

**ISOLASI BAKTERI RESISTEN SELENIUM (Se) DARI CLUNGUP
MANGROVE CONSERVATION (CMC) DAN KEMAMPUANNYA DALAM
MENGAKUMULASI SELENIUM**

SKRIPSI

Oleh:

**IZATU SEPTINAHARIN MASHUDATINA
NIM.13620019**



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

2020

**ISOLASI BAKTERI RESISTEN SELENIUM (Se) DARI CLUNGUP
MANGROVE CONSERVATION (CMC) DAN KEMAMPUANNYA DALAM
MENGAKUMULASI SELENIUM**

SKRIPSI

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

Oleh:
IZATU SEPTINAHARIN MASHUDATINA
NIM.13620019

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

2020

**ISOLASI BAKTERI RESISTEN SELENIUM (Se) DARI CLUNGUP
MANGROVE CONSERVATION (CMC) DAN KEMAMPUANNYA DALAM
MENGAKUMULASI SELENIUM**

SKRIPSI

Oleh:
IZATU SEPTINAHARIN MASHUDATINA
NIM.13620019

Telah diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:

Oleh:

Dosen Pembimbing I


Bayu Agung Prahardika, M.Si
NIP. 19900807 201903 1 011

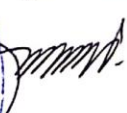
Dosen Pembimbing II


Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIPT. 2014020011409

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi




Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP.19741018 200312 2 002

**ISOLASI BAKTERI RESISTEN-SELENIUM (Se) DARI CLUNGUP
MANGROVE CONSERVATION (CMC) DAN KEMAMPUANNYA DALAM
MENGAKUMULASI SELENIUM**

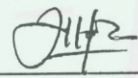
SKRIPSI

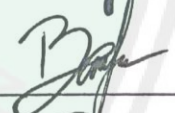
Oleh:
IZATU SEPTINAHARIN MASHUDATINA
NIM.13620019

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

Tanggal 6 Juli 2020:

Penguji Utama	: <u>Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si</u> NIP. 19650509 199903 2 002
Ketua Penguji	: <u>Dr. Nur Kusmiyati, S.Si., M.Si</u> NIDT. 19890816 20160801 2 061
Sekretaris Penguji	: <u>Bayu Agung Prahardika, M.Si</u> NIP. 19900807 201903 1 011
Anggota Penguji	: <u>Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I</u> NIPT. 2014020011409

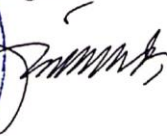





Mengesahkan,

Ketua Program Studi Biologi




Evika Sandi Savitri, M.P
NIP 19741018 200312 2 00

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Izatu Septinaharin Mashudatina

NIM : 13620019

Fakultas/ Jurusan : Sains dan Teknologi/ Biologi

Judul Skripsi : Isolasi Bakteri Resisten Selenium (Se) dari Clungup *Mangrove Conservation* (CMC) dan Kemampuannya dalam Mengakumulasi Selenium

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

Malang,

Yang Membuat Pernyataan



Izatu Septinaharin Mashudatina

NIM. 13620019

MOTTO

TRIAL AND ERROR MAKES PERFECT

Jika ada kepayahan yang harus dilalui, yakinlah ada balasan menanti

Kuatkan iman, tabahkan diri, hingga keikhlasan terpatir dalam lubuk hati

Maka benarlah firman Sang Ilahi:

إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.”

(QS. Al-Insyirah: 6)



KATA PENGANTAR

Alhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian sekaligus tugas akhir ini dengan judul “Isolasi Bakteri Resisten Selenium (Se) Dari Clungup *Mangrove Conservation* (CMC) Dan Kemampuannya Dalam Mengakumulasi Selenium”. Shalawat serta salam semoga tercurahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW.

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

1. Prof. Abdul Haris, M.Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Romaidi, M.Si, D.Sc (almarhum), Bayu Agung Prahardika, M. Si dan Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I, selaku dosen pembimbing yang penuh dengan kesabaran dan keikhlasan yang senantiasa memberikan bimbingan, arahan dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini.
5. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si, selaku dosen wali yang memberikan saran dan nasehat yang berguna.
6. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si dan Dr. Nur Kusmiyati, S.Si., M.Si, selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun yang membantu dalam terselainya skripsi ini.
7. Kholifah Holil, M.Si, selaku dosen yang telah memberikan banyak dukungan, saran dan motivasi yang tiada henti.
8. Seluruh dosen, Laboran Jurusan Biologi, Staf Administrasi, dan seluruh staf Fakultas Sains dan Teknologi yang telah membantu dan memberikan kemudahan, terimakasih atas semua ilmu dan bimbingannya.
9. Keluarga dan saudara-saudara ku lainnya yang tak pernah lelah untuk

tetap mendukung baik secara moril dan materil serta ketulusan doa sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.

10. Teman-temanku, teman Biologi, teman bimbingan Pak Romaidi khususnya Tim Selenium (Wafi dan Najla), mbak Roqi, Ihsan, Abid, Ayu, Eva, Endah, Fista, mbak Uswa dan Bangkit Mahardika yang memberikan bantuan, semangat dan motivasi.
11. Keluarga besar Biologi, terkhusus untuk angkatan 2013, terimakasih atas semua dukungan, semangat, dan pertemanan yang terjalin.
12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu, terimakasih atas segala bentuk dukungannya sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Malang, Juli 2020

Penulis

HALAMAN PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Segala puji bagi Allah SWT atas kasih sayangNya yang berlimpah, nikmat, kekuatan dan keberkahan dalam menuntut ilmu. Tiada suatu kemampuan dalam menyelesaikan naskah ini kecuali mendapat ridho dari-Nya. Shalawat dan salam atas nabi yaitu junjungan kita Nabi Muhammad Saw yang selalu menjadi cita-cita untuk mendapatkan syafaatnya, juga atas semua ahlul bait, sahabat serta para pengikutnya.

Saya persembahkan naskah yang saya harap membawa berkah ini kepada orang-orang yang saya hormati, kasihi, dan sayangi. Walaupun persembahan ini tak akan bisa mengganti kasih sayang dan dukungan mereka atas penyelesaian naskah ini.

Naskah ini dipersembahkan untuk senyuman yang selalu terngiang, senyuman almarhum Bapak Masyhudi ketika anak ragilnya diterima di Universitas Negeri. Untuk perempuan yang paling kuat di dunia, ibu Titik Timbang Novana, dan kakak-kakakku yang selalu mendukung tanpa pamrih mbak Indana Lazulfa Mashudatina dan Moh. Wildan Mukholadun Mashudatina. Dan juga keluarga besar S.J Soenarso yang tak pernah henti memberikan dukungan, motivasi dan nasehat yang sangat berarti dalam proses penyelesaian naskah sederhana ini. Semoga Allah mencatat sebagai sedikit bentuk amalan bakti kepada orang tua.

Tak lupa, persembahan sederhana ini saya persembahkan untuk para dosen yang selalu sabar dan tidak pernah lelah untuk memberi bimbingan, ilmu dan juga motivasi. Tekhusus untuk almarhum bapak Romaidi yang kebaikannya tak akan pernah bisa terbalas, semoga Allah selalu merahmati beliau dan juga para dosen lainnya.

Terimakasih untuk Maria, Maya, Afifah, mbak Oki, Ayu, Eva dan Endah yang mau menemani saya dalam kondisi apapun serta memberi dukungan dalam berbagai bentuk. Terimakasih juga atas dukungan sahabat Nukleus, Biologi 2013 dan anggota KSR-UIN Malang yang juga selalu memberikan dukungan untuk saya.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN.....	v
MOTTO.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
ABSTRAK.....	xiv
ABSTRACK.....	xvii
ملخص.....	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan	6
1.4 Manfaat.....	7
1.5 Batasan Masalah.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Pencemaran Logam Berat.....	8
2.2 Selenium.....	11
2.2.1 Selenium dan Distribusi Selenium.....	11
2.2.2 Polusi dan Toksisitas Selenium.....	14

2.3 Bioremediasi.....	15
2.3.1 Macam-Macam Bioremediasi.....	16
2.3.2 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Bioremediasi	17
2.4 Bakteri Sebagai Agen Bioremediasi Se.....	18
2.4.1 Kemampuan Bakteri dalam Mengkumulasi Logam Berat.	23
2.5 Ekosistem Mangrove.....	24
2.5.1 Pengertian.....	24
2.5.2 Karakteristik Mangrove.....	25
2.5.3 Struktur Zonasi Mangrove.....	27
2.6 Clungup Mangrove Conservation.....	29
BAB III METODE PENELITIAN.....	30
3.1 Waktu dan Tempat.....	30
3.2 Rancangan Penelitian.....	30
3.3 Alat dan Bahan.....	30
3.3.1 Alat.....	30
3.3.2 Bahan.....	31
3.4 Prosedur Penelitian.....	32
3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	32
3.4.2 Pengambilan Sampel.....	32
3.4.3 Pembuatan Media.....	34
3.4.4 Isolasi Bakteri.....	35
3.4.5 Identifikasi Bakteri.....	36
3.4.5.1 Identifikasi Spesies Menggunakan <i>Microbact</i>	36
3.4.6 Uji Bioakumulasi oleh Bakteri Resisten Se.....	37
3.4.7 Perhitungan Persentase Akumulasi Se.....	38
3.5 Analisa Data.....	38
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	40

4.1 Isolasi Bakteri Resisten Selenium.....	40
4.1.1 Identifikasi Bakteri Terpilih.....	46
4.1.2 Identifikasi Menggunakan <i>Microbact</i>	46
4.2 Uji Kemampuan Bioakumulasi.....	52
BAB V PENUTUP.....	57
5.1 Kesimpulan.....	58
5.2 Saran.....	58
DAFTAR PUSTAKA.....	58
LAMPIRAN.....	65



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Siklus selenium secara global di alam.....	12
Gambar 2.2 Skema reduksi SeO_3^{2-} dalam <i>Shewanella oneidensis</i> MR-1.....	21
Gambar 2.3 Transformasi Se di alam oleh Bakteri Pereduksi Selenium (Se-RB).....	22
Gambar 2.4 Transmisi mikroskop eletron bakteri <i>Enterococcus durans</i> yang dikultivikasi tanpa sodium selenit dan dengan sodium selenit.....	24
Gambar 2.5 Pola zonasi mangrove.....	28
Gambar 3.1 Peta satelit lokasi stasiun pengambilan sampel dan stasiun pengamatan.....	34
Gambar 4.1 Jumlah bakteri-resisten Se yang tumbuh pada BSM yang telah distimulasi Na_2SeO_3 dengan konsentrasi 0 mM, 5mM dan 10 mM pada stasiun I, II, dan III.....	42
Gambar 4.2 Perbedaan jumlah bakteri yang tumbuh pada stasiun I, II dan III pada konsentrasi tertinggi (10 mM) Na_2SeO_3	43
Gambar 4.3 Bioakumulasi Se oleh bakteri resisten-Se dengan konsentrasi sodium selenit 0 μM , 100 μM dan 200 μM	53

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Metode Kerja.....	65
Lampiran 2. Prosedur Isolasi Dan Uji Resistensi Se.....	67
Lampiran 3. Perhitungan.....	68
Lampiran 4. Jumlah Bakteri Resisten-Se yang Tumbuh pada Inkubasi Selama 7x24 Jam.....	72
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian.....	74
Lampiran 6. Hasil Uji <i>Microbact</i>	76
Lampiran 7. Hasil Uji Bioakumulasi Bakteri Resisten Selenium.....	77
Lampiran 8. Hasil Analisis Duncan.....	79
Lampiran 9. Surat Izin Pengambilan Sampel di Clungup <i>Mangrove</i> <i>Conservation</i> (CMC).....	80
Lampiran10. Hasil Uji Pendahuluan Kandungan Selenium Pada Stasiun I,II dan III	81

ABSTRAK

Isolasi Bakteri Resisten Selenium (Se) dari Clungup *Mangrove Conservation* (CMC) dan Kemampuannya dalam Mengakumulasi Selenium

Izatu Septinaharin Mashudatina, Romaidi, Bayu Agung Prahardika,
M. Mukhlis Fahrudin

Selenium adalah unsur kimia esensial bagi makhluk hidup dalam konsentrasi sedikit dan bersifat toksik pada konsentrasi tinggi selenium dengan perbedaan yang relatif kecil. Toksikitas Se di lingkungan akan menimbulkan pencemaran, sehingga penelitian ini memiliki misi dalam pencegahan kerusakan bumi sebagaimana tugas manusia sebagai khalifah. Kandungan Se di Clungup *Mangrove Conservation* (CMC) mencapai 2.080 µg/L. Kandungan tersebut seribu kali lebih tinggi dibandingkan kadar normal selenium di lingkungan berdasarkan *Environmental Protection Agency's* (EPA) yaitu 3,1 µg/L. Penelitian ini difokuskan untuk mengisolasi bakteri resisten-selenit dan menguji kemampuannya dalam mengakumulasi selenit. Penelitian menggunakan rancangan deskriptif kualitatif. Isolasi pada sampel sedimen CMC dengan pengenceran bertingkat 10^{-5} . Perlakuan dengan stimulasi 0 mM, 5 mM dan 10 mM Sodium Selenit (Na_2SeO_3) pada *Basal Salt Medium* (BSM), dinkubasi selama 7x24 jam pada suhu 37 °C. Uji akumulasi dengan konsentrasi 0, 100 dan 200 µM dengan tiga ulangan. Kadar selenium dihitung menggunakan *Atomic Absorption Spectrometry* (AAS). Data yang diperoleh disajikan secara deskriptif dan dianalisa menggunakan *One Way Anova* dilanjutkan menggunakan DMRT jika terdapat perbedaan. Hasil penelitian menunjukkan adanya bakteri yang resisten-Se pada stimulasi 10 mM Na_2SeO_3 . Strain bakteri CMB-1 menunjukkan resistensinya pada selenit (SeO_3^{2-}) dengan adanya perubahan koloni menjadi berwarna merah saat dilakukan isolasi. Bakteri merupakan bakteri gram positif (+). Berdasarkan uji biokimia menggunakan *microbact* strain CMB-1 memiliki kemiripan dengan *Bacillus* sp. dengan kemiripan 76%. Bakteri ini mampu mengakumulasi selenium sebanyak 51% pada perlakuan 100 µM dan sebanyak 63,17% pada perlakuan 200 µM. Strain CMB-1 memiliki potensi besar sebagai agen bioremediasi di lingkungan khususnya pada pencemaran selenium.

Kata kunci: *Bacillus* sp, Bioakumulasi, Sedimen Mangrove, Selenium

ABSTRACT

Isolation of Selenium-Resistant Bacteria from Clungup Mangrove Conservation (CMC) and Their Ability to Accumulate Selenium (Se)

Izatu Septinaharin Mashudatina, Romaidi, Bayu Agung Prahardika,
M. Mukhlis Fahrudin

Selenium is an essential trace chemical element for living things, it is essential at low concentrations and toxic at high concentrations. Se toxicity in the environment will cause pollution, this research has a mission in preventing damage to the earth as the human responsibility as khalifah. The concentrations of Se in Clungup Mangrove Conservation (CMC) reaches 2.080 µg/L, it's a thousand times higher than Environmental Protection Agency's (EPA) normal levels in the environment which is 3,1 µg/L. This research focuses on isolating Selenite-resistant bacteria and their ability to accumulate selenite. This study used a qualitative descriptive design. Sediment samples from CMC was isolated with multilevel dilution (10^{-5}). The cell suspension was inoculated into the Basal Salt Medium (BSM) containing 0 mM, 5 mM and 10 mM of Sodium Selenite (Na_2SeO_3) for 7x24 hours at 37 °C. The accumulation test with 0, 100 and 200 µM Na_2SeO_3 and calculated using Atomic Absorption Spechtrometry (AAS). The datas are presented descriptively and analyzed using One Way Anova followed by DMRT if there are differences. The result showed Se-resistant bacteria on 10 mM Na_2SeO_3 stimulation by colonies colour changing to the red during isolation. Bacteria is a gram positive (+). Based on microbact tests, strain CMB-1 has similiarities with *Bacillus* sp. with 76% probabiliy persentage. This bacteria is able to accumulate selenium as much as 51% at 100 µM and 63,17% in 200 µM treatment. Strain CMB-1 has a big potential as a bioremediation agent in the environment, especially in selenium contaminations.

Keywords: *Bacillus* sp, Bioaccumulation, Sediment Mangrove, Selenium

ملخص

عزل البكتيريا المقاومة للسيلينيوم (Se) من محمية كلونجوب مانجروف (CMC) وقدرتها على تراكم السيلينيوم ، عزّة سبتينهارن مشهودتنا, الروميدي , بابو أجونج براهارىكا، مخلص فهر الدين

السيلينيوم هو عنصر كيميائي أساسي للكائنات الحية ، ولكنه مطلوب بكميات صغيرة ، ويكون ساما إن كانت التركيزات أو الكميات عالية. سمية السيلينيوم في البيئة سوف تتسبب التلوث ، لذا فإن لهذا البحث دور مهم في منع تلف الأرض وذلك طبقا لمهمة البشر كخليفة في الأرض. بلغت مستويات السيلينيوم في محمية كلونجوب مانجروف (CMC) 2.080 ميكروغرام / لتر. وهذه المستويات أعلى ألف مرة من المستويات العادية للسيلينيوم في البيئة، وهذا بناءً على وكالة حماية البيئة (EPA) التي تبلغ 3.1 ميكروغرام / لتر. يركز هذا البحث على عزل البكتيريا المقاومة للسيلينيوم واختبار قدرتها على تراكم السيلينيوم. استخدمت الدراسة تصميمًا وصفيًا نوعيًا. تم تنفيذ العزل من رواسب محمية كلونجوب مانجروف (CMC) مالا نج مع تخفيفات طبقية تصل إلى 10^{-5} . العلاج بإضافة 0 ملم ، 5 ملم وإضافة 10 ملم من سيلينيت الصوديوم (Na_2SeO_3). ثم حضن لمدة 7x24 ساعة عند 37°C . وكان اختبار التراكب بتركيز 0 و 100 و 200 ميكرومتر مع ثلاث مكررات. تم حساب مستويات السيلينيوم باستخدام مطياف الامتصاص الذري (AAS). والبيانات التي تم الحصول عليها تقدّم بشكلٍ وصفيّ وتحليلها باستخدام One Way Anova متبوعًا باختبار دكان متعدد المدى (DMRT) أو اختبار BNT إذا كانت هناك اختلافات. ثم دلت نتائج البحث على أن البكتيريا مقاومة-Se على تحفيز 10 ملم Na_2SeO_3 . وكذلك دلت البكتيريا CMB-1 على أوجه مقاومة للسيلينست (SeO_3^{2-}) عن طريق تغيير المستعمرة إلى الأحمر أثناء العزلة. و البكتيريا هو إيجابية جرامية (+). و استنادا إلى الاختبارات البيوكيميائية باتخاذ مجمّع الميكروبات CMB-1، فإن لها أوجه تشابه بباجيلوس سب (*Bacillus sp.*) قدر 76%. و هذه البكتيريا قادرة على تراكم السيلينيوم بنسبة تصل إلى 51% في 100 ميكرومتر و 63,17% في 200 ميكرومتر. و يمكن أن تكون معالجة حيوية بيوريميدياسي ويساعد في تنظيف البيئة الملوثة خاصة من السيلينيوم.

الكلمات المفتاحية: السيلينيوم ، التراكب الأحيائي، باجيلوس سب (*Bacillus sp.*) ، رواسب المانجروف

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Selenium adalah unsur metaloid alami yang dibutuhkan hampir semua makhluk hidup. Persebarannya terdapat di berbagai elemen di lingkungan mulai dari atmosfer, laut, terestrial dan secara luas dapat ditemukan di bebatuan, tanah dan sedimen marin. Selenium terbentuk secara alami dilingkungan dalam bentuk organik dan inorganik (Fordyce, 2013; Kimura *et al.*, 2014; Lanctot *et al.*, 2017).

Elemen selenium (Se^0), logam selenida (SeO^{2-}), selenat (SeO_4^{2-}), dan selenit (SeO_3^{2-}) merupakan selenium dalam bentuk inorganik. Sedangkan Se dalam bentuk organik diantaranya adalah selenomethionin dan selenosistein. Bentuk inorganik (selenat dan selenit) lebih toksik dibandingkan Se dalam bentuk organik (Bodnar *et al.*, 2012). Selenat (SeO_4^{2-}) dan selenit (SeO_3^{2-}) merupakan dua oksianion selenium yang toksik dalam sistem kehidupan. Bahkan selenit berpotensi lebih toksik dibandingkan dengan selenat. Selenit memiliki sifat yang lebih mudah teradsorpsi pada permukaan zat inorganik padat ataupun zat organik, sehingga pencemaran selenit harus segera diatasi dengan mereduksinya menjadi selenium elemental (Se^0) yang tidak mudah terlarut (Vesper *et al.*, 2008).

