تسمى ب "غابة المنغروف" تسكن الملايين الهكتار من المنطقة الساطئية أنحاء العالم وتنتشر أكثر من 112 البلدة والمنطقة (Alongi, 2002). يعيش المنغروف في المناطق المناخة بل، موجود الانخفاض

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

السريع في عدد الأنواع بارتفاع الخط العرض (Bandaranayake, 1998). بضعة من العناصر البيولوجية، الجسمية، والكيمياء الساكنة والنشيطة تعرف ان تؤثر التنمية والإستقرارية المجتمعة المنغروفية. هذه العناصر والتفاعلية تلعب الدورة المهمة في تدفق المواد الغذائية في النظام ويصبح ان يحتاج لتفهيم العمليات التي تتفاعل (Ravilkumar *et al.*, 2002).

التحليل عن السيرة، العلوم النبات، العلوم الحيوانيات، التلوثية البيئة، وفعلت أثرة الإقتصادية من المنغروف كثيرة. بل، مازلها قليلا تعرف عن الأنشطة المكروبة في المياه والغابة المنغروفية. الدراسة عن التنوع الميكروبي في المياه المنغروف والرواسب تحتاج لتوضيح عملية دورة الكيمياء الحيوية وإزالة الملوثات. جميع أشكال المكروب تتضمن الجرثوم، الفطر، البكتريا الزرقاء والطحالب الكبير والصغير. يكتب ان يكتشف في هذا النظم الإيكولوجي (Dias *et al.*, 2010). الدراسة الشاملة التي يفعل (Sen dan Naskar 2003 ان يبلغ أن فرقة البكتريا المنغروف عاما، مثل يتكون من : تخفيض الالكبريتات (*Desulfococcus,* *Desulfosarcina, Desulfotomaculum, Desulfovibrio* spp)، شاكل (N_2) (*Azospirillum,* *Azotobacter, Clostridium, Klebsiella, Rhizobium* spp.)، المذيبات الفوسفات (*Bacillus,* *Chryseomonas, Enterobacter, Kluyvera, Pseudomonas, Xanthobacter* spp.)، مضادات الأكسجين الضوئي (*Beggiatoa, Chloronema, Chromatium, Leucothiobacteria, Thiopedia* spp.)، والميثان (bakteri Methanoccoides).

يتبين المصدر الأخر أن فرق الفطر مثل الليغنينوليتيك، السيلولوليتيك، الفيكتينوليتيك، الفطري الأميليتي، البروتين، والفطري الشعاعي تكون في النظم الإيكولوجي المنغروف. يحتاج ان يعرف أنّ الكائنات الحية الدقيقة تأخذ دورا مهما في عملية الإنتاج الأنزيمي. ذالك الحال لأن قدرة الإنتاج الأعلى، المنخفض التكلف، العرض للاعب الجيني. (Quecine *et al.*, 2011; Ferreira *et al.*, 2012). ليس كثير المعلومات الموجودة عن إحتمال المنغروف التكنولوجيا الحيوي المكروبي. عند (Thatoi *et al.*) 2012، أنّ الجذور الأرض المنغروف يضبط سكان الكائنات الحية الدقيقة التي تنتفع من التطبيق الزراعي المقياس الكبير. يملكون القدرة لإصلاح النترجين، حل الفوسفات، حصل غاز الأمونيا، وحصل الإندول الحامض الخليك.

يدل (Kathiresan dan Selvan) 2006 أن البكتيريا الذي يعزل من بيئة نسخة المنغروف هو المرشح لإرتفاع خصب الأرض القاحلة والنسخة التربة المستصلحة. التحد الواضح لنيل المنفعة من الأنواع الهالوفيلية التي تنطبق على النظم الإيكولوجي النسخ المنغروف، سوى مهم التكنولوجيا حيويتهم، هو إلى أي هذا مدى الأعضاء التسامح الملح يستطيع ان يستخدم اللقاح لزراعة الميداني التي تزرع في الأرض الملحة.

2.5 المعالجة البيولوجية

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

إنتفاع المعالجة البيولوجية في إرساء وسخ المعادن الثقيلة وإنزال المستويات الملوثات. ليست الأحوال الجديدة. سترسي المعالجة البيولوجية مسألة في البيئة العاقبة من الأنشطة التعدينية والصناعية (Priadie, 2012). المعالجة البيولوجية هي تدهور التربة ومياه الأرض الذي يسيطر بيولوجيا هو عن مكروب الأرض ليحصل الإنتاج الأخير المستقر وغير الخطر، مثل (CO_2) و (H_2O) (Srinivas, 2008). المعالجة البيولوجية هي التقني الصحيح واحدة من الكيفيات لمحايد حال البيئة، بانتفاع الوكلاء البيولوجي متوسطا (Waluyo, 2009).

يملك حكومة إندونيسيا تنظيما في أداء المعالجة البيولوجية لكي يسيطر وينقص وسخا العاقبة من الأنشطة التعدينية والنفطية، والعاقبة من استخدام المبيدات الحشرية أيضا. الحكومة يمر على تقرير وزير البيئة رقم 128 عام 2003، الذي ينظم عن الإجراء والشرط التقني وإدارة نفاية البترول والأرض التي تتلوث البترول بيولوجيا أو تسمى بالمعالجة البيولوجية (Priadie, 2012).

سيشكل حال الأرض والمياه أساسيا مهما للجرثوم (المخلوق المجهري) للتنمية. بل، يحتاج المكروب تغذية كفاية التي تمكن معدوما في النفاية والأرض لأن الارض تملك المرحلة الخصوبة الأنواع (تمكن خصبة جدا أو قاحلة جدا). من جميع عمليات الإدارة النفاية، أرخص الإدارة البيولوجية من العملية الجسمية والكيمياء، إذا تلك النفاية تستطيع التحلل البيولوجي، أسهل المتأخر في الماء، وغير سام للمكروب (Srinivas, 2008).

النفاية التصرفية من الحوضة التثبيت النفاية والرشح البنزين من الخزان الوقود تحت الأرض تساهم لوسخ الأرض ومياه الأرض. سوى ذالك، إنفجار الإناء الكيمياء، طافح السم الذي لايعمد، تصرف الزراعي الكثير من المبيدات الحشرية، البترولية، المذيبية المنظفة من المرآب تملك المسؤولية على تلوث الأرض والمياه أيضا. تساهم كل الصناعات نفاية الصناعة التي تزيد تلوث الأرض ومياها. يساهم الصباغ وورنيش النفاية (من المكب الصحي) لتشويش الجهاز العشوي وتسمم المعادن الثقيلة سوى المواد المسببة للسرطان، لايتخلع من موجود المعادن الثقيلة السيلينيومية فيها. تستخدم المعالجة البيولوجية محاولة الناس لتحفظ كل الإعطاء من الله تعالى. في السورة البقرة الأية 30، قال:

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلَائِكَةِ إِنِّي جَاعِلٌ فِي الْأَرْضِ خَلِيفَةً ۖ قَالُوا أَتَجْعَلُ فِيهَا مَنْ يُفْسِدُ فِيهَا وَيَسْفِكُ الدِّمَاءَ وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ ۖ قَالَ إِنِّي أَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُونَ

Artinya: Ingatlah ketika Tuhanmu berfirman kepada para malaikat, "Sesungguhnya Aku hendak menjadikan seorang khalifah di muka bumi.'" Mereka berkata, "Mengapa Engkau hendak menjadikan (khalifah) di bumi itu orang yang akan membuat kerusakan padanya dan menumpahkan darah, padahal kami senantiasa bertasbih dengan memuji Engkau dan menyucikan Engkau!" Tuhan berfirman, "Sesungguhnya Aku mengetahui apa yang tidak kalian ketahui."

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

يعطي الله الإحترام إلى مخلوقه، هو الشخص أمام الملاك قبل يخلقهم. القول (**خليفة**)، أوله يملك المعنى المبدل أو المبادل. موجود البضعة التي يفسر هذه الكلمة أنّ "الخليفة" تملك المعنى أن الله يقصد بإرتفاعه هو الإختبار للناس، ويعطي الإحترام للناس. تدل هذه الأية أن "الخليفة" تتكون من ملك الله تعالى، المخلوق الذي يعطى الوظيفة، هو أدم عليه السلام وذريته، والولاية التي تصبح المكان الوظيف، هي الأرض التمددة (Shihab, 2002).

إرتباط مع العالم، الناس الذين يعطى الأمانة من الله تعالى لحفظ العالم ويحضن الأرض ومحتوبها لكي تحدث التعادل في الحياة، بين العاصر الأحيائية وغير الأحيائية. يحضن العالم بكيفية انتفاع كل الموجودات لتجعل العالم الأحسن هي محاولة في أداء الوظيفة مخلوقيا أكمليا.

المعالجة البيولوجية هي تحويل الملوثات المحتملة من الأرض والمياه العضوي أو العالم غير العضوي يصبح الذات التي لاتخطر الكائنات الحية الدقيقة. لأن الإعتماد على جنس الجرثوم وكيلا الذي يملك المسؤولية على التحقير، تنقسم المعالجة البيولوجية تنفسيا أو لاهوائيا لأن موجود الأكسجين أو الأكسجين الحر في الحال المركب إذا عمليته. أعظم المعالجة البيولوجية تنفسيا لأن اللاهوائي بطيئ والصعب لإحتفاظ العملية المعالجة البيولوجية. بل، أحب عند الإنخفاض الأحب من الأكسدة مثل المركب البالكلور. المعالجة البيولوجية هي تحلل النفاية بكتريا الأرض الذي ينجح ان يستخدم لتحقير طين البترول، الأن يستخدم للمعالجة البيولوجية البنزينة، الكحولة، الكلورية، المبيدات الحشرية، وهيدرو الكربونات الأخر الذي يتقلد القوة للمعالجة البيولوجية في الوقت.

2.6 إنتفاع البكتريا في المعالجة البيولوجية

إرتباط بموجود دور البكتريا في عملية المعالجة البيولوجية، قال الله تعالى في السورة يونس الأية 101:

قُلِ انظُرُوا مَاذَا فِى السَّمٰوٰتِ وَالاَرضِ وَمَا تُغنِى الاٰيٰتُ وَالنُّذُرُ عَن قَومٍ لَّا يُؤمِنُونَ

Artinya: Katakanlah, "Perhatikanlah apa yang ada di langit dan di bumi!" Tidaklah bermanfaat tanda-tanda (kebesaran Allah) dan rasul-rasul yang memberi peringatan bagi orang yang tidak beriman."

يتبين الشهاب (2002) أن هذه الأية تتبين إلى الناس لمعاينة ورنا إلى كل الأشياء الموجودة في الأرض وكل المحتويات الدلائل من أعظم وواحد الله. ما أكبر التهديد الذي دل الله دليل قدرته الذي لن يجعل قومه الكفر ويفكرون على كل أشياء. في هذه الأية،

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

تثير الناس لتنمية العلوم دائما يمر على التأمل، التجريب، والملاحظي أيضا. سوى ذالك، موجود المعنى لحفر المعرفة التي ترتبط بالعالم ومحتويه.

عاما، تخالج المعالجة البيولوجية الكائنات الحية المجهرية أو تسمى بالكائنة الحية الدقيقة، الفطر أو الجرثوم ألة لإنخفاض المرحلة الملوثات أو الوساخة في القدر الخاص. الهدف من استخدام الوكلاء البيولوجي هو لكي تستطيع الهيكلة الملوثات السامية ان تكشف بإشراك خميرات التي تحصل (تركب) الكائنات الحية الدقيقة التي ترتبط (Priade, 2012). إنتفاع الجرثوم ألة الإصلاح يصبح المحلول لتغلب وسخ البيئة، الخاصة بموجود وسخ المعادن الثقيلة. عند (Neuhirl *et al.*, 2005)، يستطيع استخدام الكائنات الحية الدقيقة ان يستعيد حال البيئة الوسخة من المعادن الثقيلة، مثل المتبادل (Pb)، النحاس (Cu)، والزئبق (Hg). أما في المعدن السيلينيوم مازله أكثر السلسلة عن الزراعة هيفراكومولاتور.

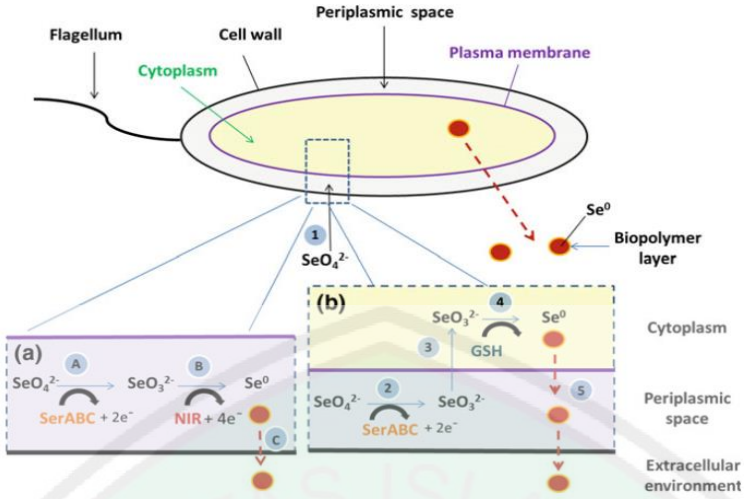
الفرق من المعالجة البيولوجية في البيئة الوسخة عن الزراعة والجرثومة تكون التقنية الإزالة السمومية. عند (Staicu) 2017، تستخدم الإزالة السمومية عن الزراعة في المعادن الثقيلة تقنية استعابية، أما عن الجرثوم يستخدم التقنية العكسة التماثلة. الفرق بينهما، في مكان حدث تلك العملية. في العكسة التماثلة، تحدث أعاد التنظيم بين (SeO_4^{2-}) أو يصبح المركب السيلينيد (SeO_3^{2-}) أو السيلينات. في تلك العملية، تحدث الإنتقال الأيون في جدار الخلية. أما في العملية الإستيعابة تحدث الخلية بإشراك الخميرات حتى تحصل الإنتاج البروتين أو البروتين السيلينو وتحصل الغاز.

تعتمد المرحلة التسامحية للمعادن الثقيلة في الكائنات الحية على محتوى المعادن الثقيلة الطبيئية في الكائنات الحية، مع أنّ موافقها 2–3 مرات أكثر من أدة. عند يازد (2007)، الجرثوم الذي يستطيع ان يعيش للمعادن الثقيلة تملك الجواب والتقني في جسمه، مثل بعملية التراكم البيولوجي، البريوفريتيسيفاسي، المثيلي، والحد الحيوي.

2.7 التقني المقاوم والتراكم (Se) في الجرثوم

يعيش الجرثوم في حال الضغط المعدني يتطور الأجناس التقنية لتحمل امتصاص ايون المعادن الثقيلة. يتضمن هذا التقني إزالة ايون المعدني خارج الخلية، تراكم، ومجمع الايون المعدني داخل الخلية، وانخفاض ايون المعادن الثقيلة إلى الحال الأقل السمي (الصورة 2.2). في التركيز الأعلى، يتفاعل ايون المعادن الثقيلة ان يشكل المركب السام في الخلية (Nies, 1999). يتبين (Spain) 2003، لملك الأثر السام، وجب ايون المعادن الثقيلة ليدخل في الخلية أولا. لأن المعادن تحتاج للوظيفة الأنزيمية والتنمية الجرثومة، يكون التقني الإمتصاص الذي يمكن دخول ايون المعدني في الخلية. عند (Staicu dan Barton) 2017، ينقسم الأيض الجرثوم في الإنخفاض (Se) رد فعل عكس التمثل أو التحلل. التقني في هذا رد فعل هو المركب السيلينيد (SeO_4^{2-}) يتحلل ان يصبح السيلينيوم الأولي (Se^0) بالعنصر السيلينيوم قابل الإلكترون والجرثوم وكيل المانح الإلكترون.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



الصورة 2.2 التحول السيلينيوم على جدار الخلية (*Thauera selenatis*)، أ (1) يدخل السيلينيد الخلية يمر على جدار الخلية: (أ) يصبح الإنخفاض السيلينيد سيلينات في الغرفة المحيطة بالجبلة، (dikatalisis) سيلينات اختزاليات (SerABC): (ب) يصبح انخفاض السيلينات سيلينيوما الأوليا في الغرفة المحيطة بالجبلة، (dikatalisis oleh *nitrit reduktase*, NIR): (ج) القذف السيلينيوم الأولي الذي يصفح بالبوليمرات الحيوية إلى البيئة الخارجة الخلية (Macy *et al.*, 1993). **ب** (1) يدخل السيلينيد الخلية يمر على جدار الخلية: (2) يصبح انخفاض السيلينيد سيلينات في الغرفة المحيطة بالجبلة، (dikatalisis oleh *nitrit reduktase*, NIR) (SerABC): (3) مواصلات السيلينيد في الحشوة: (4) يصبح انخفاض السيلينيد سيلينيوما عنصرا الذي يتوسط (Glutathione, GSH) (tiol): (5) القذف السيلينيوم الأولي الذي يصفح البوليمرات الحيوية إلى البيئة الخارجة الخلية (Debieux *et al.*, 2011).