Selenium merupakan unsur yang digunakan untuk produksi berbagai macam bahan industri seperti semikonduktor, fotosel dan kaca berwarna (Kimura *et al.*, 2014). Namun selenium dibutuhkan dalam kadar yang sedikit, sehingga dalam kadar yang tinggi selenium dapat menjadi bersifat toksik (Terry *et al.*, 2000). Menurut Xia *et al.* (2007), polusi Se di lingkungan dapat disebabkan oleh

aktivitas manusia, seperti pertanian, pertambangan dan industrial. Aktivitas tersebut sangat memicu perubahan unsur selenium menjadi unsur yang bersifat toksik, terutama di lingkungan perairan seperti laut, pesisir dan lain sebagainya (Lanctot *et al.*, 2017), karena laut merupakan tempat bermuaranya sungai besar maupun kecil, sehingga laut dapat berpotensi menjadi tempat berkumpulnya zat-zat pencemar yang terbawa oleh aliran sungai dan limbah logam berat yang merupakan limbah paling berbahaya karena menimbulkan efek racun (Boran & Altinok, 2010).

Berdasarkan perspektif fiqh menurut Syarifudin (2013) pencemaran dan kerusakan lingkungan yang saat ini menjadi isu global baik yang terjadi di laut, hutan, atmosfer, air ataupun lainnya, pada dasarnya bersumber pada perilaku manusia yang tidak bertanggung jawab dan tidak memiliki kepedulian, atau hanya mementingkan diri sendiri. Sebagaimana firman Allah dalam Al-Qur'an surat Al-Rum ayat 41:

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

Artinya:

“Telah nampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali pada (ke jalan yang benar)” (Q.S. Al-Rum/30: 41).

Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Lemly (2002) di danau Belews Carolina Utara, polusi Se yang terbentuk akibat berbagai aktivitas manusia telah menyebabkan kepunahan pada beberapa spesies ikan lokal. Hasil dari penelitian Janz *et al.* (2010) juga membuktikan bahwa peningkatan

kandungan Se di perairan berdampak buruk pada pertumbuhan, perkembangan, tingkah laku dan reproduksi, serta menyebabkan stress dan kecacatan pada biota perairan. Aktivitas pertambangan batu bara yang cukup banyak di Kalimantan Selatan menyebabkan peningkatan konsentrasi logam selenium yang sangat tinggi dan memiliki efek toksik pada ikan dan burung serta makro-invertebrata di perairan setempat. Menurut Setiawan (2013), logam berat yang terdapat di perairan akan mengendap dan membentuk sedimentasi sehingga menyebabkan biota laut yang hidup di dasar perairan memiliki peluang yang sangat besar untuk terkontaminasi logam berat tersebut. Logam berat dapat berpindah dari lingkungan ke organisme, dan dari organisme satu ke organisme yang lain melalui rantai makanan. Menurut Lanctot *et al.* (2017) selenium dapat menimbulkan ancaman jangka panjang terhadap ekosistem perairan karena dapat mempengaruhi rantai makanan di ekosistem yang terkontaminasi Se.

Melihat berbagai dampak buruk yang diakibatkan dari selenium dalam kadar yang tinggi, para peneliti telah melakukan berbagai metode untuk mengatasi permasalahan yang diakibatkan oleh logam tersebut (Fordyce, 2005). Salah satunya adalah bioremediasi, menurut Mani & Kumar (2014) bioremediasi merupakan teknik yang memanfaatkan proses biologi untuk mengurangi pencemaran. Bioremediasi dapat dilakukan dengan memanfaatkan mikroorganisme, jamur, tanaman hijau atau enzim yang dapat mengembalikan lingkungan yang telah terkontaminasi menjadi lingkungan yang alami kembali.

Bioakumulasi merupakan salah satu teknik bioremediasi untuk menghilangkan logam berat. Bioakumulasi adalah interaksi aktif antara logam

berat dengan sel mikroorganisme dimana ion logam akan berpenetrasi ke dalam sel-sel mikroorganisme tersebut (Chipasa, 2003). Berdasarkan penelitian oleh Pieniz *et al.* (2017), dapat diketahui bahwa bakteri *Enterococcus durans* memiliki kemampuan mengakumulasi Se hingga konsentrasi 30.000 µg/L yang dapat diketahui dari total ikatan protein pada sel bakteri tersebut.

Hutan bakau (mangrove) adalah bioma yang memiliki ciri khas berlokasi di daerah peralihan antara darat dan laut (Mishra *et al.*, 2011), dengan demikian area tersebut berpotensi tinggi terhadap adanya akumulasi logam berat karena berbatasan langsung dengan daratan dan merupakan tempat bertemunya perairan dari darat melalui sungai dan perairan laut, dimana aliran sungai dapat menjadi media pembawa limbah dari industri maupun rumah tangga (Setiawan, 2013). Adanya pasang surut di daerah mangrove dapat menyebabkan kadar garam dan kandungan nutrisi berubah-ubah dan hal tersebut merupakan daerah yang disukai mikroorganisme perairan dan terrestrial (Mishra *et al.*, 2011). Pengetahuan mengenai konsentrasi unsur-unsur logam di mangrove sangat penting untuk diketahui karena dapat berpotensi terjadi kontaminasi logam dan terakumulasi pada organisme yang berada di habitat mangrove (Wang *et al.*, 2013). Penelitian mengenai bakteri yang diisolasi dari sedimen mangrove yang dapat resisten terhadap Se juga telah ditemukan, hasil dari penelitian Mishra *et al.* (2011) menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus megaterium* strain BSB6 dan BSB12 yang diisolasi dari sedimen mangrove Bhitarkanika, India dapat resisten hingga mereduksi selenit hingga pada konsentrasi 0,25 mM.

Bakteri yang terdapat pada sedimen mangrove telah diketahui memiliki kemampuan untuk mengatasi adanya kontaminasi Se berdasarkan literatur sebelumnya, maka peneliti memilih *Clungup Mangrove Concervation* (CMC) yang terletak di Kabupaten Malang dengan memanfaatkan bakteri yang terdapat pada sedimen mangrove tersebut untuk mengetahui resistensi bakteri terhadap selenium dan potensinya dalam mengakumulasi selenium. Berdasarkan uji pendahuluan terhadap konsentrasi selenium pada sedimen CMC, pada sedimen CMC terdapat rata-rata konsentrasi selenium sebesar 1.593,3 µg/L, sedangkan kadar normal kandungan selenium pada perairan yang telah ditetapkan oleh EPA (*Environmental Protection Agency*) (2016) adalah 3,1 µg/L.

Kandungan selenium yang tinggi terdapat pada CMC, membuktikan bahwa kawasan tersebut telah terkontaminasi oleh selenium dengan konsentrasi selenium yang seribu kali lipat lebih tinggi dari kadar normal. Kontaminasi selenium ini diduga juga bisa disebabkan oleh letaknya yang berdekatan dengan Pantai Sendangbiru yang merupakan pangkalan perahu para nelayan, dimana para nelayan biasa melakukan pengecatan pada perahunya. Menurut keterangan pengelola CMC, di kawasan mangrove ini juga sering ditemukan adanya sampah-sampah plastik dan bahan bakar perahu yang diduga berasal dari perahu-perahu milik para nelayan. Menurut Mostofa *et al.* (2013), pemakaian bahan bakar bensin dan aktifitas diatas perairan oleh nelayan dapat menyebabkan emisi pencemaran di laut.

Berdasarkan fakta-fakta dari beberapa literatur tersebut dapat diketahui bahwa penelitian mengenai bakteri yang resisten terhadap logam berat terutama

pada selenium sangat penting untuk dilakukan. Selain itu, penelitian mengenai bakteri resisten Se di perairan Indonesia yang masih sangat sedikit juga perlu dilakukan. Sehingga penelitian ini dikhususkan di perairan Indonesia, tepatnya pada sedimen hutan mangrove yang terdapat di Kabupaten Malang. Diketahui bahwa selenit merupakan bentuk oksanion selenium yang memiliki potensi lebih toksik dan sangat mudah teradsorpsi pada permukaan zat inorganik dan organik. Maka dari itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui bakteri yang resisten terhadap selenit dan kemampuannya dalam mengakumulasi selenit. Hal ini merupakan bentuk tanggung jawab manusia sebagai khalifah yang memiliki peran utama untuk menjaga dan merawat segala ciptaan Allah SWT termasuk lingkungan dari kerusakan akibat pencemaran logam berat.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Bakteri jenis apa yang resisten terhadap selenit?
2. Bagaimana kemampuan bakteri resisten selenium dalam mengakumulasi selenit?

1.3 Tujuan

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui bakteri yang resisten terhadap selenit.
2. Untuk mengetahui kemampuan bakteri resisten selenit dalam mengakumulasi selenit.

1.4 Manfaat

Manfaat yang didapat dari penelitian ini adalah:

1. Memberi informasi tentang jenis bakteri yang resisten terhadap selenit dan kemampuannya dalam mengakumulasi selenit.
2. Memberi informasi adanya bakteri yang berpotensi menanggulangi pencemaran selenit di lingkungan.
3. Secara teori penelitian ini dapat digunakan sebagai referensi untuk pengembangan penelitian selanjutnya.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Sampel sedimen berasal dari CMC yang diambil pada kedalaman 50-100 cm dari permukaan.
2. Penentuan stasiun berdasarkan struktur zonasi mangrove.
3. Konsentrasi sodium selenium yang digunakan adalah 0 mM, 5 mM dan 10 mM.
4. Penelitian ini hanya mengidentifikasi bakteri yang resisten pada Se dengan kadar tertinggi.
5. Media yang digunakan adalah media *Basal Salt Medium* (BSM).
6. Teknik isolasi yang digunakan adalah pengenceran bertingkat dan inokulasi dengan cara dituang secara merata (*spread plate*).
7. Identifikasi bakteri dengan menggunakan uji *microbact*.
8. Pengujian bakteri pengakumulasi terhadap logam berat menggunakan AAS.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pencemaran Logam Berat

Logam berat merupakan bahan pencemar lingkungan yang berbahaya karena bersifat toksik, tidak dapat terurai dan mudah diabsorpsi. Pada jumlah yang besar dapat mempengaruhi aspek ekologis maupun aspek biologis perairan (Rumahlatu, 2012). Pencemaran logam berat pada lingkungan perairan disebabkan oleh adanya suatu proses yang berhubungan erat dengan penggunaan logam tersebut dalam aktifitas manusia hingga menimbulkan limbah logam berat di lingkungan perairan. Aktifitas manusia yang merupakan sumber utama pemasukan logam berat adalah cairan limbah rumah tangga, limbah industri dan pertambangan (Connel & Miller, 1995). Limbah logam berat merupakan limbah yang paling berbahaya dari sekian banyak limbah yang terdapat di laut karena menimbulkan efek racun (Setiawan, 2013).

Keputusan Menteri Negara Kependudukan dan Lingkungan Hidup No.02/MENKLH/I/1988 yang dimaksud dengan polusi atau pencemaran air dan udara adalah masuk dan dimasukkannya makhluk hidup, zat, energi dan atau komponen lain ke dalam air/udara/laut dan atau berubahnya tataan air/udara/laut oleh kegiatan manusia atau oleh proses alam, sehingga kualitas air turun sampai ke tingkat tertentu yang menyebabkan air/udara menjadi kurang atau tidak berfungsi lagi sesuai dengan peruntukannya. Menurut Rompas (2010) jenis-jenis logam berat yang sering dijumpai dalam perairan pesisir dan laut yang tercemar

adalah Merkuri (Hg), Timbal (Pb), Kadmium (Cd), Arsen (As), Selenium (Se), Kobalt (Co), Nikel (Ni), Tembaga (Cu), Kromium (Cr), Seng (Zn).

Logam berat yang masuk dalam lingkungan sebagian akan terserap masuk ke dalam tanah (sedimen) dan sebagian akan masuk dalam sistem aliran sungai yang selanjutnya akan terbawa ke laut. Logam berat yang masuk dalam ekosistem laut akan mengendap ke dasar perairan dan terserap dalam sedimen (Jaibet, 2007). Logam berat yang mengendap pada dasar perairan akan membentuk sedimentasi dan hal ini akan menyebabkan biota laut yang mencari makan di dasar perairan seperti udang, kerang dan kepiting akan memiliki peluang yang sangat besar untuk terkontaminasi logam berat tersebut. Jika biota laut yang telah terkontaminasi logam berat tersebut dikonsumsi dalam jangka waktu tertentu dapat menjadi bahan racun yang akan meracuni tubuh makhluk hidup lainnya (Palar, 2008).

Toksisitas logam berat dalam lingkungan laut telah menjadi perhatian utama karena mempunyai potensi risiko yang tinggi bagi sejumlah flora dan fauna, termasuk manusia, melalui rantai makanan (Boran & Altinok, 2010). Logam berat dapat masuk ke dalam jaringan tubuh melalui berbagai saluran, yaitu saluran pernafasan, saluran pencernaan maupun penetrasi melalui kulit (Setiawan, 2013). Hasil penelitian menyatakan bahwa berbagai macam penyakit kanker pada manusia adalah akibat makanan yang mengandung logam berat dan bahan kimia. Logam berat yang masuk ke dalam tubuh manusia akan melakukan interaksi dengan enzim, protein, DNA serta zat metabolit lainnya. Adanya logam berat

dalam tubuh dengan jumlah yang berlebih jelas akan sangat berbahaya bagi tubuh (Setiawan & Subiandono, 2016).

Allah SWT berfirman dalam Al-Qur'an Surah Al-Baqarah ayat 30 yang berbunyi sebagaimana berikut:

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلَأِكَةِ 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 saat Tuhanmu mengatakan kepada malaikat bahwa “Sesungguhnya Aku akan menjadikan khalifah di muka bumi. Mereka (malaikat) berkata: “Akankah Engkau ingin menjadikan perusak lingkungan dan sering bertumpah darah? padahal kami selalu memujimu serta mensucikan-Mu. Tuhan berkata: Sesungguhnya Aku lebih tahu apa yang tidak kalian ketahui”.

Fakta bahwa pencemaran lingkungan terutama pada pencemaran logam berat yang banyak dilakukan akibat aktivitas manusia merupakan hal yang sangat disayangkan. Dikarenakan hal tersebut dapat menimbulkan kerusakan lingkungan. Menurut Qomarullah (2014), manusia di dalam ekosistem lingkungan mereka memiliki peranan yang sangat penting sebagai pengelola lingkungan. Peran fungsional inilah merupakan kepanjangan dari tangan Tuhan dalam mengelola lingkungan. Peran fungsional ekologis manusia yang demikian lazim dikenal sebagai khalifah, dalam mengelola lingkungan hakikatnya manusia berperan sebagai mandataris Allah atau kepanjangan dari tangan Tuhan. Tegasnya manusia adalah pengelola lingkungan atau penerima mandat (amanah). Sebagai khalifah, manusia juga harus menjaga kelestarian lingkungan sebagai wujud kepedulian dan rasa syukur dan bentuk ketakwaan kita kepada Allah SWT. Allah SWT berfirman dalam Al-Qur'an surah Al-A'raf ayat 56, sebagaimana berikut:

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

Artinya: *Dan janganlah kamu membuat kerusakan di muka bumi, sesudah (Allah) memperbaikinya dan berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut (tidak akan diterima) dan harapan (akan dikabulkan). Sesungguhnya rahmat Allah amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik.*

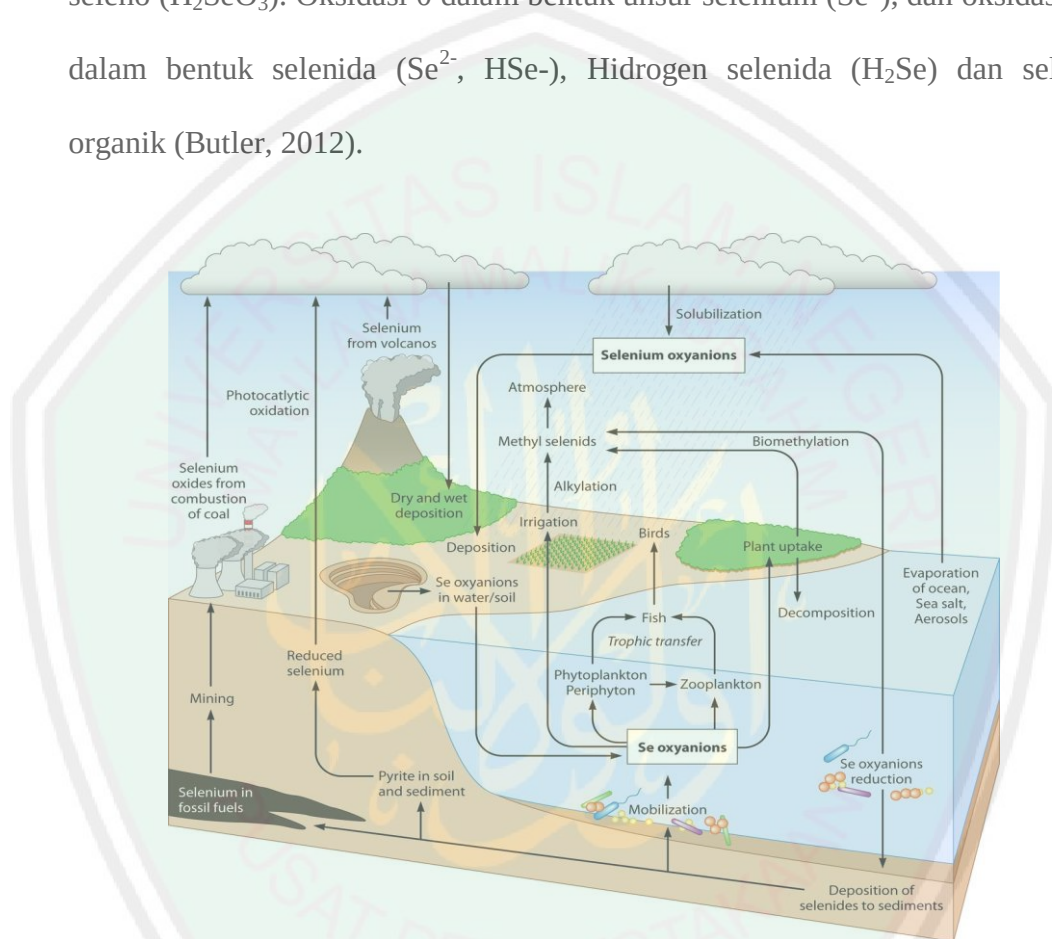
Allah SWT melarang perbuatan-perbuatan yang menyebabkan kerusakan di muka bumi dan segala hal yang merusak kelestariannya. Kerusakan-kerusakan yang terjadi pada lingkungan hingga mengganggu siklusnya yang telah tertata dapat membahayakan hamba Allah SWT. Sesungguhnya rahmat Allah selalu bersama dengan orang-orang yang berbuat kebaikan, yang menjauhi larangan-Nya dan mentaati perintah-Nya. Ayat ini juga mengingatkan kepada manusia yang memiliki kedudukan sebagai khalifah dengan kewajiban dan tanggung jawabnya terhadap lingkungan sebagai konsekuensi nikmat yang diberikan Allah Sang Pemberi rahmat, yang mana patut disyukuri dan dilindungi dengan meningkatkan kesadaran terhadap lingkungan. Tetapi seringkali manusia sebagai khalifah lupa akan posisi mereka sehingga menimbulkan kerusakan yang ada di muka bumi baik di darat maupun di laut (Qamarullah, 2014).

2.2 Selenium

2.2.1 Selenium dan Distribusi Se

Selenium adalah unsur kimia esensial bagi makhluk hidup. Selenium memiliki lambang Se dengan nomor atom 34. Selenium ditemukan sebagai unsur baru setelah ditemukan oleh Jons Jacob Berzelius seorang ahli kimia warga Swedia pada tahun 1817 saat memproduksi asam sulfurik. Namanya berasal dari *selen* yang merupakan Dewi Bulan dalam mitologi Yunani (Tan *et al.*, 2016).

Keberadaan Se di alam terdiri dalam empat bilangan valensi (-2, 0, +4, dan +6). Oksidasi (+VI) terdapat dalam bentuk selenat (HSeO_4^- , SeO_4^{2-}) dan asam selenik (H_2SeO_4). Oksidasi (+IV) dalam bentuk selenit (HSeO_3^- , SeO_3^{2-}) dan asam seleno (H_2SeO_3). Oksidasi 0 dalam bentuk unsur selenium (Se^0), dan oksidasi (-II) dalam bentuk selenida (Se^{2-} , HSe^-), Hidrogen selenida (H_2Se) dan selenida organik (Butler, 2012).



Gambar 2.1 Siklus selenium secara global di alam (Nancharaiah & Lens, 2015a)

Selenium terbentuk secara alami di lingkungan dalam bentuk organik dan anorganik. Selenium (Se^0), selenida (Se^{2-} atau H_2Se), selenit (SeO_3^{2-}) dan selenat (SeO_4^{2-}) merupakan selenium dalam bentuk anorganik. Sedangkan Se dalam bentuk organik diantaranya adalah selenomethionin (SeMet), selenosistein dan selenoprotein (Bodnar *et al.*, 2012). Selenium secara alami tidak terlarut,

sedangkan selenit dan selenat merupakan selenium oksianion yang terlarut dalam air dan bersifat toksik, bahkan selenit berpotensi lebih toksik dibandingkan selenat (Vesper *et al.*, 2008; Mishra *et al.*, 2011; Kieliszek & Błażej, 2013).

Selenium adalah unsur yang dapat ditemukan di berbagai lapisan alam seperti di bebatuan, tanah, perairan, dan di atmosfer (Gambar 2.1). Selenium dilepaskan di lingkungan dari sumber-sumber alami dan antropogenik. Salah satu sumber alami yang merupakan sumber pelepasan selenium adalah lokasi geokimia seperti gunung berapi dan berbagai jenis batuan beku. Aktivitas manusia seperti pertambangan, pembakaran bahan bakar, pertanian, dan bahan bakar nuklir juga dapat melepaskan Se di atmosfer, tanah dan perairan dalam bentuk yang dapat larut seperti SeO_4^{2-} dan SeO_3^{2-} . Siklus selenium berpindah dari bebatuan, sedimen dan tanah ke air hingga masuk ke dalam tumbuhan, hewan dan manusia melalui rantai makanan. Selenium diasimilasi dari selenat atau selenit oleh mikroba dan tumbuhan di jaringan makanan yang paling dasar sesudah itu diasimilasi oleh hewan. Kemudian diasimilasi oleh makhluk hidup ke dalam bentuk organoselenida atau selenoprotein. Dekomposisi oleh organisme yang mati juga melepaskan Se kembali ke lingkungan. Aktivitas dan degradasi organisme juga memungkinkan terjadinya penggabungan selenium dan sedimen hingga terjadi pengendapan. Mikroorganisme memiliki peran yang sangat penting pada siklus senyawa selenium di alam (Nanchaiaiah & Lens, 2015a; Tan *et al.*, 2016).

2.2.2 Polusi dan Toksisitas Selenium

Penelitian mengenai selenium mendapatkan perhatian yang meningkat karena tidak hanya untuk kepentingan selenium secara biologis sebagai elemen

esensial tapi juga potensi polusi selenium yang menyebabkan kerusakan ekologi secara signifikan (Brozmanová *et al.*, 2010). Secara alami selenium sangat terkait dengan mineral yang mengandung belerang, pirit dan fosil karena menyumbang emisi 50-60% selenium ke atmosfer akibat adanya proses alami seperti pelapukan dan pencucian tanah (Sharma *et al.*, 2015). Namun, aktifitas manusia merupakan penyebab utama untuk mobilisasi dan akumulasi selenium di lingkungan dengan persentase 37-40% dari total selenium yang teremisi ke atmosfer akibat aktifitas antropogenik (Wen & Carignan, 2007). Selenium adalah sebagian besar produk sampingan dari kilang logam (misalnya tembaga) dan pabrik pengolahan (misalnya produksi asam sulfat). Akitifitas seperti industri pembakaran batu bara, penambangan, pembuatan kaca, industri elektronik dan perminyakan, pemanfaatan batuan fosfat sebagai pupuk dan pengolahan air limbah pertanian merupakan beberapa aktifitas antropogenik yang dapat menyebabkan terjadinya emisi selenium (Nancharaiah & Lens, 2015b).

Tingginya tingkat kecacatan embrio dan kematian di biota perairan dan satwa liar lainnya yang diakibatkan oleh kontaminasi Se telah tercatat di *Kesterson National Wildlife Reservoir* di Kalifornia. Aktifitas pertambangan fosfat yang berlebihan di *Blackfoot River Watershed* di Idaho telah meningkatkan secara substantial tingkat selenium di sungai (Myers, 2013). Paparan Se yang berlebihan pada hewan akan menyebabkan efek buruk yang lebih berat termasuk perlambatan pertumbuhan, penyakit hati, pembesaran limpa dan pankreas, anemia, dan berbagi kelainan pada fungsi reproduksi (Liu & Thomas, 2010).

Gejala keracunan Se akut dihubungkan dengan asupan sangat tinggi, antara 3200-6700 $\mu\text{g}/\text{hari}$, sedangkan batas maksimal perhari pada orang dewasa hanya mencapai 400 $\mu\text{g}/\text{hari}$. Dampak selenium pada konsentrasi tinggi telah tercatat pada buku *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2003, dijelaskan bahwa selenium pada konsentrasi tinggi dapat menghambat pertumbuhan dan kerontokan rambut pada hewan karena memakan gandum yang mengandung sodium selenit sebanyak 6,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$, sedangkan pada konsentrasi 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ menyebabkan pembesaran pankreas, anemia, dan diikuti dengan kematian. Sodium selenat yang diaplikasikan pada air minum tikus juga dapat menyebabkan kematian janin dan penurunan fertilitas. Sedangkan selenium sulfida yang bersifat karsinogenik dapat menyebabkan tumor hati pada tikus.

2.3 Bioremediasi

Bioremediasi didefinisikan sebagai teknologi yang menggunakan mikroba untuk mengolah (*cleaning*) dari kontaminan melalui mekanisme biodegradasi secara alamiah (*intrinsic bioremediation*) atau untuk meningkatkan mekanisme biodegradasi alamiah dengan penambahan mikroba, nutrien, elektron donor dan akseptor donor elektron (*enhanced bioremediation*) (Nugroho, 2006). Bioremediasi adalah proses stimulasi mikroorganisme secara tepat untuk menurunkan polutan organik yang berbahaya ke tingkat yang aman bagi lingkungan di tanah, sedimen, zat, bahan, dan air tanah (Fulekar, 2009). Mikroorganisme yang digunakan sebagai agen bioremediator adalah khamir, jamur (micoremediasi), *yeast*, alga dan bakteri. (Singh, 2014).

Proses bioremediasi diantaranya adalah biotransformasi, biodegradasi, dan biokatalis. Biotransformasi atau biodegradasi adalah proses perubahan senyawa toksik menjadi senyawa yang kurang toksik atau tidak toksik. Pada proses ini enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme memodifikasi polutan beracun dengan mengubah struktur kimia polutan tersebut. Enzim mempercepat proses tersebut dengan cara menurunkan energi aktivasi, yaitu energi yang dibutuhkan untuk memulai suatu reaksi (Singh, 2014). Proses bioremediasi bergantung pada mikroorganisme yang secara enzimatik untuk menyerang polutan dan mengubahnya menjadi produk yang tidak berbahaya. Karena bioremediasi hanya bisa efektif bila kondisi lingkungan memungkinkan untuk pertumbuhan dan aktivitas mikroba, penerapannya seringkali melibatkan manipulasi parameter lingkungan untuk memungkinkan pertumbuhan mikroba dan laju degradasi berlanjut menjadi lebih cepat (Chandrakant, 2011).

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

2.3.1 Macam-Macam Bioremediasi

Menurut Shukla (2010) teknik bioremediasi dibagi menjadi tiga kategori yaitu: *in situ*, *ex situ* padat dan *ex situ* bubur (*slurry*). Bioremediasi *in situ* yaitu proses pengelolaan limbah di lokasi limbah itu berada dengan mengandalkan kemampuan mikroorganisme yang telah ada di lingkungan tercemar untuk

mendegradasinya, sedangkan Bioremediasi *ex situ* yaitu bioremediasi yang dilakukan dengan mengambil limbah di suatu lokasi lalu ditreatment di tempat lain, setelah itu baru dikembalikan ke tempat asal. Kemudian diberi perlakuan khusus dengan memakai mikroba. Bioremediasi ini bisa lebih cepat dan mudah dikontrol dibanding *in situ* dan mampu meremediasi jenis kontaminan pada jenis tanah yang lebih beragam. Pemilihan teknologi yang tepat untuk strategi pengembangan bioremediasi dalam mengobati kontaminan bergantung pada tiga prinsip dasar, yaitu amenabilitas polutan terhadap transformasi biologis (biokimia), aksesibilitas kontaminan terhadap mikroorganisme (bioavailabilitas) dan kesempatan untuk optimalisasi aktivitas biologis (bioaktivitas).

2.3.2 Faktor - Faktor yang Mempengaruhi Bioremediasi

Munawar (2012) mengatakan bahwa keberhasilan pengoptimalan kondisi lingkungan yang sesuai dengan aktivitas mikroba perombak, misal: suhu, pH, nutrisi untuk tumbuh dan ketersediaan oksigen. Suhu optimum untuk penurunan logam berat adalah 35 – 37 °C dan pH optimum adalah 7-8. Kebutuhan oksigen optimum reaksi penguraian secara aerobik adalah lebih besar dari 0,2 mg/l dengan propositas minimal 10%. Sedangkan untuk penguraian secara anaerobik kebutuhan oksigennya kurang dari 0,2 mg/l dan propositas kurang dari 1% (El-Shanshoury, 2013). Oksigen dalam kondisi aerobik berperan sebagai akseptor elektron yang akan menampung kelebihan elektron dari reaktan. Laju bioremediasi akan menurun jika oksigen berkurang. Namun, kebutuhan oksigen dapat disuplai dengan pengadukan berkala (Andriani, 2001).

Mikroorganisme dapat berasal dari daerah yang terkontaminasi atau dapat diisolasi dari tempat lain dan dibawa ke tempat yang terkontaminasi. Senyawa yang terkontaminasi ditransfer oleh organisme hidup melalui reaksi yang terjadi sebagai bagian dari proses metabolisme mereka. Biodegradasi senyawa seringkali merupakan akibat dari tindakan beberapa organisme. Ketika mikroorganisme diimpor ke tempat yang terkontaminasi untuk meningkatkan degradasi, prosesnya disebut sebagai "Bioaugmentasi". Mikroorganisme dengan kapasitas genetik untuk mengubah senyawa yang diminati harus ada dalam metabolisme kontaminan dalam proses terjadinya bioremediasi. Dalam kasus tertentu, penambahan organisme yang disesuaikan dengan kontaminan tertentu, atau bioaugmentasi karena dapat menurunkan durasi fase lag (Gupta, 2003).

2.4 Bakteri Sebagai Agen Bioremediasi

Bakteri merupakan organisme mikroskopis yang mempunyai ciri-ciri: tubuh uniseluler, tidak berklorofil, bereproduksi dengan membelah diri, habitatnya dimana-mana (tanah, air, udara, dan makhluk hidup), diameternya 0,1-0,2 μm , bakteri aktif bergerak pada kondisi lembab. Beberapa bentuk bakteri yaitu basil, kokus dan spirillum. Bentuk-bentuk tersebut dapat menunjukkan karakteristik spesies bakteri, tetapi bergantung pada kondisi pertumbuhannya. Hal ini dipengaruhi oleh keadaan lingkungan, medium, dan bakteri (Edukasi, 2008). Makhluk hidup yang toleran terhadap logam berat mungkin mengandung logam dengan kepekatannya dua atau tiga kali lebih besar daripada normal. Bakteri resisten terhadap logam berat memiliki mekanisme untuk bertahan hidup antara

lain berupa proses bioakumulasi, biopresipitasi, methilasi dan bioreduksi (Yajid, 2007).

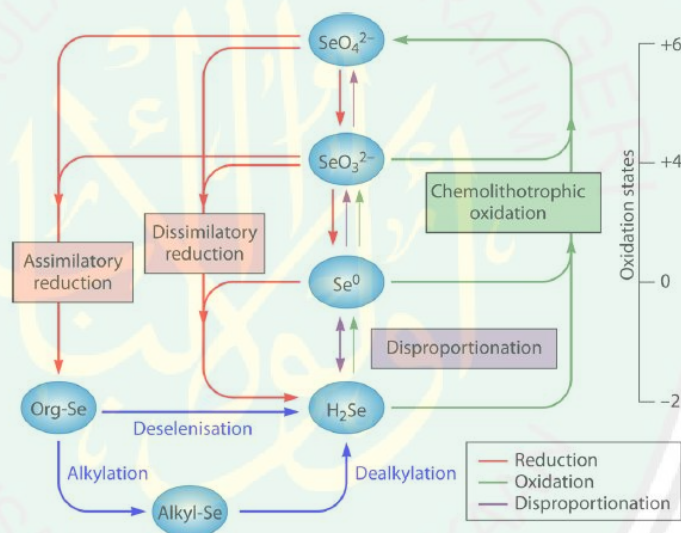
Anggota dari domain Archaea dan bakteri dapat menggunakan selenium oksianion (SeO_4^{2-} dan SeO_3^{2-}) sebagai akseptor terminal eletron dan mereduksi selenat dan selenit larut menjadi unsur selenium tidak larut melalui reduksi dissimilatori dibawah kondisi anaerob. Dibawah kondisi aerobik atau mikroaerofilik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

Saat ini sudah banyak penelitian yang dilakukan untuk mengatasi polusi dan pencemaran Se di lingkungan, diantaranya adalah dengan memanfaatkan bakteri sebagai agen bioremediasi Se. *Pseudomonas stutzeri* dan *Pseudomonas fluorescens* yang diisolasi dari lingkungan yang tidak terjadi pencemaran Se memiliki kemampuan mereduksi hingga 5 mM selenat menjadi selenit dalam

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

Shewanella oneidensis MR-1 mutan pereduksi selenit tidak mampu tumbuh secara anaerobik dengan Fe(III), NO_3^- , NO_2^- , SO_3^{2-} , Mn(IV), atau fumarat sebagai aseptor elektron terminal tunggal, yang menyarankan hubungan reduksi selenit dan pernafasan anaerobik. Kemudian dilakukan eksperimen mengenai jalur pernapasan anaerob pada *Shewanella oneidensis* MR-1 (Gambar 2.2). Strain mutan yang rusak di dalam reduktase terminal periplasma (NapA, NrfA, FccA), dan periplasma mediator respirasi anaerob (MtrA dan DmsE) kemudian di uji kemampuannya dalam mereduksi selenit. Kemudian diketahui strain tersebut dapat mereduksi selenit pada proses transport elektron dimulai dengan adanya oksidasi laktat melepaskan elektron dalam bentuk NADH yang disalurkan ke

Tingkat reduksi selenit menurun pada konsentrasi awal yang tinggi yaitu 600 $\mu\text{g/ml}$. Dengan meningkatnya konsentrasi maka reduksi selenit menurun. Reduksi selenit maksimum terjadi pada *B. lincheniformis* dan *B. subtilis* pada konsentrasi awal selenit terendah. *B. lincheniformis* mereduksi sekitar 90% pada konsentrasi 0,4 $\mu\text{g/L}$, sedangkan *B. subtilis* sekitar 85% dari konsentrasi awal selenit 200 $\mu\text{g/L}$. Berbeda jauh dengan *Exiguobacterium* sp. dan *Pseudomonas pseudoalcaligenes* yang hanya memiliki kemampuan mereduksi 20-60 % setelah 48 jam inkubasi pada suhu 37°C (Javed, 2016).



Gambar 2.3 Transformasi Se di alam oleh Bakteri Pereduksi Selenium (Se-RB) (Nancharaiah, 2015a)

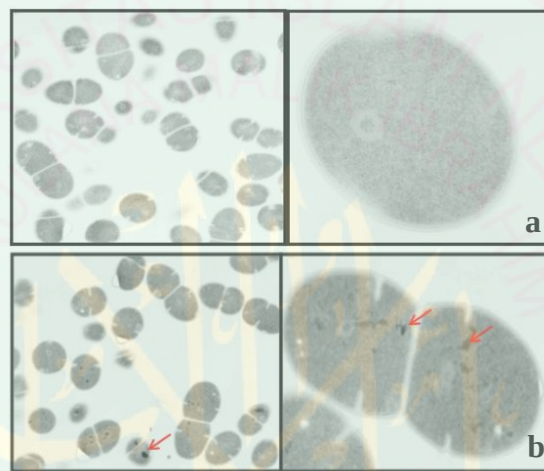
Anggota dari domain Archaea dan bakteri dapat menggunakan selenium oksianion (Se_4^{2-} dan Se_3^{2-}) sebagai akseptor terminal elektron dan mereduksi selenat dan selenit larut menjadi selenium unsur tidak larut melalui reduksi dissimilatori dibawah kondisi anaerob (Gambar 2.3). Dibawah kondisi aerobik atau microaerofilik selenium oksianion juga dapat direduksi menjadi selenium

elemental menggunakan berbagai strain bakteri, melalui detoksifikasi atau homeostasis redok pada bakteri fototropik, namun kali ini tidak akan dijelaskan lebih lanjut. Unsur selenium dapat dikurangi secara mikrobiologis lebih lanjut menjadi selenida terlarut, yang dikombinasikan dengan ion logam membentuk selenida logam yang tidak larut. Selenida juga dapat dipancarkan sebagai H_2Se yang mudah menguap dan sangat reaktif, namun hal ini secara spontan dan cepat teroksidasi menjadi unsur selenium dengan adanya oksigen. Transformasi mikroba pereduksi selenium pada siklus Se, mengubah Se oksianion beracun (Se_4^{2-} dan Se_3^{2-}) yang larut dalam air menjadi selenida atau Se elemen yang sedikit larut. Hal ini merupakan dasar yang menjanjikan untuk dilakukannya bioremediasi terhadap kontaminasi selenium di perairan (Nancharaiah, 2015a).

2.4.1 Kemampuan Bakteri dalam Mengakumulasi Logam Berat

Bioakumulasi merupakan salah satu teknik bioremediasi untuk menghilangkan logam berat. Bioakumulasi adalah interaksi aktif antara logam berat dengan sel mikroorganisme dimana ion logam akan berpenetrasi ke dalam sel-sel mikroorganisme tersebut (Chipasa, 2003). Beberapa penelitian mengenai biokumulasi selenium telah dilakukan, diantaranya oleh Pieniz *et al.* (2017), dapat diketahui bahwa bakteri *Enterococcus durans* memiliki kemampuan mengakumulasi Se hingga konsentrasi 30.000 $\mu g/L$ yang dapat diketahui dari total ikatan protein pada sel bakteri tersebut (Gambar 2.4). Logam berat dapat terakumulasi oleh bakteri pada membran sel (ekstraseluler) dan pada sitoplasma (intraseluler). Bioakumulasi ekstraseluler dapat terjadi akibat adanya pengikatan ion-ion logam oleh polimer ekstraseluler atau polisakarida ekstraseluler yang

dihasilkan oleh sel-sel mikroba dan adanya komplikasi antara ion-ion logam bermuatan positif dengan sisi reaktif permukaan yang bermuatan negatif. Akumulasi secara intraseluler oleh mikroba terjadi karena adanya proses difusi yang tidak membutuhkan aktifitas mikroba secara langsung karena telah dikendalikan oleh gen-gen pengendali plasmid pada proses metabolisme tersebut (Aminah, 2009).



Gambar 2.4 Transmisi mikroskop eletron bakteri *Enterococcus durans* yang dikultivasi tanpa sodium selenit (a), pengayaan *E.durans* yang dikultivasi dengan 15 µg/L sodium selenit (b), tanda panah menunjukkan adanya granul Se didalam sel (Pieniz *et al.*, 2017)

2.5 Ekosistem Mangrove

2.5.1 Pengertian

Kata mangrove merupakan perpaduan bahasa Melayu manggi-manggi dan bahasa Arab *el-gurm* menjadi *mang-gurm*, keduanya sama-sama berarti *Avicennia* (api-api), pelatiran nama dari Ibnu Sina, seorang dokter Arab yang banyak mengidentifikasi manfaat obat tumbuhan mangrove. Kata mangrove dapat ditujukan untuk menyebut spesies, tumbuhan, hutan, atau komunitas. Kata mangrove merupakan perpaduan bahasa Portugis *mangue* (tumbuhan laut) dan

bahasa Inggris *grove* (belukar), yakni belukar yang tumbuh di tepi laut (Setyawan, 2008).