عاما، يبدأ رد فعل الحد السيلينيوم بتغيير المركب السيلينيد (SeO_4^{2-}) يصبح السيلينات (SeO_3^{2-}) بالوسيط (SerABC) هو الخميرة حاصل من الإفراز الغشاء البكتريا المحيطي، هو السيلينيت الإختزالات بدورها تساعد ان تستعد الإلكترون لتبرع الذي يحدث ذالك رد فعل الغشاء المحيطي (الصورة 2.2 (أ)). أما المركب السيلينيد التشكيل سينخفض ان يصبح السيلينيوم. يساهم (SerABC) ناظم الأيض (type-b)، العنصر الحديد (Fe)، الكبريت (S)، والموليبدينوم (Mo) الذي يدخل إلى الخلية (Dridge *et al.*, 2007).

2.8 تقني التعرف الجزيئي والفيلوجينيتيك

2.8.1 العزل (DNA)

يفعل العزل (**DNA**) بالهدف لإنفصال (**DNA**) من المادة الأخرى مثل البروتين، الدهن، والكربوهيدرات. المبدأ الرئيسي في العزل (**DNA**) 3، هي تدمير (lisis)، استخلاص أو انفصال (**DNA**) من المادة الصلبية مثل السلولوز والبروتين، والتنقية (**DNA**). العزل (**DNA**) هو الفترة الصحيحة لتعلم (**DNA**). هناك المبدأان، هما الطرد المركزي والهطول. الطرد المركزي هو

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

التقني لإنفصال الخلاط بناء على الوزن الجزيئي. الجزيئي الذي يملك الوزن الجزيئي الكبير سيكون تحت الأنبوب والجزيء الضوء سيكون على الأنبوب (Abinawanto, 2011).

فاتح (2009)، يعمل تحلل الخلايا بكيفية تتدمر الجدار وغشاء الخلية الذي يهدف لخروج المحتوى الخلية. الدهن هو الهيكل الرئيسي الشاكل الغشاء وجدار الخلية. المنظفات أو الملح الطعام التي تعطى الخلية تستطيع ان تخرم وتفسد الخلية حتى المحتويات الرئيسيات الخليات (**DNA**) تستطيع ان تخرج. العملية بعد تحلل الخلايا هي الهطول. تفعل الهطول بالإيثانول، الكلوروفورم، الأيزوبروبانول، أو الفينول التي تهدف لتنفصل (**DNA**) مع بقاياه. (**DNA**) الهطول سينفصل من البقايا يتكون من (RNA) والبروتين العصابي. عند تستفرغ عملية الإيثانول وتجف الكريات في الأنبوب، الكريات الجفة التي تكون في الأنبوب هي (**DNA**) التتركز (Bettelheim dan Landesberg, 2007). الإيثانول أو الكحول ليس المسول (**DNA**) والثقيل الجنس الكحول الولاع من الماء يجعل ان يرتفع (**DNA**) في السطح (فاتح، 2009).

يهدف الهطول لإزالة البقايا من المرحلة الإستخلاصية (Yuwono, 2006). تستخدم الغسلة الكريات الهطولة إيثانولا وتهدف لإزالة البقايا الملح العصابي (Keller dan Mark, 1989). الملح الذي يرتبط في عملية الإستخلاص، يملك الصفة الصعبة المتأخرة في الايزوبروبانول حتى يستطيع الهطول مع (**DNA**). بسبب ذالك، يحتاج الهطول مرة بإيثانول مرحلة أخيرة لإزالة البقايا الملح (Ausubel *et al.*, 2003) بعد إفعال عملية الهطول (الإنفصال) ثم التالي هو عملية التنقية (التزكية). تفعل التنقية بغسل الإيثانول مرة وثم التالي يزال الإيثانول وتجف الكريات. الهدف من ذالك الإفعال هو لإزالة البقايا الإيثانول من الكريات (**DNA**). تفعل إزالة البقايا الإيثانول بكيفية تبخر لأن صفة الإيثانول تسهل ان تتناءب في الهواء (Surzycki, 2000).

2.8.2 التوسيع (DNA)

المرحلة التالية من العزل (**DNA**) هي التوسيع (**DNA**) ب ((Polymerase Chain Reaction (PCR)). يستطيع ذالك التقني المنفعة في تتكاثر العدد (**DNA**) لكي يستطيع ان ينتفع الأكثر لأنّ عدده الأكثر (Handoyo, 2011). ((Polymerase Chain Reaction (PCR)) هو التقني المختبر لأكثر (التوسيع) قطعة (**DNA**) في الدائرة الخاصة التي تحدد الرئيسيان النوكليوتيد (فاتح، 2009). يستطيع ((Polymerase Chain Reaction (PCR)) ان يؤثر العنصر التكوين الحل العازل أو عدد الدورة رد الفعل الذي يفعل (Yuwono, 2006). يزيد أنّ عملية (Polymerase Chain Reaction (PCR)) تكون الدورة الصلبية التي تنظيم درجة الحرارة من تلك الدورة تؤثر جدا في عملية الشائكة الرئيسية. يستطيع فرق الدرجة الحرارة ان يسبب الرئيسي فشلا لإلتصاق (Langga, 2012).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.8.3 الأغاروز جل الكهربائي

يستطيع حاصل ((Polymerase Chain Reaction (PCR) ان ينظر الكهربائي الجل لمعرفة التصور من المراحل قبله ومعرفة الوزن الجزيئي من الشريط (DNA) الهدف (Handoyo, 2011). المبدأ الأساسي من الكهربائي هو إنفصال الجزيء (DNA) بناء على الفرق المقياس. يستخدم الكهربائي شحنة كهربائية بجهد (voltase) في عملية عمله وإنفصال (DNA) يفعل بالجل الأغاروز (Firdausi dan Kusumawati, 2008).

2.8.4 (Squencing DNA)

الطريقة (Sanger) هي الطريقة التي تستخدم ل (*Sequencing*). تعرف هذه الطريقة، الطريقة السلسلة الديديوكسية الإنهائية التي تحصل مجموع الشظايا القاعدة النوكليوتيدات. يفعل (*Sequencing*) لتقرير ترتيب النوكليوتيدات الأرجينين (أ)، السيتوزين (ج)، الجوانين (ز)، الثايمين (ت) لجزيء (DNA) الجرثوم. تستخدم (*Sequencing*) الطريقة (Sanger) حل الذي يتكون من ((dNTPs (Deoxynucleotides Triphosphates لتركيب الجزيء (DNA) الجديد الجرثوم و ((ddNTPs (Dideoxynucleotides Triphosphates الذي سيقف استطالة الجزيء (DNA) الجرثوم في الفلز القلوي الخاص (Hunkapiller, 1992).

يربح إكتشاف التقني ((Polymerase Chain Reaction (PCR) (Sanger) شديدا في التنمية البيولوجية الجزيئية. قبلها، تجب على (*Sequencing*) (DNA) ان تمر العمليات الطويلة والتعبية. بموجود الطريقة التي تتطور (Sanger dan Maxam-Gilbert)، تستطيع ان تفعل بالسهل والسريع جدا حتى هذا التكنولوجيا متزايدا (Muladno, 2002).

2.9 التحليل الفيلوجينيك

الفيلوجينيتيك هو العلم عن الإرتباط بين الكائن الحي بناء على القرابة السوية، الإرتباط التطور، وتاريخ الحياة (Brown, 2002). يستطيع الشجر الفيلوجينيتيك ان يصور الإرتباط بين الأنواع والآباء الأخير الأقرب بالنوع المقارن حتى يستطيع ان يحلل قريب النوع والأخر (Kocher*et al.*,1989).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

الفصل الثالث
طريقة البحث

3.1 خطة البحث

هذا البحث بحث وصفي كمي وتجريبي. نوع البحث بحث وصفي تجريبي لأن البيانات المقدمة تحتوي على جرثوم المقاومة إلى سيلينات، وخصائص مجهري، وتعرف نوع الجرثوم بأسلوب جزيئيا 16S rRNA وإعادة بناء شجرة النشوء والتطور. نوع التجربة لمعرفة استطاعة العزل المختار في تراكم معدن سيلينات في تركيز سيلينات المعينة.

3.2 وقت البحث ومكانه

يجري البحث في أغسطس حتى ديسمبر 2019. مكان البحث في معمل كيمياء حيوية، معمل علم الوراثة وجزيئيا ومعمل الأحياء المجهريقسم علم الحياة، كلية العلوم والتكنولوجيا بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. تنفيذ اختبار تحليل نتيجة PCR (تدرج) عقده مصنع Bioneer في كوريا الجنوبية.

3.3 أدوات البحث ومواده

3.3.1 أدوات البحث

الأدوات المسخدمة في هذا البحث أطباق بتري، وكوب إيرلينماير، وكوب القياس، وميزان تحليلي، وقطارة دقيقة، و تدفق الهواء الرقائقي (LAF)، و*Autoclaf*، وطبق ساخن، وكرة عقيمة، وماصة زجاجية، وانحدار أزرق، وخلاط، وأداة التخريب، وبنسن، أوسي، وساق زجاجي L (مذيع)، وحاضنة، وأنبوبة إيبندورف، كوب القدح الكبير، وأنبوبة الاستجابة، وحاسب قولون، وبلاستيك، والقمح، وشريط مطاطي، وشيش ألومينيوم، والقاروة، والملوق، وPCR Thermal Cyler، وثلاجة -20 درجة مائوية، وelectroforesist بمزود الطاقة، وGel-Doc Transilluminator، والميكروويف، وهزاز المحضن.

3.3.2 مواد البحث

مواد البحث المحتاجة في هذا البحث منها: Yeast Malt Extract Agar (YMEA) يحتوي على ثلاثة غرامات فصلة الخميرة، وثلاثة غرام فصلة مالت، وخمسة غرامات هضمون، وخمسة غرامات سكروز، وعشرون غراما بكتيريا أجار في 1000 ميلي aquades، NA_2SeO_4 (سوديوم سيلينات)، رواسب منغروف شاطئ بانيوغلوغور، سيتوبوندو، Aquades عقيم،

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

كلوريد الصوديوم، كحول 70٪، غلاف بلاستيكي، مناديل، سبيرتوس، صوف القطن، شاش، ورقة لاصقة، بلاستيك، كريستال بنفسجي، سافرانين، كحول 96٪، ماء خالٍ من النيكلياز، سكروز، صبغة تحميل، 2.5 بلمرة طينية، سيلينات الصوديوم (Na_2SeO_4)، مزيج PCR، dNTP، GeneRulerTM 1 Kb Ladder (Intron) ، بروميد إيثيديوم (EtBr)، جل أغاروسا 1% واستخدام Primer 306 forward {5 'CCA GAC TCC TAC GGG AGG CAG C 3'} و Primary 935 back {5 "CGA ATT AAA CCA CAT GCT CCA .C 3 '}

3.4 إجراءات العمل

3.4.1 تعقيم الأدوات والمواد

يتم غسل جميع الأواني الزجاجية المستخدمة جيدًا باستخدام الصابون ثم تجفيفها. يتم لف بعض الأدوات مثل أطباق بتري بورق أبيض وبعض الأدوات الأخرى ملفوفة باستخدام رقائق الألومنيوم. بالنسبة للمواد في شكل وسيط يتم وضعه في كوب سعة 500 مل ثم يتم إغلاقه باستخدام القطن والشاش، بينما يتم وضع محلول الملح الفسيولوجي في أنبوب اختبار 20 مل، يتم تغطية كل منها باستخدام رقائق الألومنيوم. توضع جميع الأدوات والمواد في أكياس بلاستيكية مختلفة يتم ربطها باستخدام شريط مطاطي. يتم تعقيم الأواني الزجاجية والمواد الأخرى غير الوسائط باستخدام الأوتوكلاف عند 121 درجة مئوية تحت ضغط 1 atm لمدة 15 دقيقة. بينما يجب تعقيم الوسائط مرتين باستخدام الأدوات نفسها.

3.4.2 أخذ العينات

تم أخذ عينات من رواسب المنغروف في شاطئ بانيوغلوغور، سيتوبوندو في 3 محطات مختلفة. المحطة الأولى هي موقع قريب من أنشطة السكان. المحطة الثانية هي موقع نادرًا ما تستخدمه أنشطة السكان. في حين أن الموقع الثالث هو موقع بعيد عن أنشطة السكان. يتم أخذ العينات عن طريق أخذ الجزء السطحي من الرواسب من المنغروف. تؤخذ عينات من الرواسب باستخدام مجرفة صغيرة، ثم توضع في بلاستيك ووسم، ثم تُخزن في صندوق ثلج. ثم يتم أخذ العينة التي تم الحصول عليها إلى المعمل للعزل وتحديد البكتيريا.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.4.3 صنع الوسائط

أ) وسائل الإعلام النمو

الوسائط المستخدمة كوسيط نمو بكتيري من رواسب المنغروف هي وسائط Yeast Media Extract Agar (YMEA). وفقا لكروتزمان وفيل (1998) في 1000 مل يتكون من 3 غرامات من فصلة الخميرة، 3 غرامات من فصلة الشعير، 5 غرامات من بيبتون، 5 غرامات من السكروز، 20 غراما من بكتيريا أجار المذابة في 1000 مل من الماء المقطر. بعد ذلك، يتم وضع المادة في أنبوب erlenmayer 1 لتر ثم يتم تغطيتها بورق الألمنيوم. يتم بعد ذلك طهي الوسائط أو تسخينها على طبق ساخن حتى تبدو وسائط الغليان ومتجانسة. تم تعقيم الوسائط باستخدام الأوتوكلاف لمدة 2 × 15 دقيقة عند 121 درجة مئوية atm 1.

يتم صب وسائل الإعلام بشكل أساسي في تدفق الهواء الرقائقي (LAF). وضعت وسائل الإعلام في طبق بتري معقمة بقدر 19،8 مل من الوسائط الساخنة باستخدام ماصة زجاجية وكرة عقيمة معقمة. تم إضافة Na_2SeO_4 (سيلينات الصوديوم) مع تركيز ملي في وقت واحد عند صب وسائط YMEA على طبق بتري. إيقاف أطباق بتري التي تحتوي على وسائط لمدة 1 × 24 ساعة عند درجة حرارة 37 درجة مئوية حاضنة لتحديد الملوثات البكتيرية.

ب) وسيط العزل

وسيط عزل الجرثوم المستخدم في طريقة الحذف التسلسلي هو 1 مل من الأكواخ المعقمة، ثم توضع في أنبوب 1.5 مل معقم.

3.4.4 عزل الجرثوم

تم إجراء عزل الجرثوم عن طريق أخذ 0.5 غرام من رواسب المانغروف باستخدام ملعقة معقمة. ثم يذوب الرواسب في 1 مل من الماء المقطر المعقم في أنبوب 1.5 مل، ثم متجانس لمدة 10 ثانية. بعد ذلك ، يتم أخذ 100 ميكرولتر من الأنبوب الأول باستخدام قطارة دقيقة ونقله إلى الأنبوب التالي. تم تنفيذ الخطوات نفسها حتى الأنبوب الثالث. تم تنفيذ عملية عزل الجرثوم على وسائط YMEA بواسطة طريقة صفيحة الإنتشار. ثم تم أخذ 30 ميكرولتر من الأكواخ المحتوية على رسوبيات في أنبوب باستخدام قطارة دقيقة وتم تلقيحها في طبق بتري يحتوي على وسائط YMEA بتركيزات مختلفة. تم الانتشار باستخدام مفرشة معقمة في خزانة LAF. تم تحضين الكأس التي تحتوي على العينة باستخدام حاضنة عند 27 درجة مئوية لمدة 3 × 24 ساعة حتى شوهدت مستعمرة الجرثوم على طبق بتري.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.4.5 اختبار مقاومة الجرثوم

استمر البحث باختبار المقاومة أو يمكن أيضا أن يسمى اختبار الفرز كخطوة لمعرفة مقدار عزل الجرثوم الذي كان قادر على النمو للمعادن الثقيلة سيلينبت وقدرة عزل الجرثوم على تقليل معدن سيلينات المعطاة. وفقا لأماليا (2017)، تم إجراء هذا الاختبار عن طريق صب 10 ميكروليتر من عزل في محلول الجلسرين في وسط YMEA معقم يحتوي على 10 ملم من سيلينات الصوديوم (Na_2SeO_4) والذي تم تحضينه لمدة 24 ساعة. وفقًا لأفندانو وآخرون (2016)، ذكر أن الجرثوم يقلل وتتراكم بشكل إيجابي عندما يكون أحمر ويُقال إنه سلبي إذا كان أبيض.

3.4.6 تحديد الجرثوم

3.4.6.1 المراقبة العيانية

وقد لوحظت خصائص الجرثومات من نتائج العزل على وسائط YMEA لخصائص نموها. الخصائص التي لوحظت وفقا لدويجوسيبترو (1994) هي:

أ. تشمل تكوين المستعمرات التي تظهر أعلاه: دائرية، والخيط، وغير منتظمة، وتشبه الجذور (جزيئي)، وتشبه اللولب (المغزل).