Mangrove merupakan hutan lahan basah pesisir yang terdapat pada zona intertidal pada estuari, delta, anak sungai, laguna, rawa-rawa, lumpur khususnya di daerah tropis dan subtropis. Ekosistem mangrove adalah suatu sistem di alam yang mencerminkan hubungan timbal balik antara makhluk hidup dengan lingkungannya dan diantara makhluk hidup itu sendiri, terdapat pada wilayah pesisir, terpengaruh pasang surut air laut, dan didominasi oleh spesies pohon atau semak yang khas dan mampu tumbuh pada perairan asin atau payau (Sahoo & Dhal, 2008).

2.5.2 Karakteristik Mangrove

Vegetasi mangrove memiliki adaptasi anatomi dalam merespon berbagai kondisi ekstrim tempat tumbuhnya, seperti (1) adanya kelenjar garam pada golongan secrete, dan kulit yang mengelupas pada golongan non-secrete sebagai tanggapan terhadap lingkungan yang salin (2) sistem perakaran yang khas, dan lentisel sebagai tanggapan terhadap tanah yang jenuh air, (3) struktur dan posisi daun yang khas sebagai tanggapan terhadap radiasi sinar matahari dan suhu yang tinggi (Onrizal, 2005).

Karakteristik habitat ekosistem mangrove dapat dilihat dari berbagai aspek seperti iklim, temperatur, salinitas, curah hujan, geomorfologi, hidrologi, dan drainase. Secara umum, karakteristik mangrove digambarkan sebagai berikut (Bengen, 2001):

- a. Umumnya tumbuh pada daerah intertidal yang jenis tanahnya berlumpur, berlempung, dan berpasir.
- b. Daerahnya tergenang air laut secara berkala, baik setiap hari maupun yang hanya tergenang pada saat pasang purnama. Frekuensi genangan menentukan komposisi vegetasi mangrove.
- c. Menerima pasokan air tawar yang cukup dari darat.
- d. Terlindungi dari gelombang besar dan arus pasang surut yang kuat. Air bersalinitas payau (2–22%) hingga asin (38%), contohnya muara sungai dan daerah pantai.

Produksi total dari serasah dalam bentuk dedaunan, ranting-ranting, cabang-cabang, bunga-bunga dan buah-buahan adalah 7-14 ton.ha⁻¹.tahun⁻¹ (Jimenez *et al.*, 1985) dan membentuk dasar dari jaring-jaring makanan yang kompleks termasuk invertebrata dan Serasah yang jatuh akan mengalami proses dekomposisi oleh mikroorganisme menjadi detritus. Semakin banyak serasah yang dihasilkan dalam suatu kawasan mangrove maka semakin banyak pula detritus yang dihasilkan. Produksi serasah merupakan bagian yang penting dalam transfer bahan organik dari vegetasi ke dalam tanah. Unsur hara yang dihasilkan dari proses dekomposisi serasah di dalam tanah sangat penting dalam pertumbuhan mangrove dan sebagai sumber detritus bagi ekosistem laut dan estuari dalam menyokong kehidupan berbagai organisme akuatik (Zamroni dan Rohyani, 2008).

Detritus bakau menyumbang kira-kira 16-20% kebutuhan energi bagi organisme bentos yang ada didekat pantai (Boto *et al.*, 1991). Sementara 30-80%

seresah bakau dikonsumsi langsung, hara yang lengkap dan karena itu energi yang dapat dikonsumsi ke perairan terbuka tentu benar-benar untuk sangat dimanfaatkan di area bakau. Meskipun demikian, pada area-area yang lebih terlindungi, proses-proses akumulasi dengan bahan-bahan neretik bahkan menjadi terakumulasi di area-area bakau, adalah benar (Goltenboth *et al.*, 2012).

2.5.3 Struktur Zonasi Mangrove

Struktur dan fungsi ekosistem mangrove, komposisi dan distribusi spesies, serta pola pertumbuhan organisme mangrove sangat tergantung pada faktor-faktor lingkungan. Faktor lingkungan yang mempengaruhi mangrove dalam jangka panjang adalah fluktuasi pasang surut dan ketinggian rata-rata permukaan laut. Adapun keseluruhan faktor yang mempengaruhi ekosistem mangrove mencakup: topografi dan fisiografi pantai, tanah, oksigen, nutrisi, iklim, cahaya, suhu, curah hujan, angin dan gelombang laut, pasang-surut laut, serta salinitas. Sementara itu kondisi ekosistem mangrove yang kaya bahan organik merupakan habitat yang mendukung untuk pertumbuhan mikroorganisme. Keberadaan mikroorganisme pada ekosistem mangrove erat kaitannya dengan kestabilan ekosistem dimana mikroorganisme berperan dalam siklus biogeokimia (Uno *et al.*, 2012).

Secara umum mangrove tumbuh dalam 3 zona, yaitu zona depan, zona tengah dan zona belakang, sebagaimana berikut (Gambar 2.5) (Nugraha, 2011):

1. Zona depan

Zona ini merupakan zona yang terletak paling dalam dan berbatasan langsung dengan daratan. Frekuensi tergenang lebih sedikit dibanding tidak tergenang dengan sedimen berupa tanah liat lumpur. Zona ini

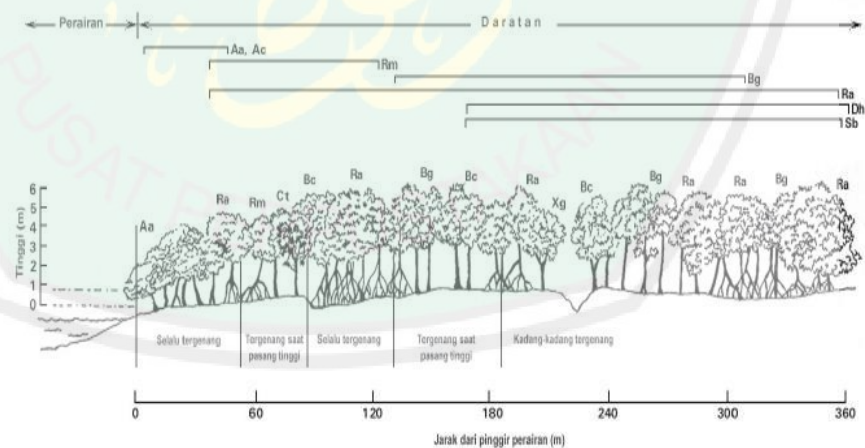
juga merupakan zona transisi antara hutan mangrove dengan hutan pantai.

2. Zona tengah

Zona tengah merupakan zona yang terletak di bagian tengah vegetasi mangrove. Zona ini memiliki karakteristik terlindung dari hempasan ombak dan berlumpur tebal. Zona ini umumnya berkembang pada daerah intertidal yang luas yaitu tergenang pada waktu pasang dan tidak tergenang pada saat surut, tetapi jumlah tergenang lebih tinggi daripada tidak tergenang.

3. Zona Belakang

Zona depan merupakan daerah yang berhadapan langsung dengan laut. Zona ini umumnya ditumbuhi oleh jenis-jenis mangrove yang mampu beradaptasi dengan salinitas tinggi.



Gambar 2.5 Pola zonasi mangrove (Nugraha, 2011)

2.6 Clungup Mangrove Conservation (CMC)

Clungup Mangrove Concervation (CMC) merupakan Hutan Mangrove yang berada di Dusun Sendangbiru, Desa Tambakrejo, Kabupaten Malang, Jawa Timur. CMC biasa disebut dengan Hutan Mangrove Sendang Biru karena letaknya berada di Dusun Sendang Biru dan Pantai Celungup saja karena berada di area Pantai Celungup sebelum kawasan tersebut oleh warga setempat diberi nama *Clungup Mangrove Concervation*. CMC merupakan kawasan dengan topografi pesisir berupa perairan semi tertutup berbentuk seperti laguna dengan aliran air masuk maupun keluar berada pada satu lokasi (Bhakti Alam, 2016).

Berdasarkan penelitian Saptarini *et al.* (2010), Zonasi hutan mangrove Pantai Celungup banyak didominasi oleh jenis *Bruguiera gymnorrhiza*, *Ceriops tagal* dan *Rhizophora mucronata*. Hutan mangrove di Sendang Biru (Pantai Celungup) memiliki ketebalan yang cukup tinggi $\pm 0,76$ km atau $\pm 756,82$ m walaupun di beberapa area terlihat adanya penebangan oleh penduduk sekitar terutama jenis *Ceriops tagal* dan *Bruguiera gymnorrhiza* untuk dimanfaatkan kayunya. Dengan adanya aktifitas penebangan yang cukup intensif tersebut, maka perlu adanya upaya konservasi mangrove beserta fauna asosiasinya. Perubahan kawasan hutan mangrove menjadi areal untuk kepentingan lain akan menimbulkan dampak negatif bagi ekosistem mangrove itu sendiri serta biota-biota yang hidup di dalamnya, termasuk fauna Moluska kelas Gastropoda, yang memanfaatkan mangrove sebagai habitat dan fungsi ekologi lainnya.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dimulai pada bulan Juli sampai dengan bulan Desember 2017. Pengambilan sampel dilaksanakan di Clungup *Mangrove Concervation* (CMC), Dusun Sendangbiru, Desa Tambakrejo, Kabupaten Malang, Jawa Timur. Pengamatan bakteri pereduksi Selenium dilaksanakan di Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif karena data hasil penelitian berupa data deskriptif yang meliputi karakteristik mikroskopis, makroskopis, hasil identifikasi bakteri menggunakan *microbact* dan data uji kemampuan bakteri dalam mengakumulasi selenium. Bakteri yang diuji adalah bakteri yang telah diisolasi dan terbukti resisten terhadap selenium. Penelitian ini juga menggunakan jenis penelitian eksperimental untuk mengetahui pengaruh selenium dalam konsentrasi berbeda terhadap isolat bakteri yang dapat mengakumulasi selenium.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan petri, *beaker glass*, gelas ukur, erlenmeyer, tabung reaksi, rak tabung reaksi, penjepit tabung reaksi, corong gelas, pipet tetes, pipet ukur, bola hisap, alat destruksi, autoklaf, *oven*, neraca analitik, pensil, spidol, penggaris, kamera, termometer, pH-meter,

cool box, sprayer, gunting, spatula, botol sampel, lemari pendingin, jerigen, hotplate, stirrer, inkubator, Laminar Air Flow (LAF), bunsen, korek api, mikropipet, blue tip, rak blue tip, yellow tip, rak yellow tip, microtube, eppendorf, millipore, spuit, botol scott, pinset, tusuk gigi steril, jarum ose, batang penebar, mikroskop, object glass, cover glass, shaker incubator, vortex mixer, freezer, spektrofotometer, kuvet, botol cuci, kit Microbact GNB 12A dan 12 B, sentrifugator, tabung sentrifus, dan Atomic Absorbansi Spectrofotometer (AAS).

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *Basal Salt Medium* (BSM) dalam 1 L terdiri dari komposisi: K_2HPO_4 0.5 g, NH_4CL 1 g, $NaCl$ 0.05 g, $MgCl_2 \cdot 7H_2O$ 0.2 g, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 0.01 g, $CaCl_2$ 0.01 g, Na_2SO_4 0.05 g, H_3BO_3 0.06 g, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 0.1 g, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.12 mg, $ZnCl_2$ 0.07 mg, $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.025 mg, $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.015 mg, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 0.025 mg, *Nitritotriacetic acid* 0.216 g, *Bacto Yeast Extract* 0.02 g, dan Agar 17 g, Na_2SeO_3 (Sodium Selenit) (Ayano *et al.*, 2014), HNO_3 , pewarnaan gram (larutan gentian violet, larutan iodium, larutan safranin, alkohol 96%), garam fisiologis, *mineral oil*, *lysin*, *omitin*, H_2S , *Microbact Reagen Set D* (TDA, VPI, VPIL, Nitrate A, Nitrate B, Indole), Aquades steril, Alkohol 70%, aluminium foil, plastik wrap, tissue, masker, kertas, spirtus, kapas, kasa, kertas label, plastik, karet gelang, cooler dan sampel sedimen dari CMC.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian harus disterilisasi terlebih dahulu untuk menghindari kontaminasi. Sterilisasi dilakukan

dengan cara mencuci alat-alat hingga bersih kemudian dikeringkan. Alat-alat gelas dimasukan ke dalam plastik dan diikat dengan rapat untuk menghindari kontaminasi, sedangkan untuk cawan petri dibungkus dengan kertas terlebih dahulu sebelum dimasukan ke dalam plastik. Langkah selanjutnya, semua alat dan bahan dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121 °C dengan tekanan 1 atm selama 20 menit (Xia *et al.*, 2007).

3.4.2 Pengambilan sampel

Pengambilan sampel sedimen dilakukan di CMC yang merupakan kawasan konservasi mangrove. Sedimen yang diambil adalah sedimen yang terdapat pada kedalaman 50-100 cm dari permukaan. Sedimen diambil menggunakan spatula yang telah disterilkan dan dimasukkan kedalam mikrotub steril secara cepat. Sampel dikumpulkan dan parameter psikologis seperti suhu dan pH dicatat. Sampel dimasukkan ke dalam botol sampel yang telah disterilkan (Fahrudin, 2009). Kemudian sampel dibawa ke laboratorium untuk analisa dan disimpan pada *cool box* dengan suhu 4 °C sampai proses lebih lanjut (Narasingarao & Häggblom, 2007). Daerah pengambilan sampel di CMC dibagi menjadi III Stasiun berdasarkan dengan struktur zonasi *mangrove* yang memiliki karakteristik sebagaimana berikut (Gambar 3.1):

1. Stasiun I

1. Zona ini merupakan zona yang terletak paling dalam dan berbatasan langsung dengan daratan. Frekuensi tergenang lebih sedikit dibanding tidak tergenang dengan sedimen berupa tanah liat lumpur. Zona ini

juga merupakan zona transisi antara hutan mangrove dengan hutan pantai.

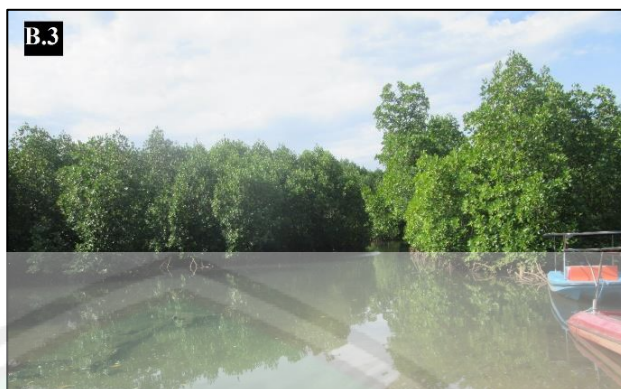
2. Stasiun II

Zona Tengah, zona ini merupakan zona yang terletak di bagian tengah vegetasi mangrove. Terlindung dari hempasan ombak dan berlumpur tebal. Umumnya berkembang pada daerah intertidal yang luas yaitu tergenang pada waktu pasang dan tidak tergenang pada saat surut, tetapi jumlah tergenang lebih tinggi daripada tidak tergenang.

3. Stasiun III

Zona depan, zona ini merupakan daerah yang berhadapan langsung dengan laut. Umumnya ditumbuhi oleh jenis-jenis mangrove yang mampu beradaptasi dengan salinitas tinggi.





Gambar 3.1 A) Peta satelit lokasi stasiun pengambilan sampel (Google Maps, 2017), B 1-3) Stasiun Pengamatan I-III (Dokumen Pribadi)

3.4.3 Pembuatan Media

Media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri pada penelitian ini adalah *Basal Salt Medium* (BSM). Media ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass*, selanjutnya ditambahkan aquades sampai 1 liter, kemudian dipanaskan di atas *hotplate* sampai mendidih dan dihomogenkan menggunakan *stirrer*. Setelah homogen, media dituang ke dalam erlemeyer dan ditutup dengan kapas yang dibungkus kasa dan dibungkus plastik *wrap*, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C tekanan 1 atm.

Media yang sudah steril kemudian didiamkan dalam lemari pendingin selama 1 x 2 jam untuk melihat ada tidaknya kontaminasi. Kemudian media yang telah steril dipanaskan dengan *hotplate* sampai mencair dan dituangkan ke cawan petri sesuai dengan perlakuan. Media di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk mengetahui adanya kontaminan. Setelah itu, media yang tidak kontaminan dipilih untuk digunakan pada langkah selanjutnya.

Media selanjutnya yang akan digunakan adalah media standart. Media ini digunakan sebagai media uji biokumulasi dan kurva pertumbuhan bakteri. Media

BSM ditimbang kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer dan ditambahkan 1 liter aquades. Selanjutnya dipanaskan diatas *hotplate* dan dihomogenkan menggunakan *stirrer* hingga mendidih. Kemudian erlenmeyer ditutup menggunakan kapas yang dibungkus kasa. Erlenmeyer berisi media standart yang telah homogen tersebut disterilisasi menggunakan autoklaf selama 2 jam pada suhu 121 °C tekanan 1 atm.

3.4.4 Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri pada penelitian ini menggunakan teknik pengenceran bertingkat. Pengenceran bertingkat dimulai dengan mengambil 1 g sampel sedimen ditambahkan pada 10 ml aquades steril. Pengenceran bertingkat dilakukan sampai 10^{-5} mengacu pada prosedur yang telah dilakukan oleh Al-Zereini (2014). Kemudian pada pengenceran 10^{-5} diambil 20 μ l untuk diinokulasikan pada media BSM yang mengandung Na_2SeO_3 dengan konsentrasi yang berbeda yaitu: 0 mM, 5 mM, dan 10 mM dengan cara dituang secara merata (*spread plate*). Kemudian media diinkubasi pada suhu 37 °C selama 7x24 jam. Menurut Mishra *et al.* (2011) warna oranye kemerahan atau merah pada koloni bakteri adalah ciri-ciri bahwa bakteri memiliki kemampuan untuk mereduksi selenit menjadi selenium elemental. Koloni yang tumbuh kemudian diamati dan dihitung dengan menggunakan *colony counter*.

3.4.5 Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri yang telah diisolasi dari sedimen dilakukan dengan mengidentifikasi isolat bakteri terpilih yang resisten terhadap selenit dengan menggunakan *microbact* yang mengacu pada *Bergey's Manual of Determinative*

Bacteriology. Identifikasi juga dilakukan dengan mengamati karakteristik secara mikroskopis dan makroskopis yang dilakukan berdasarkan bentuk koloni, permukaan koloni, tepi koloni dan warna koloni. Sedangkan pengamatan mikroskopis berdasarkan pewarnaan gram.

3.4.5.1 Identifikasi spesies menggunakan *microbact*

Identifikasi menggunakan kit *Microbact* 12A/ 12E atau 24E dan mengacu pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, koloni bakteri terlebih dahulu diuji oksidasinya (Oxoid, 2014). Prinsip kerja dari *Microbact* yaitu dengan mereaksikan suspensi isolat ke dalam sumur-sumur yang telah berisi sumber karbon dan senyawa-senyawa biokimia lain yang berjumlah 12 jenis. Isolat bakteri yang berumur 24 jam diambil dengan ose, kemudian dilarutkan ke dalam 5 ml garam fisiologis 0,9% pada tabung reaksi steril dan divortex hingga homogen yang sebelumnya telah dilakukan uji gram dan uji oksidasi. Jika hasil uji gram positif maka dilakukan beberapa pengujian secara manual hingga ditemukan hasil identifikasi sampai tingkat spesies. Jika isolat menunjukkan hasil gram negatif, maka hasil dari angka-angka oktal yang dimasukkan ke *software* akan menunjukkan hasil identifikasi sampai tingkat spesies. Selanjutnya larutan bakteri yang telah homogen diteteskan ke dalam sumur *Microbact* sebanyak 100 µl untuk sumur *Lysin*, *Omitin*, dan H_2S ditambah dengan *mineral oil* sebanyak 1-2 tetes. Selanjutnya *Microbact* diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. *Microbact* yang telah diinkubasi diambil lalu ditambah 2 tetes reagen Nitrat A dan B pada sumur 7, 2 tetes *Indol Kovact* pada sumur 8, 1 tetes VP I dan VP II pada sumur 10, serta 1 tetes TDA pada sumur 12. Dicatat perubahan warna tes pada tiap

sumur. Evaluasi hasil dilihat melalui sumur-sumur *Microbact* menunjukkan hasil positif atau negatif dengan membandingkan tabel warna kemudian hasilnya ditulis pada formulir *Patient Record*. Angka-angka *oktal* didapat dari penjumlahan reaksi positif saja, dari tiap-tiap kelompok (3 sumur didapatkan 1 angka oktal). Nama bakteri dilihat dengan komputer berdasarkan angka *oktal* yang didapat (Oxoid, 2004).

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

3.4.6 Uji Bioakumulasi oleh Bakteri Resisten Se

Prosedur yang digunakan untuk uji akumulasi mengacu pada prosedur penelitian yang dilakukan oleh Romaidi & Ueki (2016). Sel bakteri resisten terpilih diremajakan pada media BSM cair dengan volume 15 ml setelah mencapai fase lag. Suspensi sel bakteri diinokulasikan dalam tabung dengan 15 ml yang mengandung sodium selenit 0 μM , 100 μM , dan 200 μM . Setiap konsentrasi diulang dengan 3 kali ulangan. Konsentrasi ini mengacu berdasarkan pada penelitian Tanaka *et al.* (2016) yaitu bakteri resisten Se mampu mengakumulasi Se sebanyak 100 μM . Isolat bakteri tersebut kemudian diinkubasi menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 180 rpm pada suhu 25 °C selama 24 jam. Sel bakteri dipanen dengan disentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 3 menit

untuk diambil pelletnya, kemudian dipanaskan pada suhu 65 °C selama 24 jam sampai benar-benar kering. Selanjutnya ditambahkan 300 µl 1 N HNO₃ dan dipanaskan kembali pada suhu 65 °C selama 24 jam, kemudian kadar selenium diukur menggunakan *Atomic Absorption Spectrometry* (AAS).

3.4.7 Perhitungan Persentase Akumulasi Se

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

$$P = a/b \times 100\%$$

Keterangan: a = jumlah Se terakumulasi (dalam bakteri)
 b = jumlah total Se (dalam media kultur)
 P = akumulasi Se (%)

3.5. Analisa Data

Data mengenai isolasi bakteri resisten Se disajikan secara deskriptif kualitatif yang meliputi jenis isolat bakteri dari sedimen CMC yang berpotensi sebagai agen bioremediasi Se, pertumbuhan bakteri dan hasil uji biokimia menggunakan *microbact*, sedangkan data akumulasi yang diperoleh dari penelitian ini disajikan dengan analisis statistik menggunakan *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan DMRT atau BNT jika terdapat perbedaan.

Hasil analisa data penelitian kemudian dianalisis menggunakan analisis nalar spiritual Islam atau nilai-nilai Islam. Analisa ini menggunakan sumber rujukan dari Al-Qur'an atau Hadits beserta tafsir dan pemikiran-pemikiran Islam.

Hal ini dilakukan sebagai bentuk amanah khalifah di muka bumi dan tanggung jawab sebagai ilmuwan islam.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Bakteri Resisten Selenium

Sampel sedimen yang telah diambil dari 3 stasiun di (CMC) *Clungup Mangrove Conservation* kemudian di uji kandungan selenium didalamnya.

Menurut Susantoro *et al.* (2015) sedimen di perairan dapat menjadi tempat terakumulasinya logam berat termasuk selenium karena logam berat yang terbawa oleh air sungai hingga ke muara dan yang nantinya akan kelaut dapat mengendap pada sedimen dan terakumulasi didalamnya. Hal tersebut yang menyebabkan konsentrasi logam berat yang terdapat pada sedimen biasanya lebih tinggi daripada konsentrasi pada perairan. Berdasarkan (EPA) *Environmental Protection Agency's* (2016) kadar normal selenium di lingkungan adalah 3,1 µg/L, sedangkan selenium pada sedimen (CMC) *Clungup Mangrove Conservation* adalah 1.260-2.080 µg/L. Hal tersebut menunjukkan kadar selenium pada sedimen CMC seribu kali lebih tinggi dari kadar normal yang telah ditetapkan EPA. Adanya kandungan selenium yang tinggi pada sedimen CMC, diasumsikan terdapat bakteri yang memiliki kemampuan untuk resisten terhadap selenium pada konsentrasi yang tinggi. Sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi bakteri yang resisten terhadap selenium dari CMC. Menurut Mishra *et al.* (2011) dan Setiawan (2013), hutan mangrove adalah bioma yang memiliki ciri khas berlokasi di daerah peralihan antara darat dan laut. Adanya pasang surut di daerah mangrove dapat menyebabkan kadar garam dan kandungan nutrisi yang berubah-ubah, sehingga wilayah ini merupakan wilayah yang disukai mikroorganisme perairan dan terestrial. Dengan demikian hutan mangrove berpotensi tinggi terhadap adanya akumulasi logam berat karena berbatasan langsung dengan daratan dan merupakan tempat bertemunya perairan dari darat melalui sungai dan perairan laut, dimana aliran sungai dapat menjadi media pembawa limbah dari industri maupun rumah tangga.

Isolasi bakteri dilakukan dengan menumbuhkan bakteri yang terdapat pada sampel sedimen dari tiga stasiun pada media (BSM) *Basal Salt Medium* agar yang telah ditambahkan dengan sodium selenit (Na_2SeO_3) dengan konsentrasi yang berbeda yaitu: 0 mM (sebagai kontrol), 5 mM dan 10 mM. Kemudian media diinkubasi pada suhu 37°C selama 7x24 jam hingga tumbuh koloni berwarna jingga atau merah. Kemudian koloni yang tumbuh diamati dan dihitung dengan menggunakan *colony counter*.

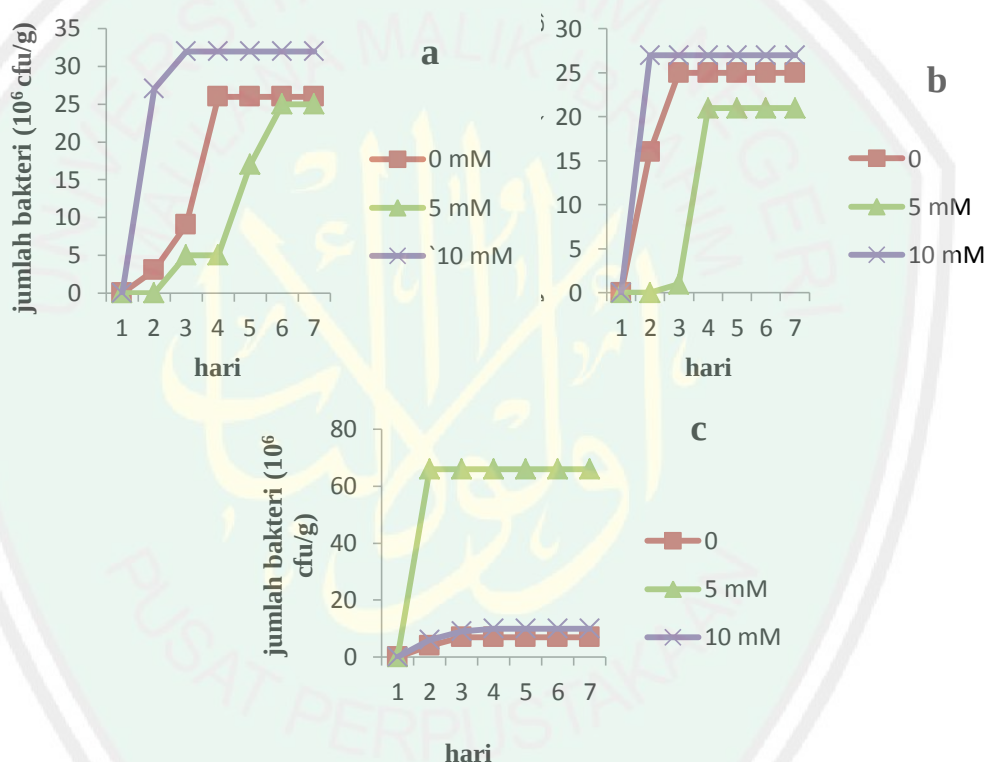
Warna jingga kemerahan atau merah pada koloni bakteri adalah ciri-ciri bahwa bakteri memiliki kemampuan untuk mereduksi selenit menjadi selenium elemental (Mishra *et al.*, 2011). Kepekatan warna merah yang dibentuk oleh isolat bakteri merupakan indikasi tingkat kemampuan bioakumulasi bakteri dalam merubah selenit (SeO_3^{2-}) menjadi selenium elemental (Se^0). Sehingga semakin banyak bakteri mengakumulasi selenit menjadi selenium elemental, maka warna yang terbentuk akan semakin merah. Bakteri yang resisten selenit memiliki sifat aerob (Avendano *et al.*, 2016).

Pengamatan terhadap jumlah bakteri yang tumbuh pada hari kesatu hingga ketujuh dari masing-masing stasiun menunjukkan pertumbuhan jumlah koloni yang bervariasi (Gambar 4.1), baik pada konsentrasi 0 mM (kontrol), 5 mM hingga 10 mM penambahan konsentrasi sodium selenit. Pengamatan dilakukan selama 7 hari sesuai dengan penelitian sebelumnya mengenai isolasi bakteri pada sedimen mangrove yang dilakukan oleh Mishra *et al.* (2011), namun hasil dari pengamatan peneliti ini pada hari kedua bakteri yang tumbuh pada

masa inkubasi telah menunjukkan adanya perubahan berwarna merah yang menunjukkan adanya proses reduksi selenium oleh bakteri.

Gambar 4.1 Jumlah bakteri-resisten Se yang tumbuh pada BSM distimulasi Na_2SeO_3 dengan konsentrasi 0 mM, 5mM dan 10 mM. (a) stasiun I, (b) stasiun II dan (c) stasiun III

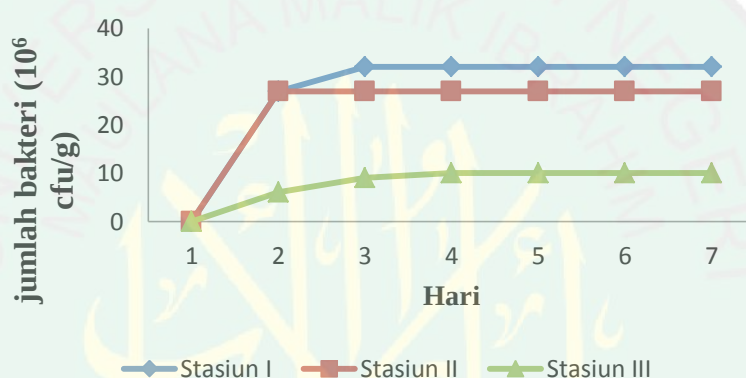
Bakteri yang tumbuh dari sedimen stasiun I pada konsentrasi 10 mM



memiliki jumlah yang paling tinggi, yaitu 32×10^6 cfu/g. Sedangkan pada konsentrasi 5 mM jumlah bakteri yang tumbuh adalah 25×10^6 cfu/g. Pada perlakuan 0 mM jumlah bakteri 26×10^6 cfu/g. Kondisi ini disebabkan oleh bakteri yang tumbuh optimal pada konsentrasi 10 mM (Gambar 4.1).

Jumlah bakteri di stasiun II pada perlakuan 10 mM menunjukkan jumlah yang lebih tinggi dari perlakuan 5 mM dan 0 mM. Pada perlakuan 10 mM jumlah

bakteri adalah 27×10^6 cfu/g. Pada perlakuan 5 mM 21×10^6 cfu/g, perlakuan 0 mM 25×10^6 cfu/g. Kondisi bakteri pada stasiun II bakteri juga dapat tumbuh optimal pada perlakuan konsentrasi 10 mM. Sedangkan pengamatan di stasiun III, pertumbuhan jumlah bakteri pada perlakuan 5 mM menunjukkan jumlah yang paling tinggi, yaitu 66×10^6 cfu/g. Pada perlakuan 10 mM mencapai 10×10^6 cfu/g, sedangkan pada perlakuan 0 mM jumlah bakteri 7×10^6 cfu/g. Hal ini diduga karena bakteri tumbuh optimal pada perlakuan 5 mM (Gambar 4.1).



Gambar 4.2 Perbedaan jumlah bakteri resisten-Se yang tumbuh pada stasiun I, II dan III pada konsentrasi tertinggi (10 mM) Na_2SeO_3

Jumlah bakteri yang tumbuh di masing-masing stasiun pada konsentrasi tertinggi dengan penambahan sodium selenit 10 mM kemudian dibuat grafik perbandingan (Gambar 4.2). Jumlah bakteri yang tumbuh pada stasiun I adalah 32×10^6 cfu/g, stasiun II adalah 27×10^6 cfu/g, dan stasiun III 10×10^6 cfu/g. Berdasarkan grafik tersebut terlihat pertumbuhan jumlah bakteri pada stasiun I lebih banyak dibandingkan stasiun II dan III. Hal ini sesuai dengan uji pendahuluan mengenai kandungan selenium pada ketiga stasiun, yang mana stasiun I memiliki kandungan selenium terbanyak yaitu 2.080 $\mu\text{g/L}$. Tingginya

kadar selenium diduga karena berbagai faktor, stasiun I merupakan kawasan CMC yang sering ditemukan sampah-sampah maupun tumpahan minyak serta bahan bakar kapal yang mencemari kawasan mangrove dikarenakan adanya pasang surut laut ataupun ombak menurut pihak pengelola CMC. Menurut Mostofa *et al.* (2013), pemakaian bahan bakar bensin dan aktifitas diatas perairan oleh nelayan dapat menyebabkan emisi pencemaran di laut.

Stasiun II merupakan daerah interdal yang memiliki karakteristik terlindung dari hempasan ombak yang diduga juga mempengaruhi jumlah bakteri. Adanya hempasan-hempasan ombak di daerah mangrove dapat mempengaruhi perubahan nutien di area tersebut. Menurut Mishra *et al.* (2011), kadar garam dan kandungan nutrient yang berubah-ubah merupakan daerah yang disukai mikroorganisme perairan dan terrestrial.

Stasiun III adalah zona yang paling banyak ditumbuhi tanaman mangrove dan hamper selalu tergenang, sehingga pada zona ini banyak ditemui berbagai jenis ikan, kerang, kepiting dan lain sebagainya. Menurut Suzuki *et al.* (2012) aktivitas bioturbasi kepiting sangat berpengaruh pada siklus biogeokimia sedimen mangrove. Aktivitasnya dapat mempengaruhi masuknya oksigen dan sulfat dari lapisan air ke dalam sedimen yang berpengaruh pada reduksi logam dan perubahan logam pada bentuk yang telah teroksidasi. Sehingga dapat membantu elemen-elemen tersebut terakumulasi pada rizosfer tanaman mangrove. Menurut Borrell *et al.* (2016), elemen-elemen dapat terakumulasi pada rizosfer mangrove melalui rantai makanan di perairan yang dipengaruhi oleh efisiensi asimilasi, laju ekskresi organisme akuatik dan fisiokimia. Berdasarkan hal tersebut diduga logam

selenium di stasiun III telah banyak yang tereduksi dan terakumulasi secara alami oleh organisme-organisme di area tersebut termasuk tanaman-tanaman mangrove itu sendiri, yang menyebabkan bakteri yang berasal dari habitat tersebut tidak dapat resistan pada konsentrasi selenit yang terlalu tinggi namun dapat tumbuh pada kandungan yang tidak terlalu tinggi. Sehingga pada pengamatan ini jumlah bakteri yang tumbuh resisten pada konsentrasi 10 mM Na_2SeO_3 dari stasiun III paling sedikit dibandingkan stasiun II dan III.

Langkah selanjutnya adalah memilih satu inokulum yang memiliki jumlah koloni bakteri yang berwarna merah terbanyak pada perlakuan konsentrasi tertinggi, yaitu 10 mM berdasarkan pengamatan pada jumlah pertumbuhan bakteri yang telah diisolasi dari tiga stasiun pada kawasan CMC. Inokulum hasil isolasi dari stasiun I adalah inokulum yang terpilih karena memiliki jumlah koloni bakteri berwarna merah yang tumbuh terbanyak dibandingkan jumlah bakteri yang tumbuh dari stasiun II dan III pada stimulasi 10 mM Na_2SeO_3 .

4.1.1 Identifikasi Bakteri Terpilih

Isolat yang terpilih kemudian diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi secara makroskopis meliputi bentuk koloni, permukaan koloni, tepi koloni dan warna koloni. Sedangkan identifikasi secara mikroskopis dilakukan untuk melihat bentuk sel, identifikasi ini meliputi bentuk sel dan pewarnaan gram (Pelczar & Chan, 1986). Identifikasi karakteristik secara makroskopis terlihat bahwa koloni isolat terpilih memiliki bentuk yang bulat, permukaannya timbul datar, tepi koloni utuh dan koloni berwarna ungu.

Sedangkan berdasarkan identifikasi karakteristik secara mikroskopis terlihat bahwa bakteri berbentuk basil berukuran 2 μm , dan merupakan gram positif.

Bakteri strain CMB-1 merupakan gram positif dikarenakan berdasarkan pewarnaan cat gram strain berwarna ungu. Menurut Pelczar (2008), bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan peptidoglikan yang tebal. Warna ungu disebabkan kompleks ungu kristal dan larutan yodium tetap dipertahankan karena peptidoglikan tidak larut oleh aseton alkohol. Mengenai bakteri basil gram positif yang memiliki kemampuan resisten terhadap selenit dan diisolasi dari mangrove telah dilaporkan sebelumnya *Bacillus megaterium* strain BSB6 dan BSB12 (Mishra *et al.*, 2011).

4.1.2 Identifikasi Menggunakan *Microbact*

Identifikasi pada isolat terpilih dilakukan dengan uji biokimia menggunakan kit *Microbact* 12 A dan 12 B yang kemudian disesuaikan dengan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Pada uji biokimia ini akan menggunakan beberapa reagen kimia. Metabolisme pada suatu bakteri memiliki kaitan yang erat dengan proses-proses biokimia. Penggunaan beberapa uji biokimia ini bertujuan untuk memastikan bakteri yang akan dianalisa merupakan bakteri yang diharapkan. Hasil interaksi antara metabolit dengan reagen-reagen kimia dapat menentukan sifat metabolisme suatu bakteri (Sumarsih, 2003). Uji biokimia adalah salah satu uji yang digunakan untuk mengidentifikasi dan mendeterminasi jenis bakteri hasil isolasi berdasarkan sifat-sifat fisiologinya. Perbedaan aktifitas fisiologi setiap bakteri dapat digunakan untuk identifikasi dan karakterisasi bakteri tertentu (Cowan, 2004).

Hasil dari uji biokimia isolat CMB-1 menggunakan kit *Microbact* 12 A dan B dapat dilihat pada tabel 4.1. Hasil dari uji oksidase adalah positif, hal ini ditunjukkan dengan perubahan perubahan kertas oksidase menjadi berwarna biru. Uji ini dilakukan untuk mengetahui penggunaan oksigen sebagai akseptor elektron oleh bakteri (Harley & Prescott, 2002).

Uji selanjutnya adalah uji motilitas, menurut Burrows (2004), uji motilitas bertujuan untuk mengetahui adanya pergerakan pada bakteri. Hasil negatif (-) pada uji ini terlihat dengan tidak adanya penyebaran menyerupai akar berwarna putih pada bekas tusukan diarea inokulasi. Sedangkan hasil positif (+) ditunjukkan dengan adanya penyebaran seperti akar berwarna putih di sekitar area inokulasi, yang dalam hal ini diartikan bahwa bakteri memiliki flagel. Hasil dari uji motilitas pada strain CMB-1 adalah positif yang menunjukkan adanya pergerakan pada bakteri yang diinokulasikan dan bakteri tersebut memiliki flagel. Kemudian dilakukan uji nitrat yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dapat mereduksi nitrat atau tidak. Hasil dari pengamatan adalah negatif, yang menunjukkan bahwa bakteri tidak dapat mereduksi nitrat.

Hasil pengamatan uji urease pada isolat bakteri menunjukkan hasil negatif dengan warna media yang tetap berwarna kuning. Hal ini dikarenakan tidak adanya perubahan pada medium sebelum dan sesudah diinkubasi. Menurut Lim (2006), enzim urease memiliki fungsi untuk menguraikan urea menjadi amoniak. Dengan hasil uji urease yang negatif mengartikan bahwa bakteri tidak memiliki enzim urease.