ب. تشمل مستعمرات أو أسطح الارتفاع التي يتم رؤيتها من الجانب المسطح والمثار والمحدب والأومبون.

ج. حافة المستعمرة من جهة العلوي تشمل: كامل، متموج (فصوص)، مسنن، خيوط، مجعد (غير موحد).

3.4.6.2 الملاحظات المجهرية

تم إجراء ملاحظات مجهرية من خلال النظر إلى شكل الخلية ولون الجرثوم بعد تلطيخ الجرام. يشير تلطيخ الجرام في الجرثوم إلى الإجراء الذي تقوم به كابوتجينو (2013) ، والذي يتم أخذ آذان الجرثوم واحد من الوسائط ووضعه على جسم زجاجي معقم تم إسقاطه بماء مقطر عليه. يتم بعد ذلك تحضير المستحضرات حتى تجف وبعده إسقاط محلول الكريستال البنفسجي. إيقاف التحضير لمدة دقيقة واحدة ثم غسله بالماء المقطر المتدفق. والخطوة التالية هي قطرات بمحلول اليود وإيقافه لمدة دقيقة واحدة. بعد ذلك أعطيت أكواخ متدفقة ثم الكحول 96٪. ثم يسقط المستحضر مع سفرانين وإيقافه لمدة دقيقة واحدة ثم يتم غسله بالماء الجاري وتجفيفه باستخدام منديل. ثم يتم ملاحظة المستحضرات باستخدام المجهر، إذا كانت بنفسجي فهي إيجابية الجرام، وإذا بدت حمراء فإنها في جرثوم سلبية الغرام.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.4.6.3 المراقبة الجزيئية

أ. التضخيم مع PCR المباشر

تم تنفيذ عملية تضخيم جينات الرنا الريباسي 16S rRNA من الجرثوم المقاوم وتراكم السيلينات باستخدام طريقة تضخيم PCR المباشر، والتي أخذت مستعمرة الجرثوم واحدة على طبق بتري باستخدام طرف مسواك معقم، ثم نقلها إلى قاع أنبوب PCR وإضافتها بما في ذلك مزيج 12 ميكرولتر من PCR، *Primer forward* 1 ميكرولتر 10 pmol، *Primer reverse* 1 ميكرولتر 10 pmol، نواة المياه الحرة 9.5 ميكرولتر. وكانت *Primer* المستخدمة في هذا البحث 306 F (5′-CCA GAC TCC TAC GGG AGG CAG C-3) و 935 R (5′-CGA ATT AAA CCA CAT GCT C-3 3) ك *forward primer* ك *reverse primer*.

تستخدم هذه العملية مرحلة تمسخ أولية عند 94 درجة مئوية لمدة دقيقتين، وتمسخ عند 94 درجة مئوية لمدة 30 ثانية، وتصلبها عند 50 درجة مئوية خلال40 ثانية، واستطالة عند 72 درجة مئوية لمدة 40 ثانية وتثبيت 72 درجة مئوية لمدة دقيقتين، عملية تمسخ، الصلب والبلمرة 30 دورة.

ب. اختبار جودة الحمض النووي

يتم إجراء هذا الاختبار عن طريق 250 مل من محلول TBE العازلة مختلطة مع 5 مل TBE 50x في 245 مل من الأكواخ. تم صنع جل الاغاروز 1٪ مع 0،3 غرام من الاغاروز المذاب في محلول TBE 1x يصل إلى 40 مل. وضعت 10 ميكرولتر من عينات الحمض النووي وميكرولترين *loading dye 6x* في بئر هلام. تم تنفيذ *electroforesis* في 100 فولت و وقت التشغيل30 دقيقة. ثم يتم رؤية نتائج *electroforesis* عن طريق استخدام أداة *Gel doc*.

ج. تسلسل الجينات الترميز 16S rRNA

تم بعد ذلك تسلسل نتائج التضخيم باستخدام خدمات Bioneer الكورية الجنوبية.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.4.7 منحنى النمو البكتيري

إعداد منحنى نمو الجرثوم عن طريق قياس الكثافة الضوئية (OD) كل ساعتين من 3 مل من وسائط YMEB السائلة التي تم تلقيحها بـ 30 ميكرولتر من ثقافة الجرثوم باستخدام مقياس الطيف الضوئي بطول موجة (λ) يبلغ 600 نانومتر. المحلول القياسي المستخدم هو YM Broath. يتم إجراء هذا الاختبار حتى يكون هناك 4 مراحل من نمو الجرثوم.

3.4.8 تحليل البيانات

وقد تم تحليل النتائج الجزيئية وصفي وكيفي على أساس جودة الحمض النووي لجين 16S rRNA باستخدام *electroforesis* مع *primer 306F* و*935R*. ثم تم تحليل نتائج التسلسل باستخدام موقع NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) عبر الإنترنت، وبرنامج BLAST (أدوات البحث المحلية الأساسية للتجميع المحلي)، وبرنامج MEGA 6 (حداد وآخرون، 2014). كما تم تحليل تكامل العلوم والإسلام باستخدام التفكير الروحي والدراسات الإسلامية المتعلقة بالبحث الذي يسترشد بالقرآن والحديث.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

الفصل الرابع
النتيجة والبحث

4.1. نوع جرثوم صامد سيلينات في رواسب المنغروف في ساحل بانيوغلوغور سيتوبوندو على أساس الخصائص المورفولوجية والجزيئية

4.1.1 عزل جرثوم صامد سيلينات

تم أخذ العينات في منطقة ساحل بانيوغلوغور سيتوبوندو. في أخذ العينات، تم الحصول على الجرثوم من قمة رواسب المنغروف التي تم عزلها باستخدام *Yeast Media Extract Agar (YMEA)* . يستخدم الوسيط كمواد عزل جرثوم لأنه وفقًا لكاشيوا وآخرون ، (2001) يحتوي وسيط YMEA على مكونات كعامل نمو الجرثوم، مثل حمض الكازامينو والفيتامينات. بجانب ذلك، يوجد جلوكوز 20 غرام / لتر يعمل كمصدر الكربون المستخدم في تكاثر خلية الجرثوم.

تم عزل العينات من الجرثوم ونمت في خمسة عشر (15) مل من وسائط YMEA عن طريق إعطاء سيلينات الصوديوم 0 ملم، 1 ملم، 2 ملم، 5 ملم، و 10 ملم باستخدام طريقة انتشار الصحن. الجرثوم الملقح في الوسط ثم يرخم لمدة 3 أيام عند 27 درجة مئوية (درجة حرارة الغرفة) بشكل هوائي. استنادا إلى رخم عينات عزلة الجرثوم لمدة 3 أيام، والنتائج التي تم الحصول عليها كما في الجدول 4.1. يشير الجرثوم ذو مؤشر أحمر إلى القدرة المزعومة لتقليل معدن السيلينات (Se VI) إلى السيلينيوم الأولي (Se 0). في هذه النتائج، التي شوهدت في وسائل الإعلام مع تجريب تركيزات سيلين من 10 ملم و 5 ملم، تم الحصول على مستعمرين أحمر من الجرثوم. بينما في تجريب 2 ملم كان هناك 4 مستعمرين أحمر. وفقا لتومي وآخرون، (1995) تغير الحمراء بسبب عمليت التمثيل الغذائي لجدران الخلية من الجرثوم الذي تقاوم معدن السيلينات.

سبب اختيار عزل الجرثوم الذي ينمو بتركيزات 5 مم و 10 ملم ليكون ركز البحث هو تحديد شبابها باستخدام وسائط YMEA 10 ملم سيليني، خمسة من عزل الجرثوم الثمان التي وجد أنها حمراء (الجدول 4.1) لم تظهر باللون الأحمر للمخرة الثانية أو سمة التي تشير إلى نشاط الجرثوم ضد السيلينات على 10 ملم من الوسائط. يهدف تجريب التجديد على 10 ملم من الوسائط إلى البحث عن الجرثوم الأكثر مقاومة للمعادن سيلين في أعلى التركيزات. نتيجة التجديد المحصول عليها على وسائط YMEA، أظهرت عزل الجرثوم الخمس اللون الأبيض، بحيث حصلت في هذه المرحلة على ثلاث عزلات الجرثوم، وهي عزل واحد من 5 مم وعزلان من 10 ملم (انظر الجدول 4.2). وفقًا لخليليان وآخرون (2015)، فإن تغير لون عزل الجرثوم إلى اللون الأحمر على الوسائط التي أعطيت للسيلينات بتركيز 10 ملم يظهر أن الجرثوم يحدث في عملية تنقيص سيلينات ويظهر وجود مقاومة وقدرة على تراكم معدن سيلينات بواسطة الجرثوم ضد المعادن في الوسائط.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

الجدول 4.1 نتيجة عزل الجرثوم

رقم	تمييع العينات	تركيز سيلينات في الوسيط	عدد المستعمرة	
			أبيض	أحمر
.1	10^{-2}	0 ملم	8	–
		1 ملم	3	–
		2 ملم	10	–
		5 ملم	–	–
		10 ملم	–	–
.2	10^{-3}	0 ملم	15	–
		1 ملم	4	1
		2 ملم	5	4
		5 ملم	1	1
		10 ملم	–	2

: الجرثوم الذي يكون ركز البحث

4.1.2 تحديد المجهر

تم إجراء ملاحظة عيانية عن الجرثوم الذي أعطت استجابة حمراء لاختبار المقاومة بتركيزات عالية في الوسط الصلب. كانت الجرثوم الذي تم ملاحظته عبارة عن جرثوم تظهر باللون الأحمر على وسائط تحديد YMEA مع تركيز أعلى يبلغ 10 ملم. استنادا إلى الجدول السابق (الجدول 4.1) ، وجد أن العزلات التي كانت ركز البحث هي الجرثوم مع 3 عزلات من 5 ملم و 10 ملم. هذا لأنه في تحديد شباب عزل الجرثوم على تركيز سيلينيت الوسائط بمقدار 10 ملم، أظهرت 3 عزلات فقط تغيرات في اللون الأحمر عند الملاحظات 3 × 24 ساعة في درجة حرارة الغرفة.

وأجريت المراقبة العيانية للبكتيريا من خلال المراقبة المباشرة لأطباق بتري. تم تقييم الفحص المجهري من لون المستعمر، ولون حافة المستعمرة، وشكل حافة المستعمرة، وسطح المستعمرة. نتيجة الملاحظة المحصولة عليها من الملاحظات العيانية كما في الجدول 4.2. ثم لوحظت البكتيريا التي تمت ملاحظتها باستخدام المجهر باستخدام طلاء الغرام لمعرفة الجرثوم الذي يعد من طائفة جرثوم غرام إيجابي أو الجرثوم بغرام سلبي.

بناءً على نتيجة الملاحظة، وجد أنه في العناصر الثلاثة التي تمت ملاحظتها على وسائط YMEA بتركيز 10 ملم، كان لكل العزلات الثلاث لون أحمر في الجزء الأوسط وكذلك على الحواف. يكون للأسطح المعزولة أ-5-1 والعزل ب-10-1 تشكيل السطح المحدب، بينما في العزل ب-10-2، يتم رفع شكل عزل السطح بشكل مسطح (مرفوع). وفقًا لسوسة وآخرون، (2013)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

، يمكن جعل الاختلافات في مظهر المستعمرات مميزة لتمييز الكائنات الحية الدقيقة على مستوى المجموعات التصنيفية المختلفة، بما في ذلك سلالات من نوع واحد. لكن الأهم من ذلك كله، تعتمد جميع خصائص الكائنات الحية الدقيقة على الظروف أثناء النمو أو أثناء التجدد، وخاصة على تكوين الوسائط النمو ودرجة الحرارة، وكذلك وقت النمو. ومع ذلك، وفقا لفوتحكوف (2016)، موضحا أن ظهور مستعمرة لا يمكن أن يكون المعلمة الوحيدة المستخدمة لتحديد الكائنات الحية الدقيقة.

الجدول 4.2 خصاص عزل جرثوم مقاومة سيلينات في 10 ملم

مستعمرة الجرثوم	مورفولوجي المستعمرة			
	لون المستعمرة	لون الطرف	طرف المستعمرة	سطح المستعمرة
عزل أ-5-1	أحمر	أحمر	جميعا	محدب
عزل ب-10-1	أحمر	أحمر	جميعا	محدب
عزل ب-10-2	أحمر	أحمر	جميعا	مرفوع

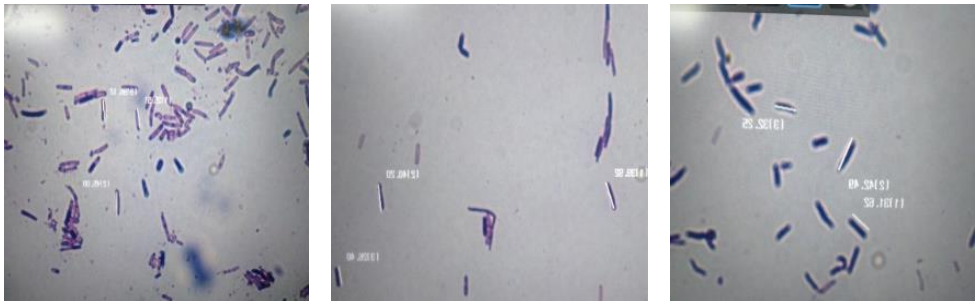
4.1.3 ملاحظة غرام الجرثوم

أجريت ملاحظة غرام على الجرثوم باستخدام أصباغ غرام. يهدف تلوين الغرام في الجرثوم إلى التمييز بين أنواع الجرثومات إيجابية الغرام أو سلبية الغرام والذي يعتمد على بنية جدار الخلية (والويو، 2005). نتيجة مراقبة تلوين غرام الجرثوم عند التكبير 1000 مرة، تبين أن جميع العزلات الثلاث لها خاصية غرام إيجابية مع ظهور ملحوظ للأرجواني عند ملاحظة (جدول 4.3 وصورة 4.1). بالإضافة إلى ذلك، يكون للعزلات الثلاثة شكل المكروب أو الساق بأطوال مختلفة. يوضح دويجوسيبوترو (1994) أنه يمكن ملاحظة الجرثوم ذا التكوينات العصوية أو الجذعية كجذع منفرد أو يمكن أن تقترن بساق آخر. على شكل الجمع، تسمى العصية العصوية وبعض العصيات سوف تشبه الزعنفة المصلية أو تسمى العصيات.

الجدول 4.3 خصائص نتائج طلاء الغرام في الجرثوم

مستعمرة الجرثوم	حجم	شكل الخلية	نوع الغرام
عزل أ-5-1	4،1 ملم	ساق	إيجابي
عزل ب-10-1	3 ملم	ساق	إيجابي
عزل ب-10-2	2،4 ملم	ساق	إيجابي

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



(ج) (ب) (أ)

الصورة **4.1** تلوين غرام في الجرثوم. (أ) عزل ب-10-2؛ (ب) عزل ب-10-1 ؛ (ج) عزل أ-5-1

استنادًا إلى باحثين أجراه جافيد وآخرون (2016)، معروف أن الجرثوم الذي يحتوي على الغرام إيجابي ينتح الحب في ظروف أقل ملاءمة في نموها. أوضح نصرزاداني وآخرون (2011) أن الجرثوم ذا الغرام الإيجابي لديه أعلى مقاومة للمعادن الثقيلة. وذلك بسبب قدرته العالي على امتصاص المعادن وإمساكها الموجودة على سطح جدار خلية الجرثوم. يحتوي جرثوم غرام الإيجابي على جدران خلايا أبسط وغير محددة عند المدخل ووجود مواد خارجية. يمكن أن يسبب التلامس الطويل للجرثوم مع المعادن الثقيلة مزيدًا من المقاومة وهذا هو السبب الرئيسي لمستوى التحمل العالي للجرثوم للمعادن الثقيلة.

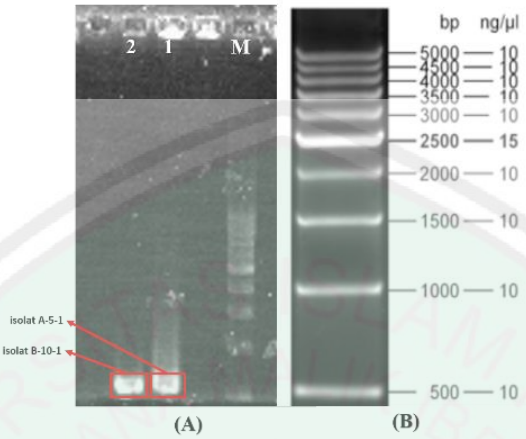
4.1.4 تعريف الجزيئي

يتم تعرف الجزيئي عن طريق عزل الحمض النووي والذي يستمر بعد ذلك مع مرحلة PCR. تم بعد ذلك استخراج الحمض النووي عند عينتان الجرثوم اللتان معتقدتان أنهما مقاومة وتراكمية في هذا البحث وانتقلت إلى مرحلة تشغيل PCR باستخدام Primary 306 forward {5 'CCA GAC TCC TAC GGG AGG CAG C 3'} و Primary {5 'CGA ATT AAA CCA CAT GCT CCA C 3 '} 935 revers. كانت عزل الجرثوم المستخدم الجرثومان أظهرا تغير في اللون عند اختبارهما للمقاومة في وسط سائل بتركيز 10 ملم (الشكل 4.6). تم عزل الجرثوم ب-10-2 وينتج المكب في وسط السائل ولم تظهر تغيرات في اللون الأحمر كما في عزل أ-5-1 و ب-10-1 في وسط السائل. ذلك لأن خليليان وآخرون (2014)، يشير التغير في اللون إلى الأحمر أو الأصفر المحمر إلى عملية خفض مستويات السيلينيوم توكسيك من المعادن الثقيلة إلى السيلينيوم الأولي بواسطة الجرثوم.