Hasil positif pada uji ONPG menunjukkan bahwa isolat dapat menghidrolisis o-nitrophenil- β -d-galactopyranoside (ONPG) oleh enzim β galactosida sehingga memiliki kemampuan untuk memfermentasikan laktosa. Kemudian dilanjutkan dengan uji sitrat yang bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Hasil uji yang negatif menunjukkan bahwa tidak ada perubahan media dari hijau menjadi biru, yang dapat diartikan bahwa bakteri tidak memiliki enzim sitrat permease. Enzim tersebut adalah enzim spesifik yang membawa sitrat ke dalam sel. Dikarenakan sitrat tidak masuk ke dalam sel, maka bakteri tidak menggunakan sitrat sebagai salah satu ataupun satu-satunya sumber karbon.

Uji fermentasi gula-gula juga dilakukan dalam kit *Microbact* 12 A dan 12 B. Uji gula-gula dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasikan gula untuk membentuk asam. Uji gula-gula yang digunakan dalam kit *Microbact* meliputi glukosa, sukrosa, laktosa, xyosa, arabinosa, rhamnosa, rafinosa, adonitol, inositol, manitol dan salisin (Adam, 2001). Hasil dari keseluruhan fermentasi gula-gula pada isolat bakteri adalah negatif. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan warna medium pada parameter uji, dengan hasil yang negatif menunjukkan bahwa bakteri tidak dapat memfermentasikan karbohidrat.

Uji Voges-Proskauer (VP) menunjukkan hasil yang negatif. Uji VP dilakukan untuk mengetahui organisme yang menghasilkan asam dalam jumlah yang besar dan yang menghasilkan produk netral seperti asetilmetilkarbinol (asetoin) dari hasil metabolisme glukosa. Uji VP juga dapat digunakan untuk

mengidentifikasi mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk memfermentasi karbohidrat menjadi 2,3-butanadiol sebagai produk utama, dan akan bahan tersebut akan mengalami penumpukan dalam media pertumbuhan (Lehninger, 1995). Kemudian terdapat pula uji H₂S yang juga menunjukkan hasil yang negatif. Uji H₂S dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya produksi H₂S pada bakteri. H₂S ini dibutuhkan untuk memecah asam amino yang mengandung unsur belerang, seperti gugus samping intionin (Ganjar *et al.*,1992).

Uji selanjutnya adalah uji indole, hasil dari uji ini adalah negatif yang ditunjukkan dengan warna jingga pada permukaan, apabila hasil positif akan ditunjukkan dengan warna merah *cherry* pada permukaan yang membentuk seperti cincin. Karena pada uji ini memiliki hasil yang negatif, maka diartikan bakteri tidak memiliki enzim triptophanase yang memiliki fungsi untuk mengoksidasi asam amino triptophan untuk membentuk indol sebagai sumber energi (Mahon *et al.*, 2015).

Hasil uji gelatin adalah negatif yang berarti bahwa bakteri tidak mampu menghasilkan enzim gelatinase. Uji gelatin dilakukan untuk mengetahui adanya enzim gelatinase. Enzim ini memiliki fungsi menghidrolisis gelatin menjadi asam-asam amino yang berguna sebagai nutrien oleh bakteri (Harley & Prescott, 2002). Uji TDA, arninin,lysine dan ornithin juga menunjukkan hasil negatif. Bakteri CMB-1 juga diketahui merupakan bakteri gram positif dan memiliki bentuk batang pendek.

Tabel 4.1 Hasil identifikasi spesies bakteri resisten selenium menggunakan *microbact*

Kit Microbact	Karakteristik	Hasil Pengamatan
	Oksidase	+
	Motilitas	+
	Nitrate	-
12 A	Lisin	-
	Ornitin	-
	H ₂ S	-
	Glukosa	-
	Manitol	-
	Silose	-
	ONPG	+
	Indol	-
	Urease	-
	VP	-
	Sitrat	-
	TDA	-
12 B	Gelatin	-
	Malonat	-
	Inositol	-
	Sorbitol	-
	Ramnose	-
	Sukrosa	-
	Laktosa	-
	Arabinose	-
	Adonitol	-
	Rafinose	-
	Salisin	-
	Arginin	-
	Pewarnaan gram	Positif
	Bentuk	Batang pendek
Spesies bakteri	<i>Bacillus</i> sp.	

Keterangan: +: hasil uji positif
 -: hasil uji negatif

Hasil dari semua uji biokimia menggunakan kit *Microbact* 12 A dan 12 B kemudian disesuaikan dengan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th*. Berdasarkan identifikasi bakteri CMB-1 memiliki kemiripan dengan *Bacillus* sp. dengan persentase kemiripan 76%. Hasil identifikasi menggunakan kit *Microbact* dapat menunjukkan hingga tingkat spesies apabila persentase kemiripan melebihi 80%, jika persentase kemiripan kurang dari 80% maka bakteri hanya memiliki kesamaan hingga tingkat genus saja.

Bakteri *Bacillus megaterium* strain BSB6 dan BSB12 pada penelitian Mishra *et al.* (2011) yang diisolasi dari sedimen mangrove Bhitarkanika mampu mereduksi selenit pada konsentrasi 0,25 mM Na₂SeO₃. Berdasarkan penelitian Ikram dan Faisal (2010) *Bacillus pumilus* yang diisolasi dari tanah dan air terkontaminasi selenium juga mampu mereduksi secara aerobik sebesar 97% dari 6,33 mM sodium selenit. Terdapat pula penelitian *Bacillus* sp. strain JS-2 oleh Dhanjal dan Cameotra (2011) yang mengisolasi bakteri dari tanah pertanian seleniferous di Jainpur, India. Strain bakteri ini juga mampu resisten pada sodium selenit hingga konsentrasi 5 mM. Terdapat pula *Bacillus arseniciselenatis* strain E1H, *Bacillus berviridgei* strain MLTeJB, dan *Bacillus selenitireducens* strain MLS10 yang diisolasi dari sedimen Danau Mono, Kalifornia Timur dilaporkan dapat mereduksi selenium (Nanchairahah & Lens, 2015a).

4.2 Uji Kemampuan Bioakumulasi

Bioakumulasi merupakan mekanisme bertahan hidup bakteri yang resisten terhadap logam berat dari toksisitas suatu logam. Bioakumulasi mikroorganisme

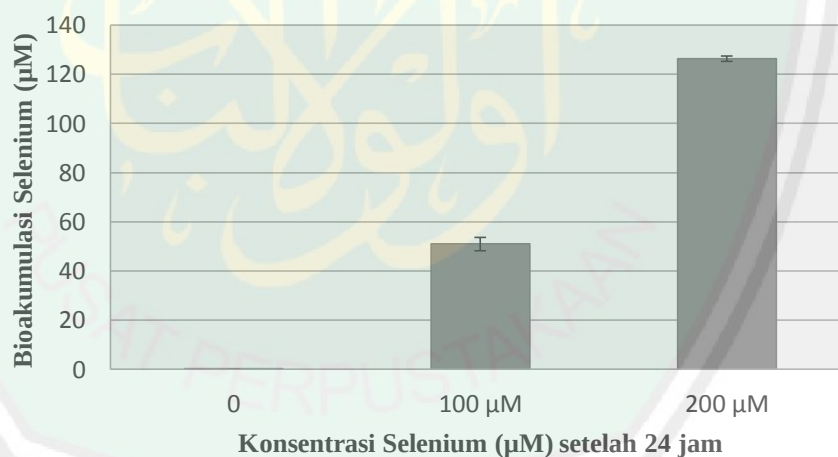
adalah interaksi aktif sel mikroorganisme dengan logam berat, dalam hal ini ion logam akan berperan ke dalam sel-sel mikroorganisme tersebut (Chipasa, 2003).

Uji akumulasi dilakukan pada bakteri terpilih yang resisten selenium yaitu strain CMB-1. Identifikasi lebih lanjut pada strain CMB-1 menunjukkan kemiripan 76% dengan *Bacillus* sp. sel bakteri tersebut kemudian ditumbuhkan pada media standart yang mengandung 0 μM (sebagai kontrol), 100 μM dan 200 μM sodium selenit dengan 3 kali ulangan. Isolat diinkubasi selama 24 jam pada suhu 25 °C dengan kecepatan 130 rpm. Kemudian diambil 10 ml sampel bakteri dan disaring menggunakan kertas saring yang bebas abu. Residu yang telah diperoleh dikeringkan dandiabukan pada suhu 400-600 °C. Selanjutnya residu tersebut ditambahkan 50 ml 6 HCL dan 1 ml HNO₃ 60% dan disaring kembali. Filtrat yang telah jernih tersebut dimasukkan kedalam AAS menggunakan pipa kapiler. Lalu akumulasi selenium pada isolat bakteri diukur menggunakan AAS.

Perubahan warna media kultur menjadi jingga kemerahan menunjukkan adanya akumulasi selenium dikarenakan adanya endapan yang berwarna merah. Tingginya konsentrasi selenium pada media kultur berpengaruh kepekatan warna merah pada media kultur. Warna jingga kemerahan oleh bakteri resisten selenit menunjukkan adanya akumulasi dari selenium elemental (Rathgeber *et al.*, 2002).

Berdasarkan hasil akumulasi selenium pada konsentrasi 100 μM dan 200 μM menunjukkan hasil yang signifikan ($p < 0,05$). Akumulasi selenium tertinggi terjadi pada konsentrasi 200 μM (Gambar 4.3). Pada konsentrasi 100 μM jumlah Se yang terakumulasi mencapai 51 μM dengan persentase 51%. Sedangkan pada konsentrasi 200 μM , bakteri mampu mengakumulasi selenium sebanyak 126,33

μM dengan persentase 63,17% (Tabel 4.2). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Javed *et al.* (2016), bakteri pada genus *Bacillus* yang memiliki kemampuan bioakumulasi pada selenium adalah *Bacillus licheniformis* dengan persentase akumulasi 40% dan *Bacillus subtilis* dengan persentase akumulasi 43%. Penelitian tersebut menunjukkan persentase akumulasi yang lebih rendah dibandingkan *Bacillus* sp. strain CMB-1 karena kondisi habitat bakteri (CMC) memiliki kandungan selenium yang sangat tinggi. Berdasarkan tingginya kadar pencemaran Se di habitat asal bakteri dan kemampuannya dalam mengakumulasi Se menunjukkan bahwa strain bakteri memiliki potensi besar untuk dimanfaatkan sebagai agen bioremediasi dalam hal ini pada pencemaran selenium di lingkungan.



Gambar 4.3 Bioakumulasi Se oleh bakteri resisten-Se dengan konsentrasi sodium selenit 0 μM , 100 μM dan 200 μM

Akumulasi Se pada perlakuan 0 mM (kontrol) oleh strain CMB-1 dengan persentase 0% diduga karena pada perlakuan ini tidak ada penambahan selenit. Sehingga selenium yang ada pada bakteri tersebut merupakan selenium organik.

Hal ini diperkuat dengan tidak adanya perubahan warna pada media kultur yang berubah menjadi jingga-kemerahan, yang mana perubahan warna tersebut membuktikan adanya perubahan selenit menjadi selenium elemental.

Tabel 4.2 Persentase akumulasi Se oleh bakteri resisten selenium

Konsentrasi Se (μM)	Jumlah Se Terakumulasi (μM)	Persentase Se Terakumulasi (%)
0 μM	0,117	0
100 μM	51	51
200 μM	126,33	63,17

Bakteri dalam proses degradasinya membutuhkan senyawa kimia tersebut untuk reproduksi dan pertumbuhan melalui berbagai proses oksidasi. Logam berat dipisahkan oleh bakteri pada fase pengikatan transport aktif. Fase ini tergantung oleh metabolisme sel yaitu absorpsi. Absorpsi terjadi melalui dinding sel atau permukaan eksternal yang selanjutnya diikuti dengan transport aktif. Transport aktif juga tergantung pada metabolisme sel. Logam berat dapat terakumulasi melalui sitoplasma (intraseluler) dan membrane sel (ekstraseluler) pada proses metabolisme (Aminah, 2009). Mekanisme organisme yang memiliki kemampuan mengakumulasi selenium dimulai dengan metilasi dan transformasi Se ke dalam bentuk asam amino seleno non-toksik, seperti metil selenocysteine (MSC) dan metil asam selenik (MSA). Senyawa tersebut adalah bentuk dominan senyawa selenium yang disimpan dan hanya dihasilkan oleh organisme pengakumulasi selenium. Sehingga akumulasi senyawa tersebut dianggap sebagai dasar toleransi resisten terhadap toksisitas selenium. Sedangkan mekanisme organisme yang

bukan pengakumulasi Se, dimulai dengan menyerap dan menkorporasikan selenium secara nonspesifik kedalam senyawa organik yang mengandung sulfur. Hal tersebut sangat berkontribusi pada toksisitas selenium pada organisme tersebut. Sehingga organisme yang mampu mengubah selenium beracun menjadi selenium tidak beracun dapat dimanfaatkan sebagai agen bioremediasi di lingkungan (Triana *et al.*, 2010).

Allah SWT berfirman dalam Al-Qur'an surah Al-Imran ayat 190 dan 191 sebagaimana berikut:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ (١٩٠)
الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا
سُبْحَنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ (١٩١)

Artinya: *Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi ulul albab (190). (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka (191).*

Diketahuinya bakteri *Bacillus* sp. strain CMB-1 yang hanya berukuran 2 µm ternyata memiliki potensi yang sangat besar sebagai agen bioremediasi lingkungan khususnya kemampuannya dalam mengakumulasi logam beracun selenit. Hal ini mengajarkan manusia untuk tidak menyepelekan semua makhluk-hidup dan semua ciptaan Allah SWT. Manusia harus senantiasa menjadi ulul albab, Menurut Subandi (2014), ulul albab adalah seorang muslim dengan kemauan keras untuk memikirkan alam dan kejadian-kejadiannya sebagai bentuk *dzikir* kepada Allah SWT. Ulul albab akan selalu menyertakan Allah SWT dalam

pemikirannya dan tidak melakukan kerusakan sebagaimana perannya sebagai khalifah dimuka bumi.

Langit dan bumi tidak diciptakan begitu saja. Allah SWT menciptakan itu semua dengan penuh hikmah. Hikmah tersebut hanya dapat diketahui oleh orang-orang yang ulul albab (merenung dan berpikir) (Shihab, 2013). Penuh hikmah dimaksudkan dengan penciptaan mikroorganisme yang memiliki ukuran mikroskopis namun memiliki banyak manfaat bagi makhluk hidup. Khususnya berdasarkan dalam bahasan ini, dapat diketahui bakteri yang memiliki potensi dalam penanganan pencemaran logam berat dilingkungan bahkan pada konsentrasi yang tinggi. Berdasarkan Al-Qur'an surat Al-Imran ayat 190-191 dan penelitian ini menunjukkan bahwa memang tidak ada ciptaan Allah SWT yang sia-sia bagi orang-orang yang selalu memikirkan penciptaan-Nya. Sehingga, selayaknya penelitian ini mampu menambah iman dan takwa utamanya pada ilmuan-ilmuan muslim.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Bakteri yang terpilih untuk diidentifikasi berasal dari sedimen stasiun I atau zona depan sesuai dengan zonasi mangrove di *Clungup Mangrove Conservation*. Isolat bakteri yang terpilih merupakan gram positif berbentuk batang pendek. Strain CMB-1 merupakan bakteri yang resisten pada perlakuan penambahan sodium selenit hingga pada konsentrasi 10 mM. Berdasarkan identifikasi menggunakan uji *microbact* diketahui bahwa Strain CMB-1 memiliki kemiripan dengan *Bacillus* sp. dengan persen probabilitas 76%.
2. Strain CMB-1 memiliki kemampuan dalam mengakumulasi sodium selenit pada konsentrasi 100 μM sebesar 51 μM dengan persentase 51%. Pada konsentrasi 200 μM mampu mengakumulasi Se sebesar 126,33 μM dengan persentase 63,17%.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat beberapa saran sebagaimana berikut:

1. Perlu dilakukan pengujian kemampuan resisten selenium pada isolat lainnya yang telah diisolasi dari CMC.
2. Menambahkan variasi pengaruh suhu dan pH pada penelitian untuk menguatkan informasi mengenai lingkungan bakteri.
3. Menguji lanjut identifikasi bakteri resisten selenium secara molekular untuk mengkonfirmasi hasil identifikasi uji biokimia.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, M..R. 2001. **Microbiology of Fermented Food**. Elsevier Applied Science Publisher Ltd. New York.
- Al-Zereini, W.A. 2014. Bioactive Crude Extracts from Four Bacterial Isolates of Marine Sediments from Red Sea, Gulf of Aqaba, Jordan. *Jordan Journal of Biological Sciences*. 7(2): 133-137.
- Aminah, U. 2011. **Isolasi Bakteri Pengakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) di Perairan Pelabuhan Paotere Makassar**. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin. Makassar. Skripsi.
- Avendano, R., Chaves, N., Fuentes, P., Sanchez, E., Jimenez, J.I. & Chavarria, M. 2016. Production of selenium nanoparticles in *Pseudomonas putida* KT2440. *Scientific reports*. 6: 37155.
- Bengen, D.G. 2001. *Pengenalan dan Pengelolaan Ekosistem Mangrove*. Bangkok, Thailand: International Union for Conservation of Nature and Natural Resources (IUCN), p. 38.
- Bhakti Alam. 2016. **Profil Yayasan Bhakti Alam Sendang Biru**. Lembaga Masyarakat Konservasi Bhakti Alam Sendangbiru. Kabupaten Malang.
- Bodnar, M., Konieczka, P. & Namiesnik, J. 2012. The properties, functions, and use of selenium compounds in living organisms. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*. 30(3): 225-252.
- Boran, M. & Altinok, I. 2010. A Review of Heavy Metals in Water, Sediment and Living Organisms in the Black Sea. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 10(4).
- Borrell, A., Tornero, V., Bhattacharjee, D., & Aguilar, A. 2016. Trace element accumulation and trophic relationships in aquatic organisms of the Sundarbans mangrove ecosystem (Bangladesh). *Science of the Total Environment*. 545: 414-423.
- Boto, L.G., A.L. Roberson and A.D. Alongi. 1991. *Mangrove and Near Shore Connections. A Status Report From The Australian Perspective*. University of the Philippines: 459-467.
- Brozmanová, J., Mániková, D., Vlčková, V. & Chovanec, M. 2010. Selenium: a double-edged sword for defense and offence in cancer. *Archives of toxicology*. 84(12): 919-938.
- Bridson, E.Y. 1998. **The Oxoid Manual 8th Edition**. Oxoid Limited Hampsire. England.
- Butler, C.S., Debieux, C.M., Dridge, E.J., Splatt, P., & Wright, M. 2012. Biomineralization of selenium by the selenate-respiring bacterium *Thauera selenatis*. *Biochem Soc Trans*. 40(6): 1239-1243.

- Chandrakant, S.K., & Shwetha, S.R. 2011. Role of Microbial Enzymes in the Bioremediation of Pollutants. *Enzyme Res.* 1-11.
- Chipasa, K.B. 2003. Accumulation and fate of selected heavy metals in a biological wastewater treatment system. *Waste management*, 23(2), 135-143.
- Connell, D.W. & G.J. Miller. 1995. **Kimia dan Ekotoksikologi Pencemaran**. Dalam Koestor, Y. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Cowan, S.T. 2004. **Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria**. Cambridge university press. Cambridge.
- Dhanjal, S. & Cameotra, S.S. 2011. Selenite stress elicits physiological adaptations in *Bacillus* sp.(strain JS-2). *J Microbiol Biotechnol.* 21(11): 1184-1192.
- El-Sanshory., E-Elsilk, A., and Ebeid, E.M. 2013. Extracellular Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using *Escherichia coli* ATTC8739, *Bacillus subtilis* ATTC6633, and *Streptococcus thermophiles* ESh1 and their Antimicrobial Activities. *Journal International Nanotechnology.* 2(11): 7.
- Environmental Protection Agency (EPA). 2016. *Aquatic Life Ambient Water Quality Criterion for Selenium in Freshwater 2016-Fact Sheet*, Pub. EPA 822-F-16-005, Office of Water Regulations and Standards. Washington, DC.
- Fahrudin, F. 2016. Pengaruh Jenis Sedimen *Wetland* dalam Reduksi Sulfat pada Limbah Air Asam Tambang (AAT). *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 10(1), 26-30.
- Fordyce, F.M. 2013. Selenium Deficiency and Toxicity in the Environment. In Selinus, O (Ed.). **Essentials of Medical Geology**. Springer. Dordrecht. pp. 375-416.
- Fujita, K.I., Iwaoka, M., & Tomoda, S. 1997. Design of Optically Active Selenium Reagents Having a Chiral Tertiary Amino Group and Their Application to Asymmetric. Inter-And Intramolecular Oxyselenilations. *Tetrahedron*. 53(6): 2029-2048.
- Fulekar, M. H. Bioremediation on Fenvalerate by *Pseudomonas aeruginosa* in a Scale Up Bioreactor. *Rom Biotechnol Lett.* 14:4900-4905.
- Goltenboth, F., *et al.* 2012. **Ekologi Asia Tenggara Kepulauan Indonesia**. Penerbit Salemba Teknika. Jakarta.
- Gupta, A.K., Yunus, M., & Pandey, P. 2003. Bioremediation: Ecotechnology for the Present Century. *International Social Environment. Botanists Environnews.* 9(2).