بناءً على نتائج تضخيم جزء الحمض النووي في جين 16s RNA، فإنه يعطي نتيجة جيدة في درجة حرارة التعلق الأولية عند 50 درجة مئوية مع ظهور نطاقات الحمض النووي في عينات عزل أ-5-1 وعزل العينات ب-10-1، وعلى الجانب الأيسر كي يظهر عصابات واضحة من علامة على طول 500 بف. كما هو مبين في الشكل 4.2، عصابات الحمض النووي عزل أ-5-

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

1 وعزل ب-10-1 هي في حدود أمبليكون 600-500 بف في العلامة. يتم بعد ذلك تنقية نتائج تضخيم الحمض النووي باستخدام PCR وتسلسلها للحصول على تسلسل قواعد النيوكليوتيدات.



الصورة 4.2 (أ). طويل باسير ماركر الجينات لادير جين ب. (ب) رسم تخطيطي إلكترو للمنتجات PCR على جل الاغاروز 1 ٪؛ م = 500 بف؛ 1 = عزل أ-5-1؛ 2 = عزل ب-10-1. (المستند الشخصي، 2019)؛

وأظهرت رابط نتيجة PCR مرئية بوضوح على جل الاغاروز 1 ٪ أن تركيز الحمض النووي من نتائج العزلة كانت عالية كافية ليتم تصورها على هلام باستخدام جهاز الأشعة فوق البنفسجية (هلام وثيقة). وفقًا للانجدين (2017)، يبدو شريط البلازميد غليظا ويظهر بوضوح أن تركيز البلازميد المعزول مرتفع جدًا.

4.1.5 التحليل الوراثي

أ. تجانس النوع

يتم تعديل نتيجة استمرار الجرثوم باستخدام Blast على صفحة على الإنترنيت NCBI. أظهرت نتيجة التعديل أن لدى عزل أ-5-1 تشابه مع 3 أنواع من الجرثومات، وهي *Bacillus cucumis* سلالة PK15 ، و *Bacillus fumarioli* سلالة PF1 ، و *Bacillus aestuarii* سلالة IAE10 وكلهم لهم نسبة تشابه بلغت 98.83٪. في حين وجد عزل ب-10-1 ثلاثة أنواع مختلفة من الجرثومات، وهي *Klebsiella Oxytoca* سلالة Rizhao 677.2؛ *Klebsiella Oxytoca* سلالة Rizhao 615.1 بدرجة التشابه 89،69%.

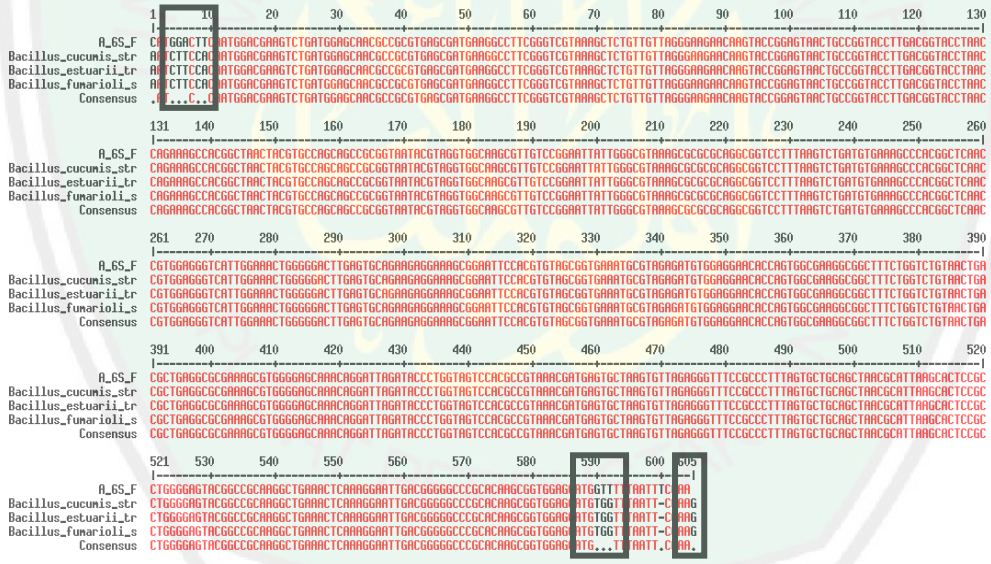
استندت النسبة المئوية التي تم الحصول عليها من عزل أ (98،83٪) إلى تشابه متواليات النيوكليوتيدات في كل نوع مع النيوكليوتيدات في عزل أ-5-1. هذا يعني أن هناك 1.17٪ مما يجعل التماثل في عزل أ يختلف عن الأنواع الثلاثة الأخرى. تم تحليل التتابعات باستخدام موقع Multalin

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

v.5.4.1 عبر الإنترنت (multalin.toulouse.inra.fr/multalin/) وأظهرت النتائج بوجود اختلاف في تسلسل النيوكليوتيدات. يظهر الاختلاف في نهاية كل من تسلسل النيوكليوتيدات (موقف 1، 4، 6، 8، 9، 590، 591، 592، و605) (الصورة 4،3). بينما كان لعزل ب-10-1 فرق 10،31٪ مع الجرثومات الثلاثة التي تنتجها Blast. يبدو أن الاختلاف في النيوكليوتيدات في عزل ب-10-1 هو 41 نقطة فرق منتشرة في نهايات التسلسل وفي منتصف التسلسل (الصورة 4،4).

الجدول 4.4 نتيجة عزل الجرثوم

رقم	عينة الجرثوم المثبت	نوع الجرثوم المتجانس	إجابة NCBI	درجة في المائة من التشابه
.1	عزل أ-5-1 (أ 16س ف)	*Bacillus cucumis* سلالة PK15	مك519225.1	89,83%
		Bacillus fumarioli سلالة PF1	مك909907.1	89,83%
		Bacillus aestuarii سلالة IAE10	مك414790.1	89,83%
.2	عزل ب-10-1 (ب-16س ف)	*Klebsiella oxytoca* سلالة Rizhao 567.2	من249586.1	89.69%
		Klebsiella oxytoca سلالة Rizhao 615.1	من249590.1	89.69%
		Klebsiella oxytoca سلالة Rizhao 614.1	من249589.1	89.69%



صورة 4.3. تقديم نتيجة Blast عزل أ-5-1 باستخدام موقع Multalin v5.4.1

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

صورة 4،4. تقديم نتيجة Blast عزل ب-10-1 باستخدام موقع Multalin v5.4.1

أوضح جونسون، (1984) أنه يقال أن الأنواع هي نفسها عندما يكون التماثل المتماثل للحمض النووي في نوع ما يشبه نسبة التماثل 60-100٪. بينما يقال إن أحد الأنواع يرتبط ارتباطًا وثيقًا بالأنواع الأخرى، يكون عندما له تماثل من الحمض النووي يتراوح من 20 إلى 60٪، وإذا كان لدى تماثل الحمض النووي لأحد الأنواع نسبة متماثلة أقل من 20٪، فإن هذا النوع يعتبر نوعًا مختلفًا. بينما في كواسنا وآخرون (2008) يشرح أن هناك فرقًا 3٪ في نسبة التشابه يُظهر اختلافات على مستوى الأنواع.

تتميز المجموعة الخارجية لنوع الجرثوم مختلف تمامًا بحيث يتم اختيارها من فئة مختلفة من نتائج BLASS عزل أ-5-1 وعزل ب-10-1، وهما *Salmonella enterica* من فئة Gammaproteobacteria. وفقًا لمونت (2008)، سيؤدي تحديد تسلسلات المجموعة الخارجية البعيدة جدًا إلى أن يكون تحليل شجرة التكاثر غير صحيح وغير دقيق بسبب الاختلافات العشوائية والكثير من الاختلافات بين متواليات المجموعة الخارجية وتسلسل المجموعة الداخلية. وفقًا للمزينة (2012)، يتم اختيار المجموعات الخارجية من بين أولئك الذين لديهم صلة قرابة مع المجموعة الداخلية ولكن ليس قريبًا من مجموعة داخلية. هناك حاجة إلى المجموعة الخارجية في تحليل التطور الوراثي لأنه يهدف إلى تحديد الأحرف البدائية (*plesiomorf*) والمشتقات (*apomorf*) لمجموعة داخلية وأيضًا تحديد نقطة الانطلاق لتكوين شجرة التطور الوراثي.

ب. المسافة الوراثية للعزلات البكتيرية

تم تنفيذ المسافة الوراثية من متوالية الجرثوم باستخدام MEGA 6. تم دمج بيانات Fasta من التسلسلات التسعة أولاً باستخدام *BioEdit*، ثم حفظ البيانات بنوع ملف (.mega) Mega. يتم بعد ذلك فتح البيانات في MEGA 6، ثم في

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

قواعد التسلسل في كلا طرفي التسلسل، يتم إجراء التخفيضات إلى الحد الأقصى للطرف الأساسي لتسلسل العينة (عزل أ-5-1 و عزل ب-10-1). تتم عملية المحاذاة باستخدام محاذاة ClustalW المتعددة. وفقًا لتامورا وآخرون (2011) ClustalW هو نظام يستخدم على نطاق واسع في محاذاة متواليات النيوكليوتيدات مع طريقة التقدمية. تتم محاذاة تسلسلات المتماثلات ذات القيمة الأفضل أولاً، متبوعة بالتسلسلات التي تشابهها أكثر حتى يتم الحصول على محاذاة عمومية.

الملفات التي تم حفظها بنوع .mega، ثم افتح وتنفذ النماذج لإيجاد الطريقة الصحيحة في تحديد المسافة الوراثية لعينة أو نوع. بناءً على نتائج النموذج، تم الحصول على 24 نموذجًا يمكن استخدامها في تحليل المسافة الوراثية من التسلسل الجرثومي، وأفضل نموذج باستخدام نموذج (*Hasegawa-Kishino-Yano*) HKY. يُنظر إلى أفضل النماذج المستخدمة في نتيجة BIC (معيار المعلومات النظرية الافتراضية). يفسر ني وكومار (2000) كلما انخفضت درجة BIC في تحليل النموذج، كلما المقترح في إجراء تحليل المسافة الوراثية وشجرة النشوء.

بناءً على التحليل باستخدام تطبيق MEGA6، تم الحصول على نتائج المسافة الوراثية من الجرثوم في الجدول 4.5. وفقًا لدويكو (2018)، تُشير نتيجة الحساب من المسافات الوراثية قيمة العلاقة الوثيقة بين الأنواع. وفقًا لأفرياني (2014) إذا كانت قيمة المسافة الوراثية تقترب من 0، فيمكن تفسير ذلك بأنه لا يوجد تنوع جين كبير. أبلغ تالي وآخرون (2016) أيضًا أنه كلما قلت نتيجة المسافة الجينية بين الكائنات الحية، كانت القرابة بين هذه الأنواع أقرب.

بناءً على تحليل المسافة الوراثية باستخدام طريقة *Tamura 3-Parameter* ، فإن المسافة بين عزل أ-5-1 وعزل ب-10-1 له قرب جين قدره 0،287 (انظر الجدول 4.5). تسلسل عزل أ-5-1 له المسافة نفسها مثل ثلاثة أنواع أخرى لها تشابه 98،83٪ عند تحليلها باستخدام موقع NCBI على الإنترنت والذي يقع ضمن 0،0099. بالنسبة لعزل ب-10-1، لها مسافة وراثية مع جرثوم *Bacillus estuarii* سلالة IAE10، و *Bacillus cucumis* سلالة PK15، و *Bacillus fumarioli* سلالة PF1 ذات القرب الوراثي من 0،1173. بالنسبة للأنواع المنتجة من blast التسلسل أ-5-1 (جنس Bacillus) يكون لها مسافة وراثية تبلغ 0،2674 مع الأنواع المنتجة من blast تسلسل ب-10-1 (جنس Klebsiella). الأنواع الخارجية المستخدمة هي جرثوم *Salmonella enterica* سلالة SC681 لأن له خصية غرام مختلفة عن عزلين الملحوظان. المسافة الجينية من سلالة أ-5-1 مع الأنواع الخارجية هي 1،1041 والمسافة الوراثية للسلالة ب-10-1 هي 1،1382.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

الجدول 4.5 مسافة الوراث بين العزلات

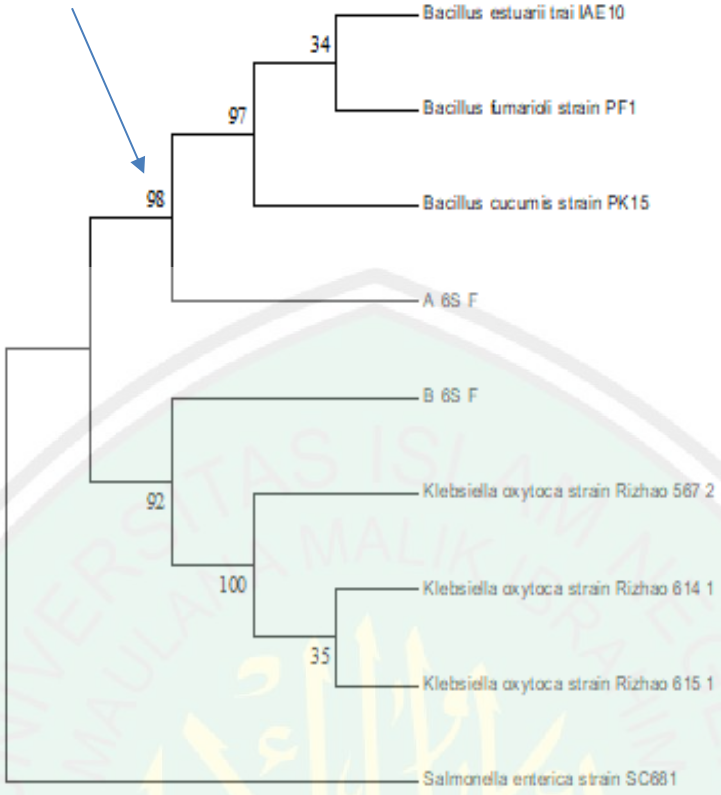
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. A_6S_F									
2. B_6S_F	0.2879								
3. Bacillus_cucumis_strain_PK15	0.0099	0.2808							
4. Bacillus_estuarii_trai_IAE10	0.0099	0.2808	0.0000						
5. Bacillus_fumarioli_strain_PF1	0.0099	0.2808	0.0000	0.0000					
6. Klebsiella_oxytoca_strain_Rizhao_567_2	0.2780	0.1173	0.2674	0.2674	0.2674				
7. Klebsiella_oxytoca_strain_Rizhao_615_1	0.2780	0.1173	0.2674	0.2674	0.2674	0.0000			
8. Klebsiella_oxytoca_strain_Rizhao_614_1	0.2780	0.1173	0.2674	0.2674	0.2674	0.0000	0.0000		
9. Salmonella_enterica_strain_SC681	1.1041	1.1382	1.1041	1.1041	1.1041	1.0784	1.0784	1.0784	

كيمورا (1980) يقول أن قياس المسافة الوراثية لمقارنة تسلسل الحمض النووي لأحد النوكليوتيدات مع نيوكليوتيد آخر باستخدام نموذج استبدال النوكليوتيدات. وفقًا لحمييرة (2015)، سيكون قياس المسافة الوراثية قريبًا نسبيًا إذا لم يكن هناك فرق كمي كبير في الحجم عند عبورها لأن طبيعة التنوع هي نفسها. في حين ستكون المسافة الوراثية بعيدة نسبياً إذا كانت هناك اختلافات كمية كبيرة في عدد الأرقام بسبب الطبيعة المختلفة للتنوع عند عبورها.