- Harley, J.P., & Prescott, L.M. 2002. Bacterial morphology and staining. **Laboratory Exercises in Microbiology, 5th Edition.** The McGraw-Hill Companies. New York pp. 31-36.
- Ike, M., Takashi, K., Fujita, T., Kashuwa, M., & Fujita, M. 2000. Selenate Reduction by Bacteria Isolated from Aquatic Environment Free from Selenium Contamination. *Water Research*. 34(11): 3019-3025.
- Ikram, M., & Faisal, M. 2010. Comparative assessment of selenite (SeIV) detoxification to elemental selenium (Se⁰) by *Bacillus* sp. *Biotechnol Lett*. 32: 1255–1259.
- Jaibet, J. 2007. **Analisis Logam Berat Cd, Cu dan Pb dalam Sedimen dan Air Laut di Teluk Salut Tuaran.** Sekolah Sains dan Teknologi Universiti Malaysia Sabah. Malaysia. Thesis.
- Janz, D.M., DeForest, D. K., Brooks, M.L., Chapman, P.M., Gilron, G., Hoff, D., Hopkins, W.A., McIntyre, D.O., Mebane, C.A., Palace, V.P., Skorupa, J. P. 2010. Selenium Toxicity to Aquatic Organisms. *Ecological Assessment of Selenium in the Aquatic Environment*. pp. 141-231.
- Javed, S., Sarwar, A., Tassawar, M., & Faisal, M. 2016. Conversion of Selenite to Elemental Selenium by Indigeneous Bacteria Isolated From Polluted Areas. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 27(4): 192-168.
- Jimenez, J.A., A. E, Lugo & G. Cintron. 1985. Tree Mortality in Mangrove Forests. *Biotropica*. 17: 177-185.
- Klonowska, A., Heulin, T., & Vermeglio, A. 2005. Selenite and Tellurite Reduction by *Shewanella onoidensis*. *Applied and Environmental Microbiology*. 71(9): 5607-5609.
- Kieliszek, M. & Blazejak, S. 2013. Selenium: significance, and outlook for supplementation. *Nutrition*. 29(5): 713-718.
- Kimura, H., Arima, T.H., Oku, T. & Sakaguchi, T. 2014. Selenium Recovery and Conversion by a Filamentous Fungus, *Aspergillus oryzae* Strain RIB40. *Asia Pacific Journal of Sustainable Agriculture, Food and Energy*. 2(2): 5-8.
- Lancot, C.M., Melvin, S.D. & Cresswell, T. 2017. Selenium Speciation Influences Bioaccumulation in *Limnodynastes peronii* Tadpoles. *Aquatic Toxicology*. 187:1-8.
- Lehninger, D.L.N., Albert, L. & Cox, M.M. 1995. **Principles of biochemistry.** Worth Publishers. New York.
- Lemly, A.D. 2002. Symptoms and Implications of Selenium Toxicity in Fish: the Belews Lake Case Example. *Aquatic Toxicology*. 57(1): 39-49.

- Li, D.B., Cheng, Y.Y., Wu, C., Li, W.W., Li, N., Yang, Z.C., Tong, Z.H., & Yu, H.Q. 2014. Selenite reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1 is mediated by fumarate reductase in periplasm. *Sci Rep.* 4:3755.
- Lim, D. 2006. **Microbiology**. McGraw-Hill. New York.
- Liu, H., & Thomas, J. W. 2010. Mechanical Properties of Dispersed Ceramic Nanoparticles in Polymer Composites for Orthopedic Applications. *International Journal of Nanomedicine*. 5: 299-313.
- Mahon, C.R., Lehman, D.C. & Manuselis, G. 2014. **Textbook of Diagnostic Microbiology**. 4th ed. Saunders Elsevier. USA.
- Malik, A. 2004. Metal Bioremediation Trough Growing Cells. *Environment Internationl.* 30(2): 261-278.
- Mani, D., & Kumar, C. 2014. Biotechnology Advances in Bioremediation of Heavy Metals Contaminated Ecosystems: An Overview with Special Reference to Phytoremediation. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 11(3): 843-872.
- Menteri Negara Kependudukan dan Lingkungan Hidup. 1988. **Pedoman Penetapan Baku Mutu Lingkungan**. Ditetapkan pada tanggal 19 Januari 1988. MENKLH. Jakarta.
- Miller, R. 2006. *The Elements What You Really Want to Know*. Amerika: Twenty First Century Book.
- 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.
- Mostofa, K.M., Liu, C Q., Vione, D., Gao, K., & Ogawa, H. 2013. Sources, Factors, Mechanisms and Possible Solutions to Pollutants in Marine Ecosystems. *Environmental Pollution*. 182: 461-478.
- Munawar, A. 2012. **Monograf Tinjauan Proses Bioremediasi**. UPN Veteran Jawa Timur. Surabaya.
- Myers, T. 2013. Remediation scenarios for selenium contamination, Blackfoot watershed, southeast Idaho, USA. *Hydrogeology Journal*. 21(3): 655-671.
- Nancharaiah, Y.V. & Lens, P.N.L. 2015a. Ecology and Biotechnology of Selenium-Respiring Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 79(1): 61-80.
- Nancharaiah, Y.V. & Lens, P.N. 2015b. Selenium biomineralization for biotechnological applications. *Trends in biotechnology*. 33(6): 323-330.

- Narasingarao, P., & Häggblom, M.M. 2007. Identification of Anaerobic Selenate-Respiring Bacteria from Aquatic Sediments. *Applied and Environmental Microbiology*. 73(11): 3519-3527.
- Nugraha, R.T. 2011. **Seri Buku Informasi dan Potensi Mangrove Taman Nasional Alas Purwo**. Balai Taman Nasional Alas Purwo. Banyuwangi.
- Nugroho, A. 2006. **Bioremediasi Hidrokarbon Minyak Bumi**. Graha Ilmu. Jakarta.
- Onrizal. 2005. **Adaptasi Tumbuhan Mangrove Pada Lingkungan Salin Dan Jenuh Air**. Fakultas Pertanian, Medan: Universitas Sumatera Utara. Medan. Hlm: 2.
- Oxoid. 2004. **Microbact Identification Kits**. IKAPI. Jakarta.
- Palar, H. 2008. **Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat**. Rineka Cipta. Jakarta.
- Pelczar, M. J., & Chan, E. C. 1986. **Dasar-dasar Mikrobiologi. Jilid I**. Hadioetomo, RS, Tjitrosomo, SS, Angka, SL & Imas T.(Penerjemah). Penerbit Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Pelczar, M.J., & Chan, E.C.S. 2008. **Dasar-dasar Mikrobiologi**. Jilid 2. Jakarta.
- Pelczar, M.J. & Chan, E.C.S. 2013. **Dasar-Dasar Mikrobiologi**. UI Press. Jakarta.
- Pieniz, S., Andreazza, R., Mann, M.B., Camargo, F., & Brandelli, A. 2017. Bioaccumulation and distribution of selenium in *Enterococcus durans*. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 40:37-45.
- Prescott, H. 2002. **Laboratory Exercises in Microbiology Fifth Edition**. McGraw-Hill. New York.
- Uno, W.D., Yuliana R., & Novri, K. 2012. Biodiversitas Actinomycetes pada Kawasan Mangrove Desa Bulalo Kecamatan Kwandang dan Uji Potensi Sebagai Penghasil Antibiotika. Universitas Negeri Gorontalo. Gorontalo.
- Qamarullah, M. 2014. Lingkungan dalam kajian Al-Qur'an: krisis lingkungan dan penanggulangannya perspektif Al-Qur'an. *Jurnal studi ilmu-ilmu Al-Qur'an dan Hadis*. 15(1): 135-158.
- Rathgeber, C., Yurkova, N., Stackebrandt, E., Beatty, J.T., & Yurkov, V. (2002). Isolation of tellurite-and selenite-resistant bacteria from hydrothermal vents of the Juan de Fuca Ridge in the Pacific Ocean. *Applied and environmental microbiology*. 68(9): 4613-4622.
- Romaidi and Ueki, T. 2016. Bioaccumulation of Vanadium by Vanadium-Resistant Bacteria Isolated from the Intestine of *Ascidia sydneiensis* samea. *Marine Biotechnology*. 18(3): 359–371.

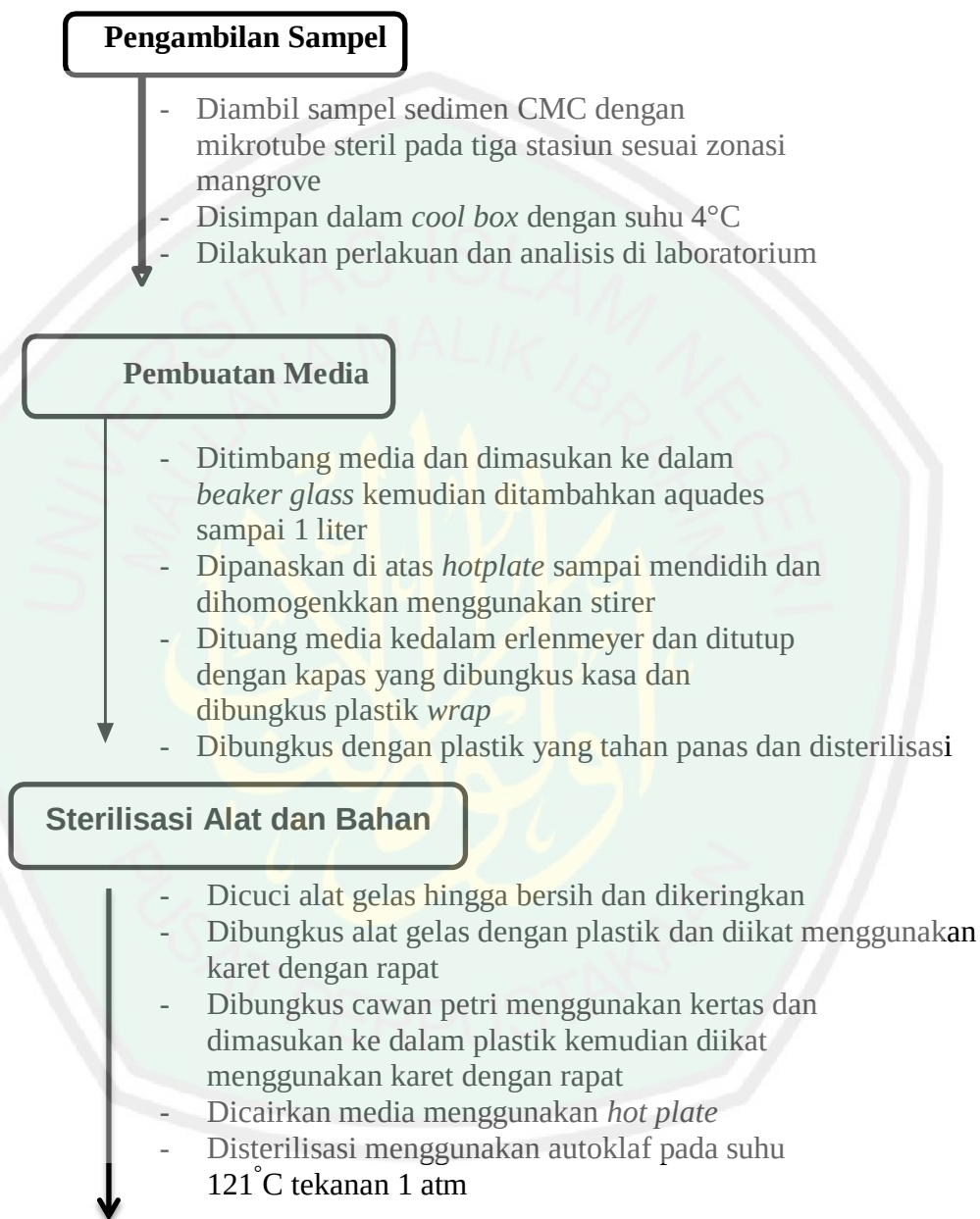
- Rompas. 2010. **Toksikologi Kelautan**. Sekretariat Dewan Kelautan Indonesia. Jakarta Pusat.
- Rumahlatu, D. 2012. Konsentrasi Logam Berat Kadmium pada Air, Sedimen dan *Deadema setosum* (Echinodermata, Echinoidea) di Perairan Pulau Ambon. *Ilmu Kelautan: Indonesia Journal of Marine Sciences*. 16(2):78-85.
- Sahoo, K., & Dhal, N.K. 2008. Potential Microbial Diversity in Mangrove Ecosystem. A Review: *Indian Journal of Marine Science*. 38(2): 249-226.
- Saptarini, D., Indah, T., & Mardian, A.H. 2010. Struktur Komunitas Gastropoda (Moluska) Hutan Mangrove Sendang Biru, Malang Selatan. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya.
- Setiawan, H. 2013. Akumulasi dan Distribusi Logam Berat pada Vegetasi Mangrove di Pesisir Sulawesi Selatan. *Jurnal Ilmu Kehutanan*. 7(1): 12-24.
- Setiawan, H. & Subiandono, E. 2016. Konsentrasi Logam Berat pada Air dan Sedimen di Perairan Pesisir Provinsi Sulawesi Selatan. *Indonesian Forests Rehabilitation Journal*. 3(1): 67-79.
- Setyawan, A.D. 2008. **Biodiversitas Ekosistem Mangrove Di Jawa: Tinjauan Pesisir Utara dan Selatan Jawa Tengah**. Universitas Sebelas Maret. Surakarta. Hlm: 17-94.
- Sharma, V.K., McDonald, T.J., Sohn, M., Anquandah, G.A., Pettine, M. & Zboril, R. 2015. Biogeochemistry of selenium. A review. *Environmental chemistry letters*. 13(1): 49-58.
- Shihab, Q.M. 2002. Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an. Penerbit lentera hati. Jakarta.
- Shukla, K.P., Singh, N.K., and Sharma, S. 2010. Bioremediation: Development, Current Practices and Perspectives. *Genetic Engineering Biotechnol Journal*. 3(8): 1-20.
- Singh, R. 2014. Microorganism As a Tool of Bioremediation Technology for Cleaning Environment: A Review. *Proceeding of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences*. 4(1):1.
- Subandi, H.M. 2014. **Mikrobiologi kajian dalam perspektif islam**. PT Remaja Rosdakarya. Bandung.
- Sumarsih, S. 2003. **Mikrobiologi Dasar**. UPN Veteran. Yogyakarta.
- Susantoro, T.M., Sunarjanto, D., & Andayani, A. 2015. Distribusi logam berat pada sedimen di Perairan Muara dan Laut Propinsi Jambi. *Jurnal Kelautan Nasional*. 10(1): 1-11.
- Suzuki, K. N., Machado, E.C., Machado, W., Bellido, A.V.B., Bellido, L.F., Osso, J.A., & Lopes, R.T. 2012. Selenium, chromium and cobalt diffusion into

mangrove sediments: radiotracer experiment evidence of coupled effects of bioturbation and rhizosphere. *Water, Air, & Soil Pollution*. 223(7): 3887-3892.

- Syarifudin, S. 2013. Pencemaran Lingkungan dalam Perspektif Fiqh. *Hukum Islam*. 13(1): 40-63.
- Tan, L.C., Nancharaiah, Y.V., van Hullebusch, E.D. & Lens, P.N. 2016. Selenium: environmental significance, pollution, and biological treatment technologies. *Biotechnology advances*. 34(5): 886-907.
- Tanaka, M., Knowles, W., Brown, R., Hondow, N., Arakaki, A., Baldwin, S., Staniland, S., & Matsunaga, T. 2016 . Biomagnetic Recovery and Bioaccumulation of Selenium Granules in Magnetotactic Bacteria. *Applied and environmental microbiology*. 82(13): 3886-3891.
- Terry, N., Zayed, A M., De Souza, M.P., Tarun, A.S. 2000. Selenium in higher plants. *Annual Reviews in Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51(1), 401-432.
- 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.
- Vesper, D. J., Roy, M. & Rhoads, C. J. 2008. Selenium distribution and mode of occurrence in the Kanawha Formation, southern West Virginia, USA. *International Journal of Coal Geology*. 73(3-4): 237-249.
- Wang, Y., Qiu, Q., Xin, G., Yang, Z., Zheng, J., Ye, Z., & Li, S. 2013. Heavy Metal Contamination in a Vulnerable Mangrove Swamp in South China. *Environmental Monitoring and Assessment*. 185(7): 5775-5787.
- World Health Organization. 2003. *Guidelines for Safe Recreational Water Environments. Volume 1: Coastal and Fresh Waters*. World Health Organization.
- Wen, H. & Carignan, J. 2007. Reviews on atmospheric selenium: emissions, speciation and fate. *Atmospheric environment*. 41(34): 7151-7165.
- Xia, X., Enokida, Y., Sawada, K., & Ohnuki, T. 2007. Bioreduction of Selenium by Sulfate Reducing Bacterium and its Influence on Selenium Transport in Geological Environment. In *Proceedings of International Symposium on EcoTopia Science 2007, ISETS07* (pp. 1074-1078).
- Yajid, M. 2007. Kajian Pemanfaatan Bakteri Hasil Isolasi Sebagai Agen Bioremediasi Radionuklida Uranium di Lingkungan. *Jurnal Prosiding PPI*. ISSN 0216-3128.
- Zamroni Y, & Rohyani, IS. 2008. Litterfall Production of Mangrove Forest in the Beach Waters of Sepi Bay, West Lombok. *Biodiversity*. 9(4): 284-285.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Metode Kerja