ج. شجرة التكاثر

أظهرت نتائج شجرة التكاثر التي تم الحصول عليها أن عزل أ-5-1 (أ-16س ف) له علاقة وثيقة مع الجرثوم مع جنس Bacillus وعزل ب-10-1 (ب-16س ف) كان له صلة قرابة مع جنس Klebsiella (الصورة 4.5). وذلك لأن كل من جرثوم عزل أ-5-1 أو جرثوم عزل ب-10-1 في نفس الغطاء مع قيمة التمهيد من 92 ل أ و 98 ل ب. بينما نوع *Salmonella enterica* التي يتم تجميعها من هذه عينة الجرثوم تشكل فرعا جديدا مما يدل على الأنواع البدائية في شجرة التكاثر. يشار إلى قيمة التعزيز بواسطة عدد يقع في فروع شجرة التكاثر (السهم)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



صورة **4.5** شجرة التكاثر MEGA 6

يمكن قبول شجرة التكاثر في تحليل النظام الحيوي عندما تكون أحادية اللون، ثنائية التفرع، لا سياسية، لها قيم تمهيد عالية وتتشكل الحيوانات المستنسخة بشكل ثابت وقوي. المجموعات الأحادية اللون لها سلف واحد فقط وكل ذريتهم تنشأ من ذلك الجد. يؤدي هذا إلى اعتبار أعضاء المجموعة الأحادية على علاقة وثيقة جدًا ويُفترض أنهم يحملون الصفات الوراثية أو نمطها والكيميائية الحيوية نفسها (هداية وبانكورورو، 2008 ؛ راهايو ونوجروهو، 2015).

شجرة التكاثر هي رسم بياني المستخدم لتوضيح القرابة بين الأصناف التي تتكون من عدد من العقد والفروع مع فرع واحد فقط يربط بين العقدتين الأكثر قربًا. وتسمى أنماط المتفرعة التي تشكلت من شجرة التكاثر (لي وغرور، 1991). لا يمكن فصل التحليل الوراثي عن التطور البيولوجي الذي يدرس الاختلافات والفروق الوراثية بين السكان، في حين يمكن حساب المسافات الوراثية على أساس الاختلافات في اللغة متعددة الأشكال لموضع الجينات لكل تسلسل الحمض النووي (تجافالي-سفورزا، 1997).

يتم فتح الملفات من تسلسل التسعة المحررة في *BioEdit* مع MEGA6. ثم قم بتحليل بيانات التكاثر باستخدام قائمة *Phylogenetic Analysis* واختر *Construct / Test Maximum likelihood Tree*. أوضح يانغ ورانالا (2012) أن طريقة *Maximum Likelihood* هي طريقة إحصائية لها قاعدة أحرف من خلال مقارنة جميع التسلسلات في

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

المحاذاة في حساب قيمة الاحتمال لكل شجرة. تراعي هذه الطريقة جميع التغييرات / الطفرات الممكنة في التسلسل لكل شجرة. أضاف دارمايانتي (2011) أن في طريقة *Maximum Likelihood (ML)* تم تنفيذه في شكل طريقة تمهيد تم فيها أخذ تكرار العينات متكرر من التسلسلات لمعرفة مدى صحة ترتيب شجرة التكاثر، مع تكرار كامل قدره 500 مرة من أجل تقصير وقت البناء. بينما في هذا البحث تم استخدام التمهيد بعدد تكرار 1000 مرة.

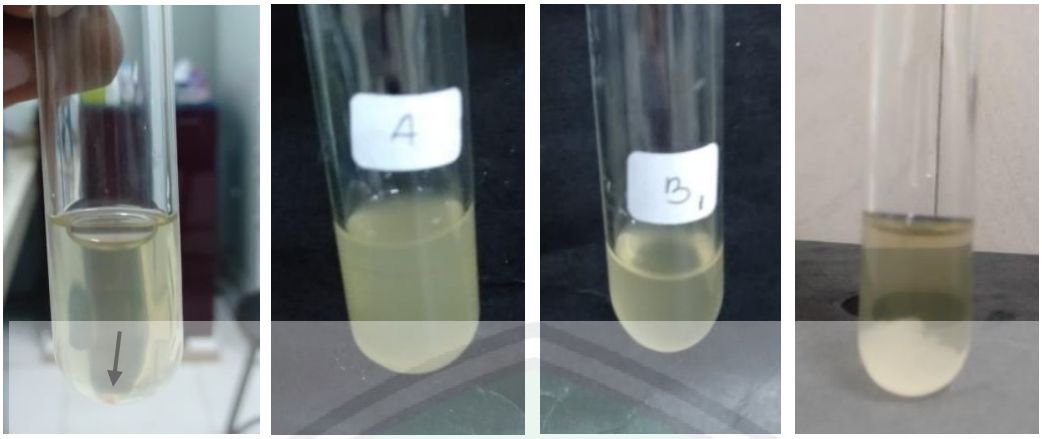
4.2. خصائص نمو جرثوم المقاومة للسيلينات المكتشفة في رواسب المنغروف في شاطئ بانيوغلوغر، سيتوبوندو في وسيط الذي يحتوي على سيلينات

4.2.1 اختبار قدرة المقاومة للجرثوم

قياس العزلات التي تزرع في الوسط السائل من أجل الامتصاصية باستخدام مقياس الطيف الضوئي بطول موجة يبلغ 600 نانومتر لتحديد منحنى نمو عزلات الجرثوم. بجانب ذلك، وفقًا لخليليان وآخرون (2015)، أجري الاختبار على وسط السائل لضمان عدم حدوث تلون أحمر حدث في وسط الصلب بسبب تصبغ في مستعمرات عزلات الجرثوم. تم استزراع عزلات الجرثوم الثلاث في وسط سائل بتركيز 10 ملم ثم نمت خلال 1×24 ساعة. وفقًا لمسعود (2013)، فإن الغرض من تحديد الجرثوم هو الحصول على مخلوق جديد وشباب، بحيث يمكن أن تتكاثر بشكل جيد ويمكن استخدامها وفقًا لوظائفها. وقد أوضح ذلك أيضًا من قِبل دويدجوسيبوترو (1994) أن حضانة الجرثوم نُفِّذت لمدة 24 ساعة لأنه في ذلك الوقت ربما كان الجرثوم في دور المدونة *log-phase*. في هذا الدور، يقوم الجرثوم بتقسيم مستمر ويزيد عدد الخلايا. وفقًا لفلتجظار وتجان (2008)، فإن (24) ساعة هي وقت الحصاد، حيث يكون الوقت في الدور اللوغاريتمية أو الأسية حيث يبلغ أكبر عدد من الخلايا 10 إلى 15 مليار خلية جرثوم لكل ملليلتر.

يمكن رؤية نتيجة عزل الجرثوم المتنامية على وسائط الثقافة لمدة 24 ساعة في صورة 4.6. من هذه النتيجة تم الحصول على عزل أ-5-1 وعزل ب-10-1 الذي تم تحديده في الوسط الثقافي أظهر تغير لون أكثر تعكرًا مقارنة بعزل ب-10-2 الذي أظهر وجود كتلة في أسفل الوسائط السائلة.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

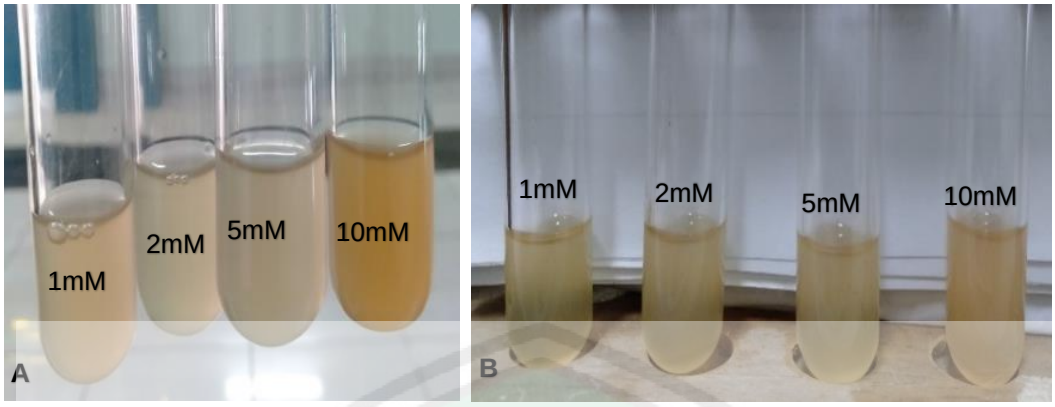


(أ) (ب) (ج) (د)

الصورة 4.6 وسيلة YM السائل (أ) وسيلة 0 ساعة (**ب**) عزل أ-5-1 24ساعة ؛ (**ج**) عزل ب-10-1 24 ساعة ؛ (**د**) عزل ب-10-2 24 ساعة

تم اختيار عزل أ-5-1 وعزل ب-10-1 لأنهما أنتجت جرثوم نما مع تغيرات في لون الوسائط السائلة. تم بعد ذلك تلقيح العزلين في وسط سائل بتركيزات مختلفة من 1 ملم و 2 ملم و 5 ملم و 10 ملم. النتائج التي تم الحصول عليها في الوسائط تتغير إلى اللون الأحمر مما يشير إلى تفاعل الجرثوم على الوسائط التي تحتوي على سيلينات. يوضح صورة 4.7 وصورة 4.8 تغير اللون الأحمر في جميع التركيزات. صورة 4.7 هي حالة من أول ساعتين بعد إعطاء 30 ميكروليت من الجرثوم من وسط الثقافة. تبدو الوسائط الموجودة في عزل أ-5-1 بتركيز 10 ملم بلون أغمق من التركيزات الأخرى. بينما في نفس التركيز ب-10-1 لم تظهر الوسائط المعزولة تغيرًا في اللون كان مختلفًا بشكل كبير عن التركيزات الأخرى. بناءً على هذه النتائج، تشير إلى أن عزل أ-5-1 لديها استجابة لتراكم السيلينات المعدنية بسرعة كبيرة مقارنة بعزل ب-10-1 في أول ساعتين بعد إعطاء من وسط ثفافة الجرثوم. ولكن في ملاحظة البعد، لون الوسط بعزل ب-10-1 يشير إلى لون أكثر الأحمر. وهذا يشير إلى وجود اختلاف وقت تراكم الجرثوم إلى معدن سيلينات في لوسط. وسط ملون الأحمر بزيادة وقت النمو في وسط النمو. في صورة 4.8 يقع تغيير لون الوسط إلى الأحمر. خليليان وآخرون (2014) يشرح تغيير اللون إلى الأحمر أو الأصفر المحمر يشير إلى وقوع عملية انخفاض قدر معدن ثقيل سيلينيوم توكسيك إلى سيلينيوم إيليمينتال من خلال الجرثوم.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



صورة 4.7 نتيجة تغيير اللون في وسط ساعتان بعد إعطاء جرثم الثقافة

صورة 4.8 نتيجة تغيير اللون في وسط خلال 26 ساعة

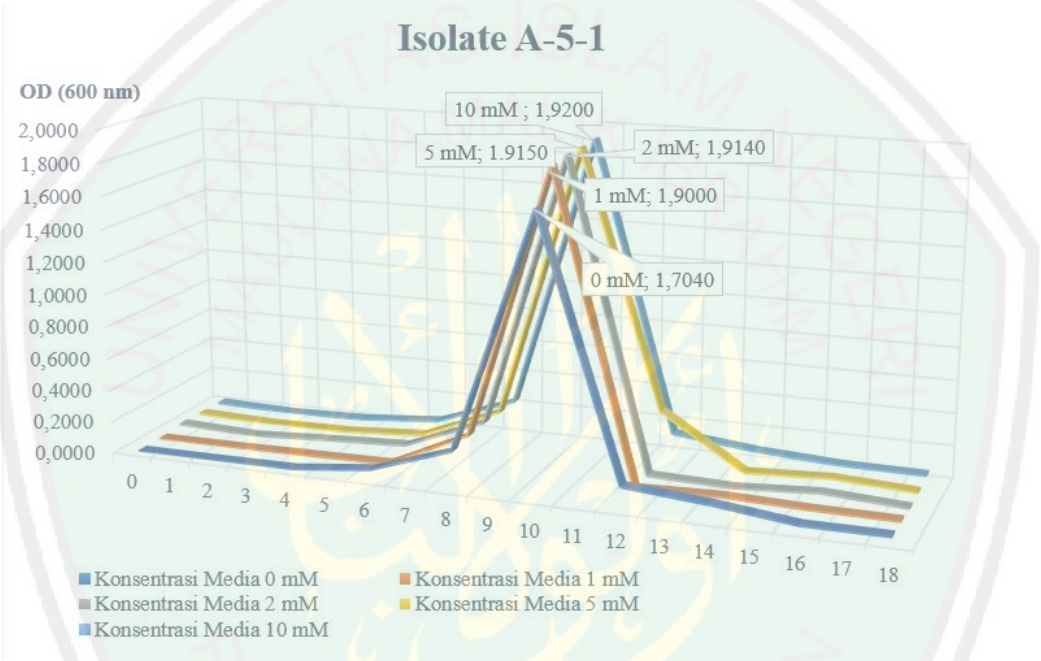
4.2.2 منحنى نمو الجرثوم

يتم إجراء منحنى نمو الجرثوم لتحديد الوقت الأمثل الذي يمكن أن ينمو به الجرثوم بطريقة متزايدة. وفقًا لفوروكو (2007)، فإن نمو الجرثوم في وسائط النمو له دور تشير إلى نشاطه على الوسائط المتنامية. تشمل هذه الدور دور التكيف (دور التأخر)، دور الضرب أو التعزيز (دور السجل أو دور الأسية)، دور الساكنة (دور الثابتة) وأخيرا دور الموت. أجريت مراقبة منحنى نمو الجرثوم على وسائط YMEB لمدة 26 ساعة بفواصل زمنية مدتها ساعتان للحصول على انخفاض في OD من العينة. في هذه الملاحظة، تم استخدام الطول الموجي 600 نانومتر والوسيط المعياري المستخدم هو وسائط YMEB بتركيزات مختلفة. وضعت عينات الجرثوم المأخوذة ما يصل إلى 50 ميكرولتر في *cuvettes* وأضيفت 650 ميكرولتر وسيلة القياسية. كان عزل الجرثوم المقاسة لمنحنيات النمو عبارة عن عزلي الجرثوم تم ملاحظتهما من أجل المقاومة على الوسائط السائلة التي تظهر تغير لون عكر (انظر صورة 4.6). يمكن رؤية نتيجة منحنى النمو لعزل أ-5-1 وعزل B-10-1 في صورتي 4.9 و 4.10.

بناء على منحنى النمو من عزل أ-5-1 (صورة 4.9)، أنتج دور الأسية أو دور الترقية ابتداء في العيار الخامس (8 ساعة) والعيار السادس (10 ساعة) بإشارة ترقية رقم القبضة حتى نقطة الأقصى. أما منحنى عزل ب-10-1 (صورة 4.10)، ترقية النمو

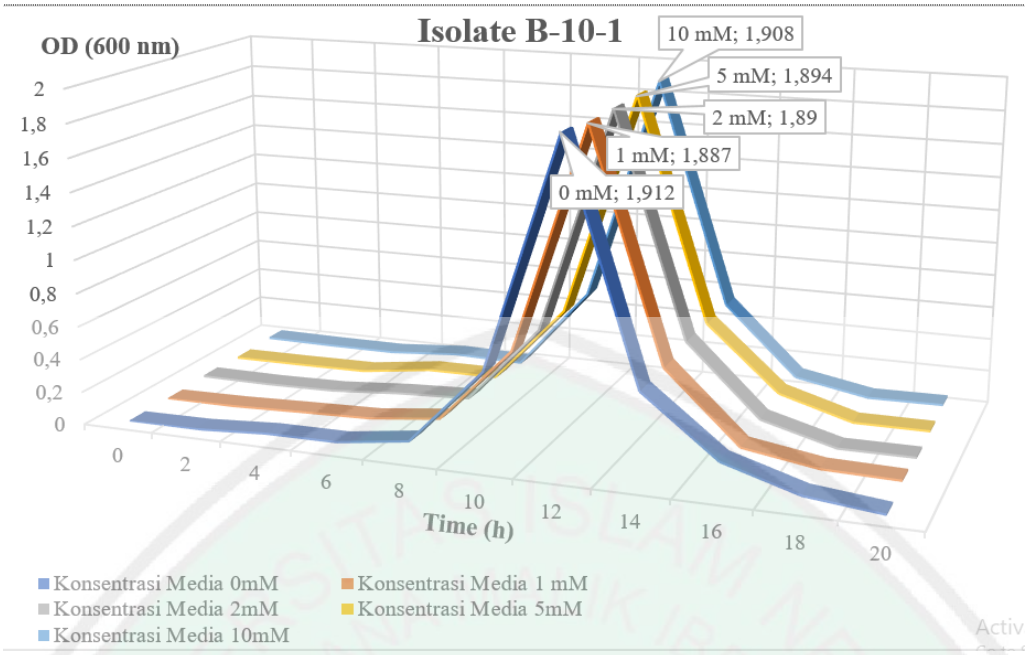
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

في العيار السادس (10 ساعة) حتى العيار السابع (12 ساعة). في هذا البحث، محصول على قمة ترقية عدد خلية عزل أ-5-1 في تركيز مختلف بوقت 8-10 ساعة بعد إعطاء جرثوم الثقافة. هذا يقع أيضا بوسط عزل ب-10-1 المشير إلى ترقية عدد خلية الجرثوم في وقت مطابق في 10-12 ساعة بعد إعطاء جرثوم الثقافة. في عزلين، وجود إعطاء سيلينات في وسط سائل يسبب ترقية عدد خلية الجرثوم مع وجود ترقية التركيز. الوسط بتركيز أعلى لديه قيمة القبضة أعلى من وسط بتركيز أدنى. هذا بسبب وجود تزييد تركيز معدن سيلينات يسبب ترقية نمو عدد خلية الجرثوم في الوسط. بجانب ذلك، من الممكن أن يكون الجرثوم المعزول فيه معدن سيلينات (Se VI) مباشر في البيئة.