Isolasi dan Uji Resisten Selenit

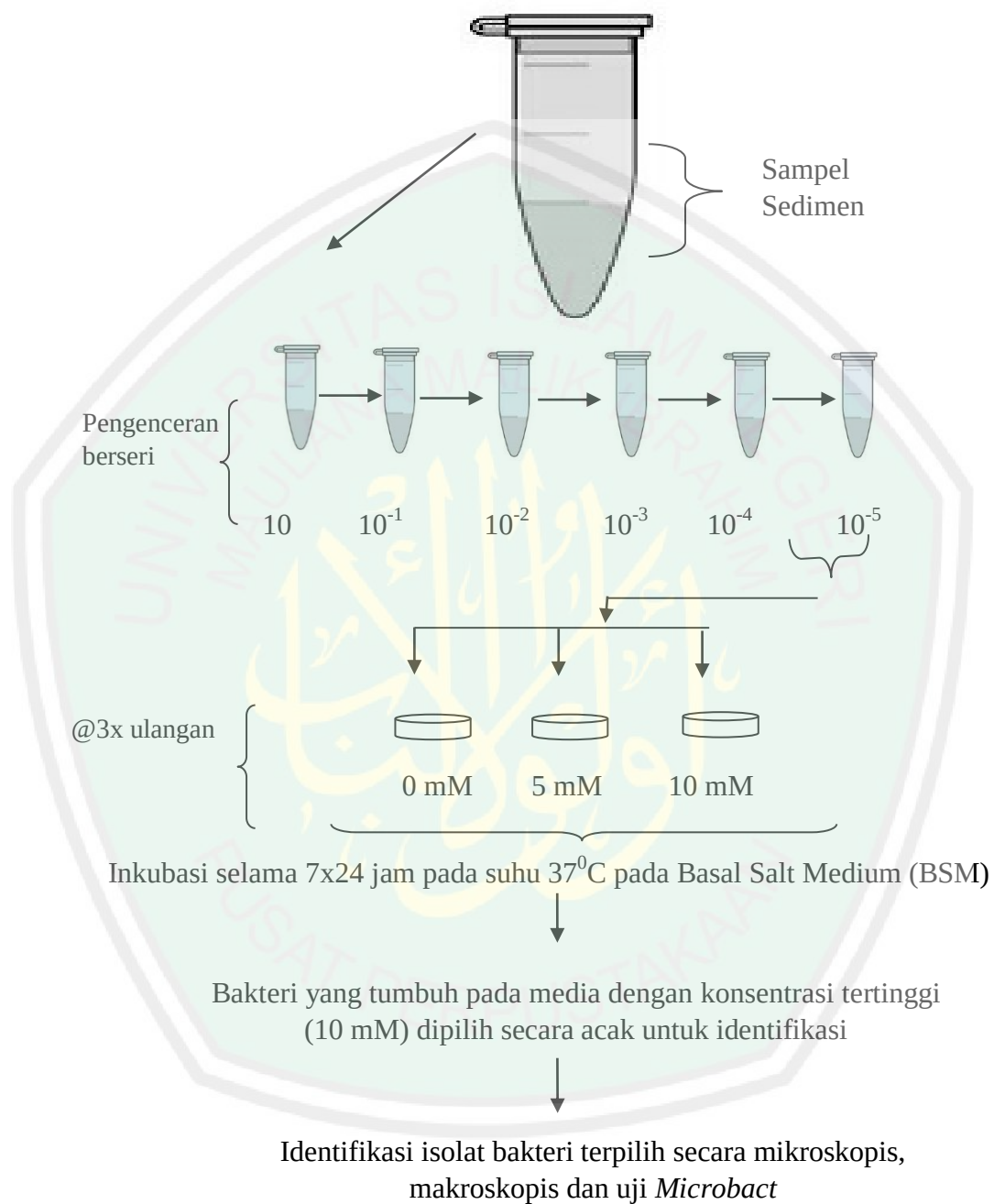
- Dilakukan proses plating
- Diambil 1 g sampel sedimen ditambahkan pada 1 ml aquades steril dan dihomogenkan
- Diambil 100 μl dan dimasukkan pada 900 μl aquades steril, didapatkan pengenceran 10^{-1}
- Dilakukan pengenceran bertingkat hingga pengenceran 10^{-5}
- Diinokulasikan kultur sampel pada pengenceran 10^{-5} di media BSM mengandung sodium selenit (0 mM, 5mM, 10 mM)
- Diinkubasi pada suhu 37°C selama 7 hari
- Diamati koloni yang tumbuh (yang jingga-merah dan tidak)
- Dipilih secara acak bakteri yang tumbuh pada konsentrasi perlakuan tertinggi (10 mM) yang berwarna jingga-merah

Uji Bioakumulasi

- Diinokulasikan isolat bakteri terpilih pada standart media cair yang mengandung 0 μM , 100 μM , dan 200 μM sodium selenit
- Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 25°C dengan kecepatan 130 rpm
- Diukur konsentrasi selenium yang terakumulasi pada bakteri dengan menggunakan AAS

Hasil

Lampiran 2. Prosedur Isolasi Dan Uji Resistensi Se



Lampiran 3. Perhitungan

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

Masa molar Sodium Selenit (Na_2SeO_3) $\rightarrow 173 \text{ g/mol}$

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

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

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

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

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

2. Pembuatan Larutan dengan Perlakuan Sodium Selenit

Cara mendapatkan volume larutan sodium selenit yang akan digunakan sebagai perlakuan pada uji resistensi menggunakan media padat di cawan petri adalah dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$V1.M1 = V2.M2$$

Keterangan:

V1 = Volume larutan yang diambil dari stok sodium selenit

V2 = Volume total media pada cawan petri

M1 = Konsentrasi larutan stok sodium selenit

M2 = Konsentrasi larutan sodium selenit yang digunakan

Pembuatan larutan perlakuan 5 mM sodium selenit

$$V1 . M1 = V2 . M2$$

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

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

Pembuatan larutan perlakuan 10 mM sodium selenit

$$V1 . M1 = V2 . M2$$

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

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

3. Perlakuan Pada Media Cair (3ml)

Perlakuan 10 mM

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

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

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

Perlakuan 5 mM

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

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

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

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

4. Perlakuan pada Media Agar Miring (3ml)

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

5. Media Uji Akumulasi (30ml)

Vol. bakteri : media

1: 99

Perlakuan 10 mM

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

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

$$V1 = \frac{300}{100} \\ = 3 \text{ ml}$$

Perlakuan 5 mM

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

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

$$V1 = \frac{150}{100} \\ = 1,5 \text{ ml}$$

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

6. Konversi ppm ke $\mu\text{g/L}$

$$1 \text{ ppm} = 1 \text{ mg/L} = 1 \mu\text{g/mL}$$

$$1 \mu\text{g/mL} = 1000 \mu\text{g/L}$$

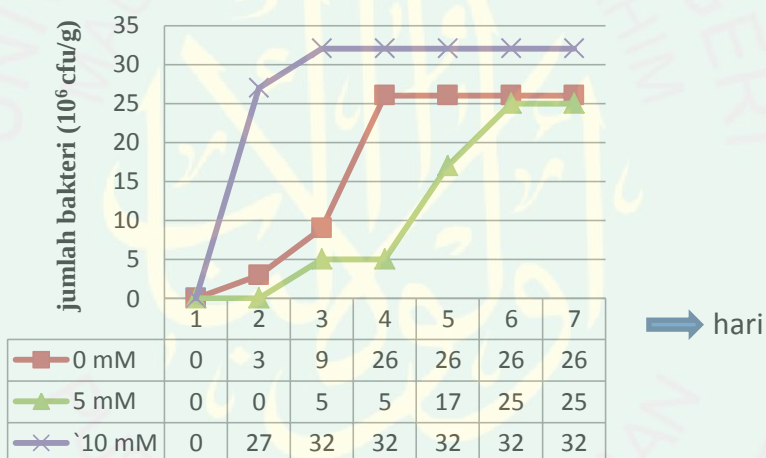
$$1 \text{ ppm} = 1000 \mu\text{g/L}$$

Contoh:

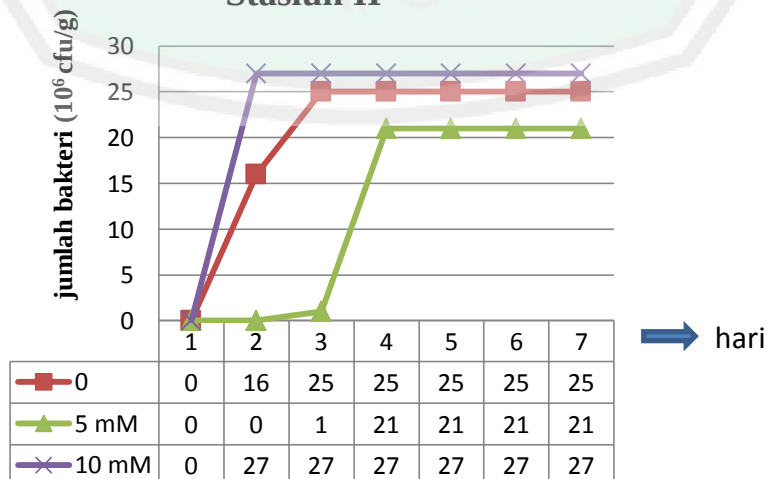
$$2,08 \text{ ppm} = 2.080 \mu\text{g/L}$$

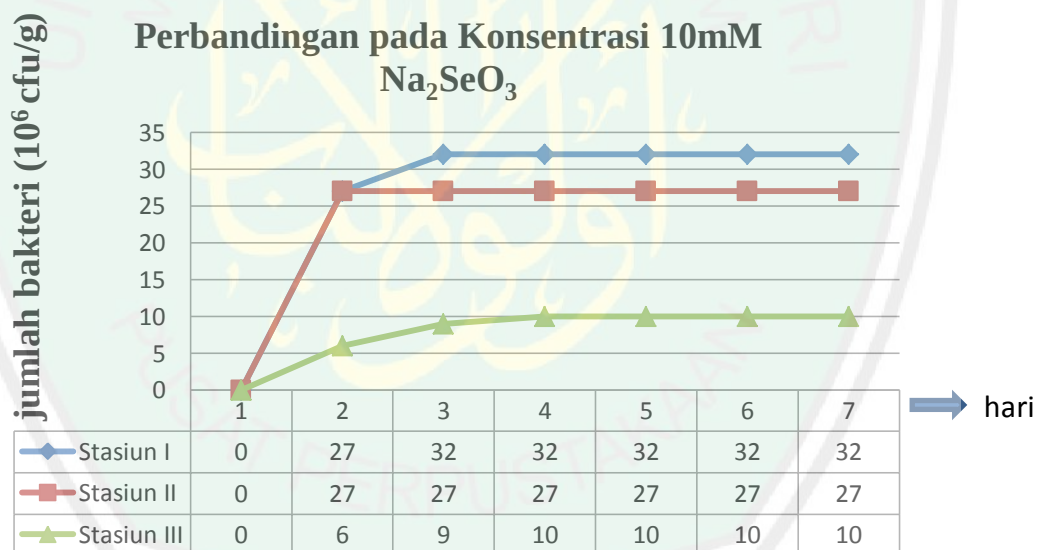
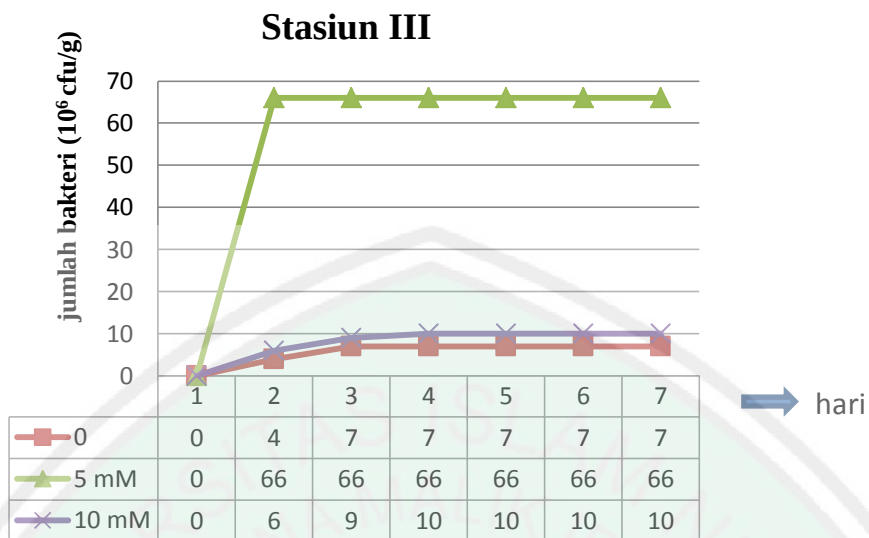
Lampiran 4. Jumlah Bakteri Resisten-Se yang Tumbuh pada Inkubasi Selama 7x24 Jam

Stasiun 1

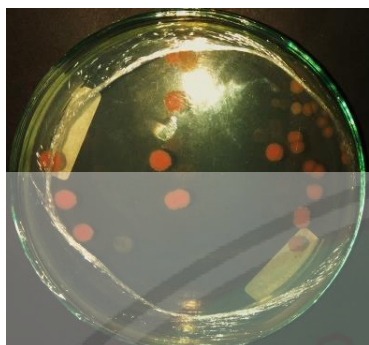


Stasiun II





Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian



Isolat bakteri terpilih pada konsentrasi tertinggi (10 mM)



Hasil dari pengenceran bertingkat (10^{-5})



Pengambilan sampel di Clungup Mangrove Conservation (CMC)



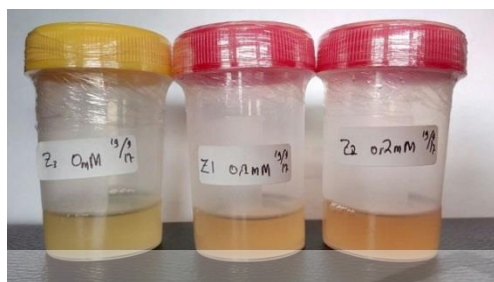
Penanaman pada agar miring



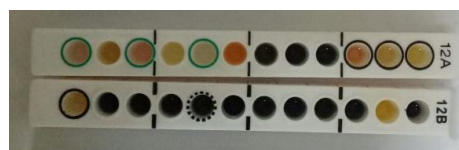
Hasil penanaman pada agar miring



Hasil *Streak Plate* bakteri resisten-Se



Sampel akumulasi selenium



Hasil uji microbact pada kit 12A dan 12B



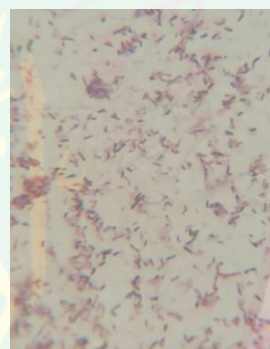
Reagen microbact



Hasil uji oksidase



Pengamatan secara mikroskopis



Pengamatan pewarnaan gram



Pendampingan pengelola CMC



Tempat pengambilan sampel

Lampiran 6. Hasil Uji *Microbact*

No.	Karakteristik	Hasil Pengamtan
1.	Oksidase	+
2.	Motilitas	+
3.	Nitrate	-
4.	Lisin	-
5.	Ornitin	-
6.	H ₂ S	-
7.	Glukosa	-
8.	Manitol	-
9.	Silose	-
10.	ONPG	+
11.	Indol	-
12.	Urease	-
13.	VP	-
14.	Sitrat	-
15.	TDA	-
16.	Gelatin	-
17.	Malonat	-
18.	Inositol	-
19.	Sorbitol	-
20.	Ramnose	-
21.	Sukrosa	-
22.	Laktosa	-
23.	Arabinose	-
24.	Adonitol	-
25.	Rafinose	-
26.	Salisin	-
27.	Arginin	-
28.	Pewarnaan gram	Positif
29.	Bentuk	Batang pendek
Spesies		<i>Bacillus</i> sp.

Lampiran 7. Hasil Uji Bioakumulasi Bakteri Resisten Selenium

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

REPORT

Certificate of Analysis

No : 0703 1/KI/IX-2017
Code : Penelitian
Sample Sender : Mhs.Bio UIN Malang
Sample Name : Bakteri Air Selenium-Z
Test : Se
Sample Brand :
Sample Identity : Cairan keruh
Sample Accepted : 20 Sept.2017

Chemical laboratory test result is :

Kode	Se,ppm		
	1.	2.	3.
0,1	3,88	4,02	4,3 1
0,2	9,90	10,05	10,02
0,0		0,008	

Surabaya, 26 Sept.2017
Head of Chemical Laboratory Researcher

Drs. W. Fatoni, M.S.

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

Konsentrasi	Ulangan			STDEV	Rerata	SE
	1	2	3			
0	0,1	0,12	0,13	0,015275252	0,116666667	6,28611E-05
100 μm	49	50	54	2,645751311	51	0,010887865
200 μm	125	127	127	1,154700538	126,3333333	0,004751854



Lampiran 8. Hasil Analisis Duncan

A. Hasil analisis Duncan Akumulasi Se

Kadar Akumulasi Se

	konsentrasi Se	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Duncan ^a	0	3	.0001		
	0.1	3		.0510	
	0.2	3			.1263
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 9. Surat Izin Pengambilan Sampel di Clungup Mangrove Conservation (CMC)



LEMBAGA MASYARAKAT KONSERVASI BHAKTI ALAM SENDANG BIRU

Sekretariat : Jl. Raya Sendang Biru Rt 27 Rw 03, Desa Tambakrejo,
Kecamatan Sumbermanjing Wetan Kabupaten Malang, Jawa Timur.

Telp : 081233339889 Website : www.bhaktialam.org

Email : bhaktialamsb@gmail.com

NOMOR AHU-0016468.AH.01.12. Tahun 2016, PERDES NOMOR 03 TAHUN 2015

Nomor : 034/ SIP-BASB/ V/ 2017

Hal : Ijin Melakukan Penelitian

Yth. Dekan

Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang

-Di Tempat-

Sehubungan dengan kegiatan penelitian skripsi yang dilaksanakan di area CMC (Clungup Mangrove Conservation) Tiga Warna sesuai dengan surat Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dengan nomor Un.3.6/TL.00/1521/2017, maka bersama ini:

Nama : Izatu Septinaharin M

NIM : 13620019

Program Studi : S1 Biologi

Judul : Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pereduksi Selenium (Se) di Hutan Mangrove Pantai Clungup Desa Tambakrejo, Sumbermanjing Wetan, Malang

Diterima untuk melakukan penelitian skripsi di CMC Tiga Warna yang dikelola oleh Lembaga Bhakti Alam Sendang Biru dengan syarat sebagai berikut:

1. Mahasiswa wajib melakukan presentasi hasil penelitiannya di depan tokoh masyarakat setempat sebelum melakukan wisuda.
2. Mahasiswa wajib menyerahkan laporan hasil penelitiannya (*hardcopy*) kepada Lembaga Bhakti Alam Sendang Biru sebelum melakukan wisuda.

Demikian surat ijin penelitian skripsi ini dibuat untuk dilaksanakan sebagaimana mestinya. Atas perhatian dan kerjasamanya, kami sampaikan terimakasih.

Sendang Biru, 31 Mei 2017

Ketua Lembaga
Bhakti Alam Sendang Biru


SAPTOYO
BHAKTI ALAM
SENDANG BIRU

Tembusan:

1. Sdri. Izatu Septinaharin M
2. Dosen Pembimbing: Romaidi, M.Si., D.Sc

Lampiran10. Hasil Uji Pendahuluan Kandungan Selenium Pada Stasiun I,II dan III

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

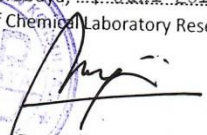
REPORT

Certificate of Analysis

No : 06714/KI/VI-2017
 Code : Penelitian
 Sample Sender : Mhs.UIN Malang
 Sample Name : Sediment
 Test : Se
 Sample Brand :
 Sample Identity : Padatan kecoklatan
 Sample Accepted : 2 Juni 2017

Chemical laboratory test result is :

Kode	Se, ppm
I1	2,08
I2	1,44
I3	1,26

Surabaya, ...7...Juni...2017
 Head of Chemical Laboratory Researcher

 Drs M. Fatoni, M.S.

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



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 Mahasiswa : Izatu Septinaharin M
NIM : 13620019
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap/Ganjil TA 2019/2020
Pembimbing : Bayu Agung Prahardika, M. Si
Judul Skripsi : Isolasi Bakteri Resisten Selenium (Se) dari *Clungup Mangrove Conservation* (CMC) dan Kemampuannya dalam Mengakumulasi Selenium

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	11 Februari 2020	Konsultasi BAB IV	Bp
2	8 Juni 2020	Revisi BAB IV	Bp Bp
3	15 Juni 2020	Revisi BAB IV	Bp Bp
4	18 Juni 2020	Revisi BAB IV	Bp Bp
5	22 Juni 2020	Revisi BAB IV	Bp Bp
6	25 Juni 2020	Revisi BAB IV	Bp Bp
7	30 Juni 2020	Konsultasi naskah keseluruhan	Bp Bp
8	16 Juli 2020	Revisi naskah pasca skripsi	Bp Bp
9	27 Juli 2020	Revisi naskah pasca skripsi	Bp Bp
10	28 Juli 2020	ACC naskah skripsi	Bp

Mengetahui,
Dosen Pembimbing,

Bayu Agung Prahardika, M. Si
NIP. 19900807 2019031 011



Malang, 28 Juli 2020
Kepala Jurusan,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002



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 Mahasiswa : Izatu Septinaharin M
NIM : 13620019
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap/Ganjil TA 2019/2020
Pembimbing : Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M. S.I
Judul Skripsi : Isolasi Bakteri Resisten Selenium (Se) dari *Chungup Mangrove Conservation* (CMC) dan Kemampuannya dalam Mengakumulasi Selenium

No	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD. PEMBIMBING
1	25 Juni 2020	Konsul Integrasi Naskah Skripsi	
2	1 Juli 2020	Revisi Integrasi Naskah	
3	18 Juli 2020	Revisi Integrasi Naskah	
4	22 Juli 2020	ACC Naskah Skripsi	
5			
6			
7			

Mengetahui,
Dosen Pembimbing

Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M. S.I
NIPT. 2014020011409



Malang, 23 Juli 2020...
Ketua Jurusan,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP 19741018 200312 2 002