صورة 4.7 منحنى نمو جرثوم عزل أ-5-1

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



صورة 4.8 منحنى نمو جرثوم عزل B-10-1

اعتمادا على البحث الذي يقيمه هندارشاه وآخرون (2014) إلى Azotobacter محصول على أن نمو الجرثوم يرقي مع ترقية قدر ... نترات في الثقافة حيث يكون مقاومة الكائنات الحية الدقيقة يعطي تأثيرا إيجابيا إلى نمو الجرثوم. بجانب ذلك، عند هندارشاه وآخرون (2009) تزييد معدن ثقيل في وسط الثقافة يمكن إعطاء تأثير إيجابي إلى نمو الجرثوم. البحث يقيمه زينك (2007) يشير إلى أن معدنا ثقيلا في تركيز دنيئ لديه تأثير التنبيه في الكتلة الحيوية كاربون مكروب الأرض. بجانب ذلك، وفقا لوشكوسكا ووشكوسكي (2002)، ترقية عدد الكائنات الحية الدقيقة معين في تلوث معدن ثقيل في عدد نسبي الدنيئ بسبب وجود طعام الجاهز من تحقير خلايا الجرثوم غير سميح إلى معدن ثقيل.

الدور الأول من كلي الجرثومين غير محصول عليهما تزييد المجموعة. وفقا لفلتجزار (2008)، في الدور الأول من الجرثوم لايجد تزييد المجموعة ولكن يجد تغيير تركيب الكمياء، وتزييد مقدار الخلية, ويجد تزييد المحفوظ من داخل الخلية. فوروكو (2017) يقول أن عملية تكيف في الجرثوم إلى الوسط يتضمن على عملية تركيب أنزيمة جديدة الملائق بالوسط المعطاة وتماثل عنصر المستقلب بصفة سام مثل الكحول، وتعكر، وفلز قلوي في وسط الأصل (وسط قديم). سيقوم الجرثوم بتقسيم الخلية في الوسط بعد أن تكون البيئة الأمثل في نموه. هذه المرحلة ستدخل في دور الترقية.

دور الترقية يقع في جميع تركيزات وسط التجربة في وقت واحد. هذا يحدث لأن الجرثوم الذي تم التعليق إلى وسط التجربة من جرثوم الذي يجيئ من وسط نمو الثقافة الواحد، وهو جرثوم الثقافة في وسط YMEB بعمر 24 ساعة في تركيز وسط سائل 10 ملم سيلينات. ذلك الحال يمكن سبب تغيير دور ترقيته يكاد أن يقع في وقت واحد. في هذا الدور، يرقي الجرثوم عدد الخلية بإشارة

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

قيمة OD في طول موج 600 ملم. المحصول في عزل أ-5-1، عيار خامس (8 ساعة) على 0،246 في 1 ملم؛ 0،25 في 2 ملم؛ 0،24 في 5 ملم؛ و0،234 في 10 ملم. أما في عيار سادس (10 ساعة) محصول على قمة دور الأسية ب1،900 في 1 ملم؛ 1،914 في 2 ملم؛ 1،915 في 5 ملم؛ و1،920 في 20 ملم.

ترقية النمو أيضا في عزل ب-10-1 بترقية قيمة OD في ملاحظة سادسة (10 ساعة) وسابعة (12 ساعة). في ملاحظة 10 ساعة، محصول على قيمة OD 0،540 في 1 ملم؛ 0،539 في 2 ملم؛ 0،538 في 5 ملم؛ 0،530 في 10 ملم. أما في عيار سابع (12 ساعة) محصول على قمة دور الأسية ب1،887 في 1 ملم؛ 1،890 في 2 ملم؛ 1،894 في 5 ملم، و1،908 في 10 ملم. فلتجوار (2008) يشرح أن في هذا الدور يأكل الجرثوم الطعام في الوسط. بجانب ذلك، سيقوم الجرثوم بعملية جسدية حيث يقع ترقية عدد حتى إشارة حد معين بإشارة انخفاض قيمة OD.

قيمة أقصى OD مسمى بدور ساكنة لأن في هذا الدور وقوف تقسيم خلية الجرثوم حيث تكون قيمة القبضة لاتزيد. دويجوسيبوترو (1994) يشرح أن وقوع حال الساكنة حين وجود زحام إنتاج سام المحصول عليه من تراكم مستقلب سام ولايكون الطعام لحرص الحياة. بجاني ذلك، ليس هناك قدر أكسجين الكافي في وسط نمو الجرثوم.

يكون انخفاض قيمة OD أول دور الموت. فلتجوار (2008) يشرح أن هذا الدور الجرثوم يموت بسرعة بمقارنة إلى تشكيل الخلية الجديدة. فوروكو (2007) يشرح أن وجود موت خلية الجرثوم بسبب انخفاض الطاقة في الخلية ويقع انحلال ذاتي عند الخلية. استطاعة الجرثوم لحرص الحياة في حال الاستلاء مختلف ولعلاج ذلك الحال إعادة عزل الجرثوم إلى الوسط الجديد.

4.3 محادثة نتيجة البحث بالإسلام

ارتباط بحث نتيجة هذا البحث في رؤية الإسلام، وقوع فساد مثل تلوث حول منشط الكهرباء بطاقة الدخن فيطان بسبب أيد الناس، أحدها تعدين فحم في وسط البحر ونشاط رحلة الفحم الذي يسبب حمل بقية معادن ثقيلة وتراكم في المياه وراسب الشاطئ. يشرح القرآن في سورة الروم آية 41. في هذه الآية، الناس مخلوق الله عليهم المسؤولون على جميع التأثيرات مما قد فعلوا في الأرض. نهى الله إفساد الحياة. قال الله تعالى في سورة الأعراف آية 56:

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

Artinya: "Dan janganlah kamu membuat kerusakan di muka bumi, sesudah (Allah) memperbaikinya dan berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut (tidak

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

akan diterima) dan harapan (akan dikabulkan). Sesungguhnya rahmat Allah amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik."

يفسر تفسير ابن كثير أن الله ينهى الناس إفسادا في الأرض. في هذا البحث، الأنشطة التي تعد إلى أنشطة "يسبب الفسد" تعدين دون ترشيح المعادن باقية التعدين التي تسبب تحمل المعادن المفسدة إلى البيئة ومخلوق البحر.

كل شي قد سار حسب الخلود. وإذا أفسده شخص سيضر الناس وجميع مخلوقات الله مثل الكائنات الحية الدقيقة. حيث أن الله يأمر الناس بعبادته ودعاء إليه والتضرع وسائل رحمته. هذا مشروح في آخر آيته "وادعوه خوفا وطمعا"

الارتباط بوجود الجرثوم الذي ينمو في حالة ملوث ومتماثل البية الملوثة، في هذا البحث محصول على عزلين الجرثومين وهما عزل أ-5-1 وب-10-1 لديهما استطاعة المقاومة في حالة البية الملوثة بسيلينات. بجانب ذلك، العزل المحصول عليه له استطاعة انخفاض تلوث معدن ثقيل سيلينات (Se VI) إلى سيلينيوم (Se 0) في رواسب منغروف. في هذا الحال، دور الناس كخليفة مهم جدا. الخليفة دور الناس الذي قد ثبت الله ليس مالكا في الأرض بل معتمر الأرض. معنى الخليفة أن يخلف شخص الذي يجيئ من قبل لإقامة إرادة الله (شهاب، 2011). واجب على الخليفة تعديل ما في الأرض كيلا يكون فسادا الذي يسبب غير تعديل مورد طبيعي.

قال الله تعالي في القرآن سورة البقرة آية 30:

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلَائِكَةِ إِنِّي جَاعِلٌ فِي الْأَرْضِ خَلِيفَةً ۖ قَالُوا أَتَجْعَلُ فِيهَا مَنْ يُفْسِدُ فِيهَا وَيَسْفِكُ الدِّمَاءَ وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ ۖ قَالَ إِنِّي أَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُونَ

Artinya: "Ingatlah ketika Tuhanmu berfirman kepada para malaikat, "Sesungguhnya Aku hendak menjadikan seorang khalifah di muka bumi."' Mereka berkata, "Mengapa Engkau hendak menjadikan (khalifah) di bumi itu orang yang akan membuat kerusakan padanya dan menumpahkan darah, padahal kami senantiasa bertasbih dengan memuji Engkau dan menyucikan Engkau!" Tuhan berfirman, "Sesungguhnya Aku mengetahui apa yang tidak kalian ketahui."

خلق الإنسان خليفة في الأرض ليس لأجل إفساد وسفك الدماء بل لبناء الحياة الآمنة، والغني، ومملوء بالعدالة. وفقا لرضوان (2005)، فاسد البيئة من الكفر البيئة. هذا بسبب وجود الأرض وما فيها من بين آيات الله سبحانه وتعالى. إفساد البيئة هو الكفر بعظمة الله سحبانه وتعالى. كما قال الله في القرآن سورة صاد آية 27:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَاطِلًا ذَٰلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ كَفَرُوا مِنَ النَّارِ

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Artinya: "Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada antara keduanya tanpa hikmah. Yang demikian itu adalah anggapan orang-orang kafir, maka celakalah orang-orang kafir itu karena mereka akan masuk neraka."

هذه الآية تشرحنا أن فهم العالم عبثا من رؤية الكافرين، لاسيما إلى من قد فسد. اكتشاف عزل الجرثوم (عزل أ-5-1 وب-10-1) لديهما المقاومة وتراكم معدن ثقيل سيلينات في شاطئ بانيوغلوغور من بينة أن ما قد خلق الله مهما كان صغير لديه الفائدة الكبيرة. عزل الجرثوم المحصول عليه استفاده من جهة سكان حول الشاطئ أو مصنع التعدين لمنع فساد العالم وهو تلوث الشاطئ، لاسيما في معدن سيلينات. استفاد الجرثوم استفاد المعالجة البيولوجية. تنفيذ المعالجة البيولوجية من خلال خمسة المنهج، هم: المفاعلات الحيوية، وعلاج دور الصلبة، والسماد، وزراعة الأرض، وعلاج *in situ*.

يستطيع الإنسان يفعلون الأشياء الكثيرة في حماية العالم بالحياة اليومية. في البحث البسيط، الموقف أو كيفية الإنسان كخليفة في حماية العالم في شتى مجالات العلوم، منها في مجال علم الاجتماعي، والطبيعي، والقضية. يحتوي مجال علم الاجتماع على أنشطة الإنسان مثل حبل من الناس وحبل من العالم. بمعنى أنشطة الإنسان التي فيها أنشطة الاجتماع في حماية حبله من العالم. على سبيل المثال أن يكون ناشطا بيئيا أو فعل أنشطات الاجتماع لديها التأثير في أحسن البيئة. مجال القضية بحضور نظام إدارة مورد طبيعي كي يمنع فسادا في العالم. وأما في مجال علم طبيعي، تركز أنشطة الإنسان في حماية العالم في كيفية الإنسان يبحثون في الأحداث من آيات الله ورمزها في البحث لاكتشاف الحكمة من آيات عظمة الله في العالم، منها البحث في البحث عن مورد بديل في سعي منع درجة تلوث معدن ثقيل وانخفاضها إلى البيئة.

قال الله في سورة المائدة آية 32:

مِنْ أَجْلِ ذَلِكَ كَتَبْنَا عَلَى بَنِي إِسْرَائِيلَ أَنَّهُ مَنْ قَتَلَ نَفْسًا بِغَيْرِ نَفْسٍ أَوْ فَسَادٍ فِي الأَرْضِ فَكَأَنَّمَا قَتَلَ النَّاسَ جَمِيعًا وَمَنْ أَحْيَاهَا فَكَأَنَّمَا أَحْيَا النَّاسَ جَمِيعًا وَلَقَدْ جَاءَتْهُمْ رُسُلُنَا بِالْبَيِّنَاتِ ثُمَّ إِنَّ كَثِيرًا مِنْهُمْ بَعْدَ ذَلِكَ فِي الأَرْضِ لَمُسْرِفُونَ

Artinya: "Oleh karena itu Kami tetapkan (suatu hukum) bagi Bani Israel, bahwa: barang siapa yang membunuh seorang manusia, bukan karena orang itu (membunuh) orang lain, atau bukan karena membuat kerusakan di muka bumi, maka seakan-akan dia telah membunuh manusia seluruhnya. Dan barang siapa yang memelihara kehidupan seorang manusia, maka seolah-olah dia telah memelihara kehidupan manusia semuanya. Dan sesungguhnya telah datang kepada mereka rasul-rasul Kami dengan (membawa) keterangan-keterangan yang jelas, kemudian banyak di antara mereka sesudah itu sungguh-sungguh melampaui batas dalam berbuat kerusakan di muka bumi."

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

فمن الرجاء بفعل حماية البيئة في شتى مجالات العلوم، سيرفع الإنسان إيمانهم إلى خالق العالم. بجانب ذلك، بحضور فعل حماية العالم، من الرجاء استطاعة الإنسان إصلاح النفس كيلا يفعلوا الأشياء المخالفة والمنهى من جهة الدين في الارتباط بإدارة العالم وما فيها واستفادتها.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

الفصل الخامس
الإختتام

5.1 الخلاصة

بناء على حاصل البحث الذي يفعل، ينال الإستنتاج :

1. الحاصل من عزل الجرثوم الصامد السيلينيد على الثفل المنغروف ساطئ بانيو غلوغور مدينة سيتوباند، ينال العزلين الصامدين، هما العزل أ-5-1 و ب-10-1 الذي يدل بالجالية الحمرة. ينال حاصل الإختبار الجزيئي عزلا أ-5-1 يملك النسبة المئوية المشبهة 98،83% بالنوع (*Bacillus cucumis*) سلالة (PK15)، (*Bacillus fumarioli* strain PF1)، و(*Bacillus aestuarii*) سلالة (IAE10). العزل ب-10-1 يملك النسبة المئوية المشبهة 89،86% بالنوع (*Klebsiella oxytoca*) سلالة (Rizhao) :567.2 (*Klebsiella oxytoca*) سلالة (Rizhao) :615.1 و(*Klebsiella oxytoca*) سلالة (Rizhao) 615.1 .
2. خصائص العزل الجرثوم أ-5-1 والعزل ب-10-1 تدل على تغيير اللون في البواسط المائع على كثير الإكتراث. إرتفاع نشأة العزل الجرثوم أ-5-1 ساعتين أسرع من العزل الجرثوم ب-10-1.

5.2 الاقتراحات

النصح للبحث التالي، أحسن ليفعل الإختبار التراكم للمعدن السيلينيد على الثفل المنغروف ويفعل المقارنة لقدرة الزراعة المنغروف زراعة ريميدياتورة.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

قائمةالمصادر والمراجع

Al-Albani, M.S. (2006). *Shahih Sunan Tirmidzi* (Seleksi Hadits Shahih Dari Kitab Sunan Tirmidzi Buku: 2). Jakarta: Pustaka Azzam.

Alongi, D. M. (2002). Present state and future of the world's mangrove forests. *Environmental conservation*, *29*(3), 331-349.

Amalia, W. (2017). *Bioakumulasi selenium oleh bakteri resisten selenium yang diisolasi dari Pantai Utara Desa Campurejo Kecamatan Panceng Gresik* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).

Andren, A. W., Klein, D. H., & Talmi, Y. (1975). Selenium in coal-fired steam plant emissions. *Environmental Science & Technology*, *9*(9), 856-858.

Avendaño, R., Chaves, N., Fuentes, P., Sánchez, E., Jiménez, J. I., & Chavarría, M. (2016). Production of selenium nanoparticles in Pseudomonas putida KT2440. *Scientific reports*, *6*, 37155.

Bailey, R. L., Gahche, J. J., Lentino, C. V., Dwyer, J. T., Engel, J. S., Thomas, P. R., ... & Picciano, M. F. (2010). Dietary supplement use in the United States, 2003–2006. *The Journal of nutrition*, *141*(2), 261-266.

Baird, R. B., Pourian, S., & Gabrielian, S. M. (1972). Determination of trace amounts of selenium in wastewaters by carbon rod atomization. *Analytical chemistry*, *44*(11), 1887-1889.

Bandaranayake, W. M. (1998). Traditional and medicinal uses of mangroves. *Mangroves and salt marshes*, *2*(3), 133-148.

Barceloux, D. G., & Barceloux, D. (1999). Selenium. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, *37*(2), 265-278.

Budiyanto, F. (2014). Distribution of Metals in Cisanggarung Estuary Sediment, West Java, Indonesia. *Marine Research in Indonesia*, *39*(1), 23-30.

Combs Jr, G. F., & Gray, W. P. (1998). Chemopreventive agents: selenium. *Pharmacology & therapeutics*, *79*(3), 179-192.

Cutter, G. A. (1989). The estuarine behaviour of selenium in San Francisco Bay. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *28*(1), 13-34.

Debieux, C. M., Dridge, E. J., Mueller, C. M., Splatt, P., Paszkiewicz, K., Knight, I., ... & Richardson, D. J. (2011). A bacterial process for selenium nanosphere assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*(33), 13480-13485.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Devi, P., Jain, R., Thakur, A., Kumar, M., Labhsetwar, N. K., Nayak, M., & Kumar, P. (2017). A systematic review and meta-analysis of voltammetric and optical techniques for inorganic selenium determination in water. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *95*, 69-85.

Dias, A. C., Andreote, F. D., Rigonato, J., Fiore, M. F., Melo, I. S., & Araújo, W. L. (2010). The bacterial diversity in a Brazilian non-disturbed mangrove sediment. *Antonie Van Leeuwenhoek*, *98*(4), 541-551.

Dilaga, S. H. (1992). Nutrisi Mineral pada Ternak-Kajian Khusus Unsur Selenium. *Akademia Presindo. Jakarta*.

Doran, J. W. (1982). Microorganisms and the biological cycling of selenium. In *Advances in microbial ecology* (pp. 1-32). Springer, Boston, MA.

Dreher, G. B., & Finkelman, R. B. (1992). Selenium mobilization in a surface coal mine, Powder River Basin, Wyoming, USA. *Environmental Geology and Water Sciences*, *19*(3), 155-167.

Dridge, E. J., Watts, C. A., Jepson, B. J., Line, K., Santini, J. M., Richardson, D. J., & Butler, C. S. (2007). Investigation of the redox centres of periplasmic selenate reductase from Thauera selenatis by EPR spectroscopy. *Biochemical Journal*, *408*(1), 19-28.

Dumont, E. (2006). *Hyphenated techniques for speciation of Se in biological matrices* (Doctoral dissertation, Ghent University).

Dwijoseputro. 1994. *Dasar – Dasar Mikrobiologi.* Djembata: Jakarta.

Ekawati, Evy Ratnasari, Ni'matuzahroh, Tini Surtiningsih, dan Agus Supriyanto. 2012. Eksplorasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik pada Limbah Daduk Tebu (*Saccharum officinarum* L). *Berk Penel Hayati.* Vol. 18: 31–34.

EPA. 1979. Water-related Environmental Fate of 129 Priority Pollutants. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water Planning and Standards. EPA 440/4-29-029.

Eswyah, A. S. (2018). *Bioremediation of selenium species in solution by methanotrophic bacteria* (Doctoral dissertation, Sheffield Hallam University).

Ferreira Filho, A. S., Quecine, M. C., Bogas, A. C., de Barros Rossetto, P., de Souza Lima, A. O., Lacava, P. T., ... & Araújo, W. L. (2012). Endophytic Methylobacterium extorquens expresses a heterologous β-1, 4-endoglucanase A (EglA) in Catharanthus roseus seedlings, a model host plant for Xylella fastidiosa. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *28*(4), 1475-1481.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Ganther, H. E. (1968). Selenotrisulfides. Formation by the reaction of thiols with selenious acid. *Biochemistry*, *7*(8), 2898-2905.

Gebreeyessus, G. D., & Zewge, F. (2019). A review on environmental selenium issues. *SN Applied Sciences*, *1*(1), 55.

Goldhaber, S. B. (2003). Trace element risk assessment: essentiality vs. toxicity. *Regulatory toxicology and pharmacology*, *38*(2), 232-242.

Grützmacher, G., Kumar, P. S., Rustler, M., Hannappel, S., & Sauer, U. (2013). Geogenic groundwater contamination—definition, occurrence and relevance for drinking water production. *Zbl Geol Paläont Teil I*, *1*, 69-75.

Gupta, M., & Gupta, S. (2017). An overview of selenium uptake, metabolism, and toxicity in plants. *Frontiers in Plant Science*, *7*, 2074.

Haygarth, P. M. (1994). Global importance and global cycling of selenium. *Selenium in the Environment*, 1-27.

He, Z. L., Yang, X. E., & Stoffella, P. J. (2005). Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *Journal of Trace elements in Medicine and Biology*, *19*(2-3), 125-140.

Herawati, N., Suzuki, S., Hayashi, K., Rivai, I. F., & Koyama, H. (2000). Cadmium, copper, and zinc levels in rice and soil of Japan, Indonesia, and China by soil type. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, *64*(1), 33-39
.

Hindersah, R., Arief, D. H., Soemitro, S., & Gunarto, L. (2009). Pengaruh CdCl2 terhadap Produksi Eksopolisakarida dan Daya Hidup Azotobacter. *Jurnal Natur Indonesia*, *12*(01), 34-37.

Hindersah, R., & Kamaluddin, N. N. (2014). Pengaruh Timbal terhadap Kepadatan Sel dan kadar Eksopolisakarida Kultur Cair Azotobacter. *Bionatura*, *16*(1).

Ike, M., Takahashi, K., Fujita, T., Kashiwa, M., & Fujita, M. (2000). Selenate reduction by bacteria isolated from aquatic environment free from selenium contamination. *Water Research*, *34*(11), 3019-3025.

Javed, S., Sarwar, A., Tassawar, M., & Faisal, M. (2015). Conversion of selenite to elemental selenium by indigenous bacteria isolated from polluted areas. *Chemical Speciation & Bioavailability*, *27*(4), 162-168.

Jhonson, J. L. (1984). Nucleic Acid in Bacterial Classification. *Bergey's Manul for Systematic Bacteriology.* Vol. *1*, 8-11.

Johansson, L., Gafvelin, G., & Arnér, E. S. (2005). Selenocysteine in proteins—properties and biotechnological use. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, *1726*(1), 1-13.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Kathiresan, K., & Selvam, M. M. (2006). Evaluation of beneficial bacteria from mangrove soil. *Botanica Marina*, *49*(1), 86-88.

Khalilian, M., Zolfaghari, M. R., & Soleimani, M. (2015). High potential application in bioremediation of selenate by Proteus hauseri strain QW4. *Iranian journal of microbiology*, *7*(2), 94.

Khalilian, M., Zolfaghari, M. R., Soleimani, M., & Zand Monfared, M. R. (2014). Bacillus sp. strain QW90, a bacterial strain with a high potential application in bioremediation of selenite. *Report of Health Care*, *1*(1), 7-11.

Klonowska, A., Heulin, T., & Vermeglio, A. (2005). Selenite and tellurite reduction by Shewanella oneidensis. *Appl. Environ. Microbiol.*, *71*(9), 5607-5609.

Kozdroj, J., & van Elsas, J. D. (2001). Structural diversity of microorganisms in chemically perturbed soil assessed by molecular and cytochemical approaches. *Journal of Microbiological Methods*, *43*(3), 197-212.

Kwaśna, H., Bateman, G. L., & Ward, E. (2008). Determining species diversity of microfungal communities in forest tree roots by pure-culture isolation and DNA sequencing. *Applied Soil Ecology*, *40*(1), 44-56.

Lemly, A. D. (2004). Aquatic selenium pollution is a global environmental safety issue. *Ecotoxicology and environmental safety*, *59*(1), 44-56.

Lemly, A. D. (1985). Toxicology of selenium in a freshwater reservoir: Implications for environmental hazard evaluation and safety. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *10*(3), 314-338.

Lemly, A. D. (1997). Environmental hazard of selenium in the Animas La Plata water development project. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *37*(1), 92-96.

Liu, Y. T., Chen, T. Y., Mackebee, W. G., Ruhl, L., Vengosh, A., & Hsu-Kim, H. (2013). Selenium speciation in coal ash spilled at the Tennessee Valley Authority Kingston site. *Environmental science & technology*, *47*(24), 14001-14009.

Luoma, S. N., & Rainbow, P. S. (2008). *Metal contamination in aquatic environments: science and lateral management*. Cambridge university press.

Macy, J. M., Rech, S., Auling, G., Dorsch, M., Stackebrandt, E., & Sly, L. I. (1993). Thauera selenatis gen. nov., sp. nov., a member of the beta subclass of Proteobacteria with a novel type of anaerobic respiration. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *43*(1), 135-142.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Maier KJ, Foe C, Ogle RS, *et al.*, 1988. The Dynamics of Selenium in Aquatic Ecosystems. In: Hemphill dd, Ed. Trace Substances in Environmental Health. *XXI Proceedings*. Columbia, MO: University of Missouri, 361-408.

Madani, M. (1997). Memahami Musibah dan Amanah: Kajian atas Surah alAnfal. *dalam Moh. Mahfud MD dkk. (Ed.). Spiritualitas Alquran dalam Membangun Kearifan Umat. Yogyakarta: LPPAI UII*.

Masindi, Vhahangwele dan Khathutshelo L. Muedi. 2018. Environmental Contamination by Heavy Metals. *IntechOpen*. Chapter 7

Mertz, W. (1981). The essential trace elements. *Science*, *213*(4514), 1332-1338.

Mishra, R. R., Prajapati, S., Das, J., Dangar, T. K., Das, N., & Thatoi, H. (2011). Reduction of selenite to red elemental selenium by moderately halotolerant Bacillus megaterium strains isolated from Bhitarkanika mangrove soil and characterization of reduced product. *Chemosphere*, *84*(9), 1231-1237.

Nancharaiah, Y. V., & Lens, P. N. L. (2015). Ecology and biotechnology of selenium-respiring bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, *79*(1), 61-80.

NAS. 1976a. Selenium. *Comm Med Biol Effects Environ Pollut Subcomm - Selenium*. Washington, DC: National Academy of Sciences.

Nasrazadani, A., Tahmourespour, A., & Hoodaji, M. (2011). Determination of bacteria resistance threshold to lead, zinc and cadmium in three industrial wastewater samples.

Nei, M., & Kumar, S. (2000). *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford university press.

Nies, D. H. (2000). Microbial heavy-metal resistance. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, *51*, 451-460.

Notodarmojo, S. 2005. *Pencemaan Tanah dan Air Tanah*. Bandung: ITB Press.

Nuttall, K. L. (2006). Evaluating selenium poisoning. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, *36*(4), 409-420.

Pelczar., Michael, J., and Chan, E. C. S. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid I*. Jakarta: UI Press.

Priadie, Bambang. 2012. Teknik Bioremediasi sebagai Alternatif dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Air. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. Volume 10, Issue 1: 38-48.

Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (2008). Dasar-Dasar Mikrobiologi Dasar Jilid 1.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Priadie, B. (2012). Teknik bioremediasi sebagai alternatif dalam upaya pengendalian pencemaran air. *Jurnal ilmu lingkungan*, *10*(1), 38-48.

Puchkov, E. 2016. Image Analysis in Microbiology: A Review. *Journal of Computer and Communications*, 4, 8 -32.

Quecine, M. C., Lacava, P. T., Magro, S. R., Parra, J. R. P., Araújo, W. L., Azevedo, J. L., & Pizzirani-Kleiner, A. A. (2011). Partial characterization of chitinolytic extract from endophytic Streptomyces sp. and its effects on the boll weevil. *Nong Ye Ke Xue Yu Ji Shu*, *5*(4).

Ravikumar, S., Ramanathan, G., Suba, N., & Jeyaseeli, L. (2002). Quantification of halophilic Azospirillum from mangroves.

Risher, John, A. Rosa McDonald, Mario J. Citra, Stephen Bosch, B.S. dan Richard J. Amata, M.S. 2001. *A Toxicological Profile for Selenium.* Georgia: Division of Toxicology.

Roux, M., Sarret, G., Pignot-Paintrand, I., Fontecave, M., & Coves, J. (2001). Mobilization of selenite by Ralstonia metallidurans CH34. *Appl. Environ. Microbiol.*, *67*(2), 769-773.

Salomons, W., Förstner, U., & Mader, P. (Eds.). (2012). *Heavy metals: problems and solutions*. Springer Science & Business Media.

Schubert, A., Holden, J. M., & Wolf, W. R. (1987). Selenium content of a core group of foods based on a critical evaluation of published analytical data. *Journal of the American Dietetic Association*, *87*(3), 285-299.

Secor, C. L., & Lisk, D. J. (1989). Variation in the selenium content of individual Brazil nuts. *Journal of food safety*, *9*(4), 279-281.

Sen, N., & Naskar, K. (2003). *Algal flora of Sundarbans mangals*. Daya Books.

Shihab, M. Q. (2002). Tafsir al-misbah. *Jakarta: Lentera Hati*, *2*.

Simões, M. F., Antunes, A., Ottoni, C. A., Amini, M. S., Alam, I., Alzubaidy, H., ... & Bajic, V. B. (2015). Soil and rhizosphere associated fungi in gray mangroves (Avicennia marina) from the Red Sea—a metagenomic approach. *Genomics, proteomics & bioinformatics*, *13*(5), 310-320.

Sousa, A. M., Machado, I., Nicolau, A., & Pereira, M. O. (2013). Improvements on colony morphology identification towards bacterial profiling. *Journal of microbiological methods*, *95*(3), 327-335.

Spain, A., & Alm, E. (2003). Implications of microbial heavy metal tolerance in the environment.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Srinivas. T. (2008). *Environmental Biotechnology*. New Delhi: New Age International Publishers.

Stadtman, T. C. (1990). Selenium biochemistry. *Annual review of biochemistry*, *59*(1), 111-127.

Staicu, L. C., Morin-Crini, N., & Crini, G. (2017). Desulfurization: Critical step towards enhanced selenium removal from industrial effluents. *Chemosphere*, *172*, 111-119.

Shils, M. E., & Shike, M. (Eds.). (2006). *Modern nutrition in health and disease*. Lippincott Williams & Wilkins.

Sunde, R. A. (2006). Selenium. Present Knowledge in Nutrition, Bowman BA, Russell RM eds.

Tomei, F. A., Barton, L. L., Lemanski, C. L., Zocco, T. G., Fink, N. H., & Sillerud, L. O. (1995). Transformation of selenate and selenite to elemental selenium byDesulfovibrio desulfuricans. *Journal of Industrial Microbiology*, *14*(3-4), 329-336.

Triana, E., Nurhidayat, N., Yulinery, T., Kasim, E., & Dewi, R. M. (2010). IDENTIFIKASI GEN SELENOMETIL TRANSFERASE (smt) PADA ISOLAT Geobacillus sp. 20K YANG RESISTEN TERHADAP SELENIUM. *Berita Biologi*, *10*(3), 323-328.

U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. What We Eat in Americaexternal link disclaimer, 2009-2010

Vinceti, M., Mandrioli, J., Borella, P., Michalke, B., Tsatsakis, A., & Finkelstein, Y. (2014). Selenium neurotoxicity in humans: bridging laboratory and epidemiologic studies. *Toxicology letters*, *230*(2), 295-303.

Waluyo, L. (2005). Mikrobiologi Lingkungan. Malang.

WHO. 1971. International Standards for Drinking-water, Third Edition.

Wyszkowska, J., & Wyszkowski, M. (2002). Effect of cadmium and magnesium on microbiological activity in soil. *Polish Journal of Environmental Studies*, *11*(5), 585-592.

Yazid, M. (2007). Kajian Pemanfaatan Bakteri hasilIsolasi sebagai Agen Bioremediasi Radionuklida Uranium di Lingkungan. *Jurnal Prosiding PPI*.

Sumiwi, S. A. (2018). SELENIUM DAN MANFAATNYA UNTUK KESEHATAN: REVIEW JURNAL. *Farmaka*, *16*(2).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Zeng, L. S., Liao, M., Chen, C. L., & Huang, C. Y. (2007). Effects of lead contamination on soil enzymatic activities, microbial biomass, and rice physiological indices in soil–lead–rice (Oryza sativa L.) system. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *67*(1), 67-74.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

المرفقات

Attachment 1. Preparations solution of sodium selenate (Na_2SeO_4)

1. Pembuatan larutan Stok 100mM

   Molar mass of Sodium Selenate = 188,85 gr/mol

   1 Molar = 1000 mM

   1000 mM = 188,85 gr/L

   100 mM $= \frac{188{,}95 \text{ gram}}{10}$

   = 18,9 gr/L

Making 100 Mm Selenate stock in 100 ml = $\frac{18{,}9 \text{ gram}}{10}$

= 1,89 gram

So, to make a 100 ml solution of sodium selenate at a concentration of 100 mM by dissolving 1,89 gram of Na_2SeO_4 powder into 100 ml of distilled water.

2. Making Solution for Treatment

In this study, using 5 different concentrations of sodium selenate on YMEA and YMEB media, including 0mM, 1mM, 2mM, 5mM, and 10mM. To make this concentration, it is carried out using a dilution formula which is:

$$M1 \; x \; V1 = M2 \; x \; V2$$

Description:

M1: Time / concentration of sodium Selenate stock solution

V1: Volume of solution of the stock sodium Selenate were taken

M2: Time / concentration for the required media solution

V2: The total volume of media to be given sodium selenite

Preparation of 1mM selenate media in 15 ml of YMEA agar medium

M1 x V1 = M2 x V2

100 mM x V1 = 1mM x 15 ml

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

V1 = 0,15 ml or 150 µl

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

So, to make a medium for YMEA agar with a concentration of 1 ml as much as 15 ml, take 150 µl sodium selenate from a stock of 100 mM and then add 14.85 ml of YMEA agar medium into a petri dish.

Concentration	Sodium Selenate	YMEA/YMEB Media	Total Volume
0 mM	0 ml	15 ml	15 ml
1 mM	0,15 ml	14,85 ml	15 ml
2 mM	0,3 ml	14,7 ml	15 ml
5 mM	0,75 ml	14,25 ml	15 ml
10 mM	1,5 ml	13,5 ml	15 ml

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Appendix 2. Bacterial Growth Curve

The curve of growth of bacteria carried out measurements using a spectrophotometer long wave 600 nm every 2 hours once to found a decrease in the absorbance in the sample.

1. Absorbance results on isolate A-5-1

Time	**Media Concentration**				
	0 mM	1 mM	2 mM	5 mM	10 mM
0	0,002	0,003	0,021	0,016	0,014
2	0,002	0,004	0,002	0,001	0,001
4	0,005	0,009	0,029	0,008	0,013
6	0,059	0,015	0,051	0,04	0,055
8	0,228	0,246	0,250	0,241	0,234
10	1,704	1,906	1,910	1,910	1,899
12	0,135	0,039	0,036	0,355	0,139
14	0,093	0,053	0,022	0,034	0,087
16	0,034	0,038	0,052	0,058	0,058
18	0,033	0,033	0,022	0,032	0,052

2. Absorbance results on isolate B-10-1

Time	**Media Concentration**				
	0mM	1 mM	2mM	5mM	10mM
0	0,001	0,002	0,014	0,007	0,016
2	0,005	0,007	0,011	0,008	0,011
4	0,031	0,021	0,018	0,012	0,01
6	0,033	0,033	0,05	0,067	0,042
8	0,092	0,082	0,069	0,069	0,032
10	0,549	0,54	0,539	0,538	0,53
12	1,912	1,912	1,898	1,884	1,906
14	0,537	0,537	0,563	0,549	0,546
16	0,193	0,123	0,142	0,161	0,129
18	0,059	0,053	0,022	0,032	0,047
20	0,013	0,043	0,022	0,032	0,052

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Appendix 3 . Nucleotide Base Order

1. Isolate A-5-1

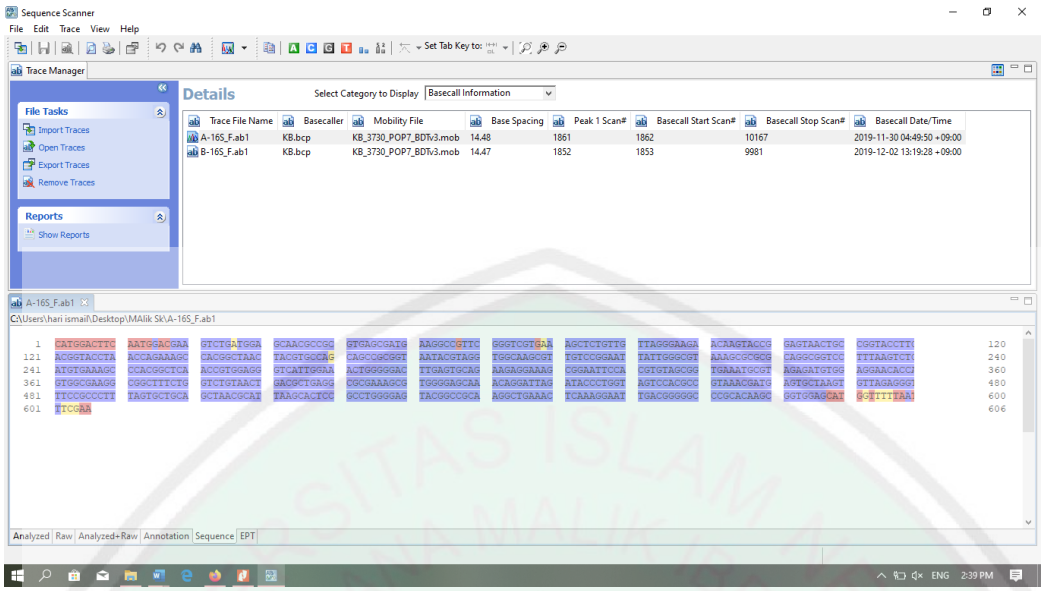
>A-16S_F
CATGGACTTCAATGGACGAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGCG
ATGAAGGCCGTTCGGGTCGTGAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAA
GTACCGGAGTAACTGCCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCC
ACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGC
GTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTCCTTTAAG
TCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACT
GGGGGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGCGGAATTCCACGTGTAGCGG
TGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTT
CTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAG
GATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGT
TAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCC
GCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGG
GGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGGTTTTTAATTTCGAA

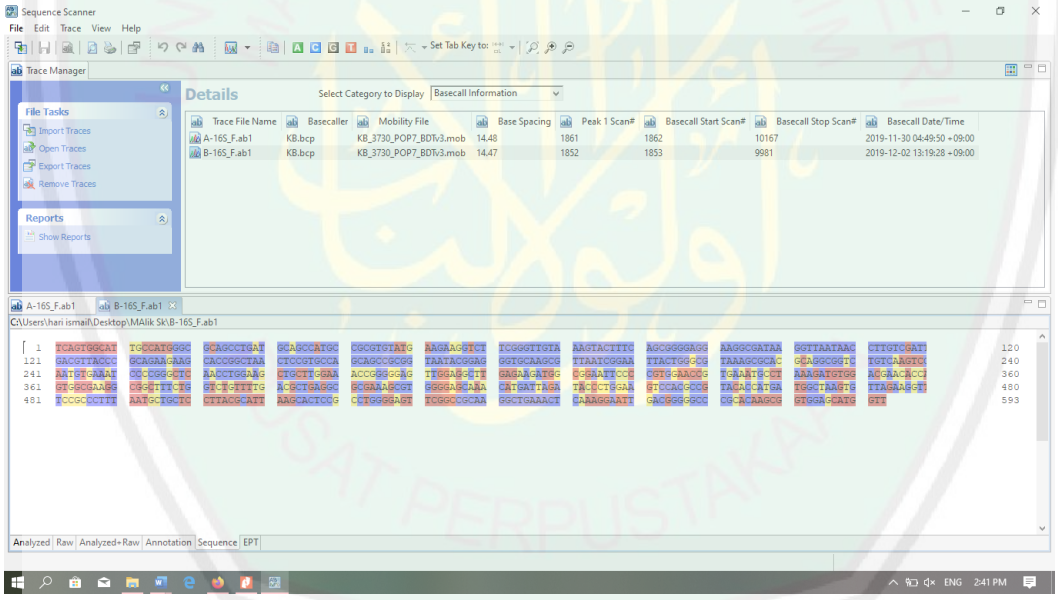
2. Isolate B-10-1

>B-16S_F
TCAGTGGCATTGCCATGGGCGCAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTA
TGAAGAAGGTCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCAGCGGGGAGGAAGGC
GATAAGGTTAATAACCTTGTCGATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCAC
CGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCG
TTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTCAAGT
CGAATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGAAGCTGCTTGGAAACCGGG
GGAGTTGGAGGCTTGAGAAGATGGCGGAATTCCCCGTGGAACCGTGA
AATGCCTAAAGATGTGGACGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTTCTG
GTCTGTTTTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACATGATTA
GATACCCTGGAAGTCCACGCCGTACACCATGATGGCTAAGTGTTAGAA
GGTTTCCGCCCTTTAATGCTGCTCCTTACGCATTAAGCACTCCGCCTGG
GGAGTTCGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCG
CACAAGCGGTGGAGCATGGTT

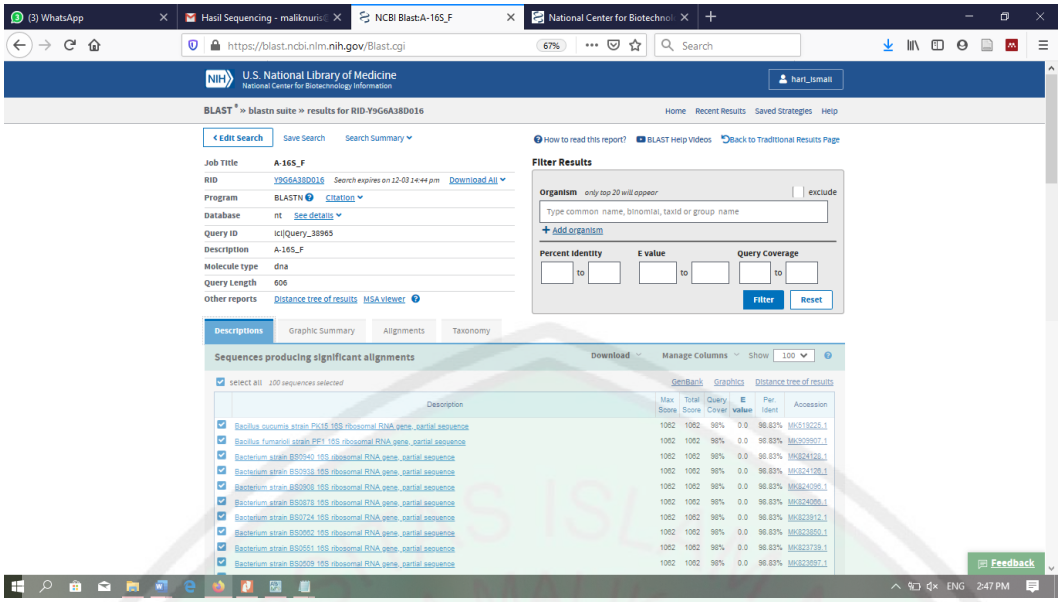
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

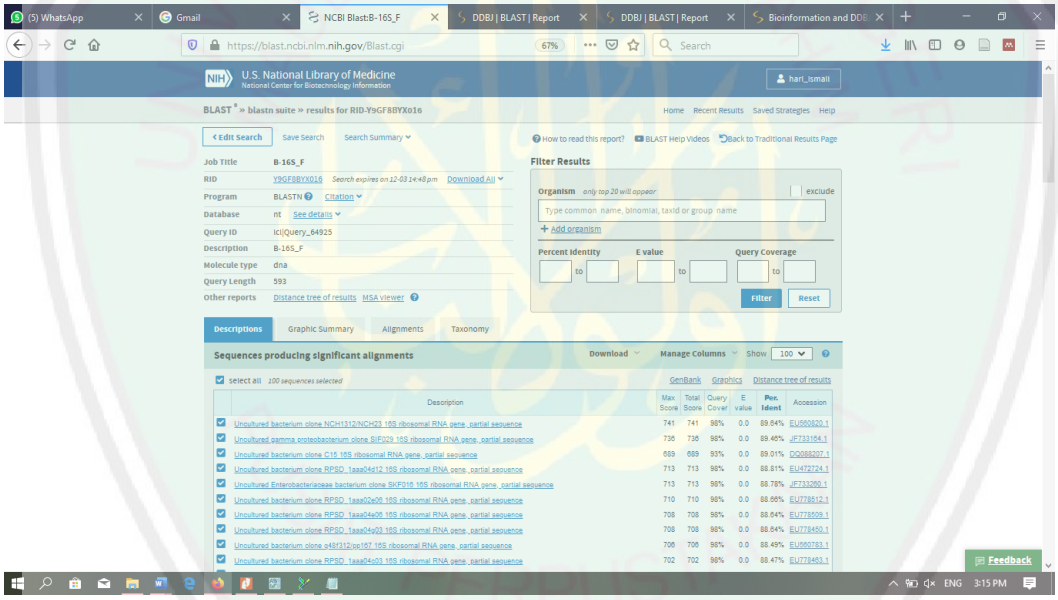
Appendix 4 . Isolate Sequencing Results





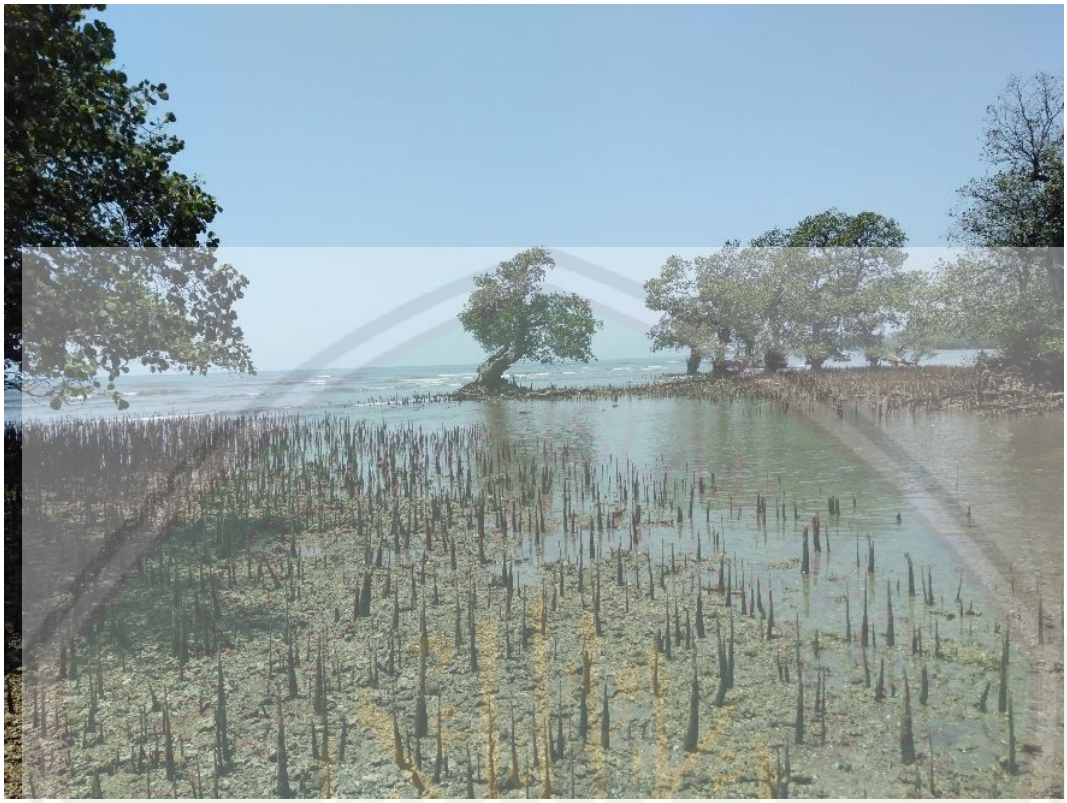
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG





CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Appendix 5. Sampling location



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

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

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Malik Nuris Su'aidi
NIM : 15620077
Program Studi : Biologi
Semester : Ganjil (IX)
Pembimbing : Romaidi, M.Si., D.Sc.
Judul Skripsi : Isolasai dan Identifikasi Bakteri Resisten Selenate (SeO_4^{2-}) dari sedimen Mangrove pantai Banyuglugur Kabupaten Situbondo, Jawa Timur.

NO.	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	09-01-2019	Konsultasi judul skripsi	1.
2.	14-01-2019	Revisi judul skripsi	2.
3.	15-01-2019	Konsultasi BAB I dan III	3.
4.	13-02-2019	Konsultasi BAB II	4.
5.	04-08-2019	Revisi BAB I II dan III	5.
6.	14-08-2019	ACC Proposal	6.
7.	20-11-2019	Konsultasi BAB IV	7.
8.	03-11-2019	Revisi BAB IV	8.
9.	05-11-2019	Konsultasi BAB IV V dan Daftar Pustaka	9.
10.	02-12-2019	Konsultasi analisis data dan lampiran	10.
11.	05-12-2019	ACC Skripsi	11.

Malang, 26 Desember 2019

Pembimbing Skripsi

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

a.n. Ketua Jurusan,

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

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

KARTU KONSULTASI AGAMA SKRIPSI

Nama : Malik Nuris Su'aidi
NIM : 15620077
Program Studi : Biologi
Semester : Ganjil (IX)
Pembimbing : Romaidi, M.Si., D.Sc.
Judul Skripsi : Isolasai dan Identifikasi Bakteri Resisten Selenate (SeO_4^{2-}) dari sedimen Mangrove pantai Banyuglugur Kabupaten Situbondo, Jawa Timur.

NO.	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	14-08-2019	Konsultasi BAB I, II, III	1.
2.	15-08-2019	ACC BAB I, II, III	2.
3.	03-12-2019	Konsultasi BAB IV	3.
4.	05-12-2019	ACC Skripsi	4.

Malang, 26 Desember 2019

Pembimbing Skripsi

M. Mukhlis Fahruddin, M.S.I
NIPT.20142011409

Ketua Jurusan,

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG