

**POTENSI BAKTERI INDIGEN DALAM MENAKUMULASI TIMBAL
(Pb) DARI SUNGAI WONOKROMO, KOTA SURABAYA**

SKRIPSI

**Oleh:
EKA FEBRIANA MILENIA WATI
NIM 18620094**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

**POTENSI BAKTERI INDIGEN DALAM MENAKUMULASI TIMBAL
(Pb) DARI SUNGAI WONOKROMO, KOTA SURABAYA**

SKRIPSI

**Oleh:
EKA FEBRIANA MILENIA WATI
NIM. 18620094**

**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)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

**POTENSI BAKTERI INDIGEN DALAM MENAKUMULASI TIMBAL
(Pb) DARI SUNGAI WONOKROMO, KOTA SURABAYA**

SKRIPSI

Oleh:
EKA FEBRIANA MILENIA WATI
NIM. 18620094

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
tanggal: 5 September 2022

Dosen Pembimbing I



Tyas Nyonita Punjungsari, M. Sc
NIP. 19920507 201903 2 026

Dosen Pembimbing II



Mujahidin Ahmad, M. Sc
NIP. 19860512 201903 1 002



Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi

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

**POTENSI BAKTERI INDIGEN DALAM MENAKUMULASI TIMBAL
(Pb) DARI SUNGAI WONOKROMO, KOTA SURABAYA**

SKRIPSI

Oleh:
EKA FEBRIANA MILENIA WATI
NIM. 18620094

Telah dipertahankan
Di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai salah satu
persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 26 September 2022

Ketua Penguji : Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si
NIP. 19650509 1999903 2 002
Anggota Penguji 1 : Bayu Agung Prahardika, M.Si
NIP. 19900807 201903 1 011
Anggota Penguji 2 : Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc
NIP. 19920507 201903 2 026
Anggota Penguji 3 : Mujahidin Ahmad, M.Sc
NIP. 19860512 2019031 002

(.....)
(.....)
(.....)
(.....)

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Biologi



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

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah rabbil 'alamin dengan memanjatkan ucapan syukur kepada Allah SWT atas segala berkat dan rahmatNya, penulis dapat menyelesaikan tugas akhir skripsi ini dengan segala kekurangannya. Skripsi ini kupersembahkan sebagai bukti semangat usahaku, serta cinta, kasih sayang dan dukungan orang-orang yang sangat berharga dalam hidupku.

Karya yang sederhana ini penulis persembahkan kepada:

1. Orangtua tercinta, Bapak Guntur Sugihartono dan Ibu Siti Fatimah yang telah mendidik saya dengan penuh kesabaran dan kasih sayang hingga saat ini. Tanpa adanya doa, dukungan dan motivasi dari beliau, skripsi ini tidak akan terselesaikan dengan baik. Semoga penulis dapat menjadi anak yang membanggakan dan dapat membahagiakan keduanya.
2. Adik tercinta, Almh. Fida Laili Huwaidah yang telah menemani penulis selama 16 tahun, menemani proses pengerjaan skripsi hingga larut malam, membantu menyiapkan segala keperluan sehari-hari penulis dan selalu menjadi sumber kebahagiaan penulis.
3. Ibu Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc selaku dosen pembimbing penulis yang selalu mengingatkan, memberikan masukan, bantuan dan motivasi selama proses pengerjaan skripsi.
4. Keluarga besar penulis yang telah mendukung, mendoakan, memberikan masukan hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Teman-teman seperjuangan Biologi 2018, khususnya Aini, Lintang, Mita, Sonia, Pandu, Eni, Tania, Caesar yang telah menjadi teman seperjuangan

penulis, banyak memberikan motivasi, membantu selama proses perkuliahan hingga terselesaikannya skripsi ini.

6. Teman-teman UKM KSR-PMI, khususnya Bella, Rossy, Zacky, Alvin yang selalu meluangkan waktunya untuk menemani penulis, memberikan motivasi dan bantuan, serta selalu menjadi rumah kedua bagi penulis.
7. Sahabat-sahabat penulis dari masa sekolah, Salsabila, Laras dan Aldaffan yang telah menemani dan membantu penulis selama proses pengambilan sampel di Kota Surabaya, serta selalu memberikan dukungan.
8. Sahabat-sahabat penulis lainnya, Anggun, Devina, Fizna, Maria, Riesa, Deuis, Yana, Arya yang selalu mendengarkan keluh kesah penulis dan banyak memberikan bantuan.
9. *Last but not least, I wanna thank me, I wanna thank me for believing in me, I wanna thank me for doing all this hard work, I wanna thank me for having no days off, I wanna thank me for never quitting, for just being me at all times.*

MOTTO

Don't just thinking outside the box. Do it!

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Eka Febriana Milenia Wati
NIM : 18620094
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Potensi Bakteri Indigen Dalam Mengakumulasi
Timbal (Pb) dari Sungai Wonokromo, Kota Surabaya

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

Malang,..... 2022
Yang membuat pernyataan,



METRAL
TEMPEL
46F78AKX105715800

Eka Febriana Milenia Wati
NIM. 18620094

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

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

POTENSI BAKTERI INDIGEN DALAM MENGAKUMULASI TIMBAL (Pb) DARI SUNGAI WONOKROMO, KOTA SURABAYA

ABSTRAK

Eka Febriana Milenia Wati, Tyas Nyonita Punjungsari, Mujahidin Ahmad

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

Salah satu sungai besar di Kota Surabaya yang kondisi airnya tercemar logam berat timbal (Pb) adalah Sungai Wonokromo. Sungai Wonokromo memiliki kandungan Pb yang berada di kisaran 1,5 – 2,0 ppm, yang berarti berada di atas ambang batas kadar Pb yang diperbolehkan untuk air sungai kelas 2. Upaya yang dapat dilakukan untuk menangani pencemaran dan kandungan Pb pada sungai tersebut adalah melalui bioremediasi. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui spesies bakteri pengakumulasi Pb dan kemampuannya dalam mengakumulasi Pb. Penelitian ini menggunakan jenis penelitian deskriptif kuantitatif eksperimental. Sampel air berasal dari Sungai Wonokromo, Kota Surabaya pada tiga stasiun berbeda dan dilakukan pengukuran suhu dan pH. Isolasi bakteri Sungai Wonokromo menggunakan metode *dillution, pour plate* dan *streak plate*. Identifikasi bakteri dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis yang meliputi uji pewarnaan gram dan biokimia menggunakan *Microbact Identification Kits*. Tingkat resistensi bakteri terhadap Pb diuji menggunakan spektrofotometer. Kadar Pb yang digunakan untuk uji resistensi adalah 0, 1.5, 2, 3 dan 4 ppm. Kadar Pb yang digunakan untuk uji penurunan Pb adalah 4 ppm, dilakukan menggunakan menggunakan AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*) untuk mengetahui kadar Pb yang tersisa. Data yang didapatkan kemudian disajikan secara deskriptif dan dilakukan analisis statistik menggunakan uji T. Hasil dari penelitian ini adalah didapatkan tiga isolat bakteri yang paling mampu mengakumulasi Pb. Isolat tersebut antara lain adalah S1P1(1) (*Pseudomonas pseudomallei*) yang mampu menurunkan Pb sebesar 94,75%, S2P2(2) (*Bacillus subtilis*) sebesar 94,5% dan S3P2(2) (*Pseudomonas pseudomallei*) (S3P2(2)) sebesar 95,25%.

Kata kunci: sungai wonokromo, bakteri indigen, timbal, bioremediasi

POTENTIAL OF INDIGENOUS BACTERIA IN ACCUMULATING LEAD (Pb) FROM WONOKROMO RIVER, SURABAYA CITY

ABSTRACT

Eka Febriana Milenia Wati, Tyas Nyonita Punjungsari, Mujahidin Ahmad

Biology Study Program, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Malang

Wonokromo River is one of the streams of the Surabaya River which is polluted by heavy metal lead (Pb). Pb levels in this river are above the threshold set in Government Regulation of the Republic of Indonesia Number 22 of 2021. Efforts that can be made to reduce the heavy metal pollution in these waters are through bioremediation. This study aims to determine the species of Pb-accumulating bacteria and their ability to accumulate Pb. The type of this research is descriptive quantitative experimental. The air samples are taken from the Wonokromo River, Surabaya City in three different stations. Isolation of bacteria is using dilution method, pour plate method and streak plate method. Identification of bacteria is carried out macroscopically, microscopically with Gram stain test and biochemical test using Microbact Identification Kits. The level of bacterial resistance to Pb is tested using a spectrophotometer. The Pb levels used for the resistance test are 0, 1.5, 2, 3 and 4 ppm. The Pb reduction test is carried out using an atomic absorption spectrophotometer (AAS) to determine the remaining Pb levels. The Pb level used for the reduction test is 4 ppm. The data obtained are presented descriptively and statistical analysis using the T test. The results of this study indicate that there are three bacterial isolates that are the most capable of accumulating Pb. These isolates included S1P1(1) (*Pseudomonas pseudomallei*) which is able to reduce Pb by 94.75%, S2P2(2) (*Bacillus subtilis*) by 94.5% and S3P2(2) (*Pseudomonas pseudomallei*) (S3P2(2)) of 95.25%.

Keywords: Wonokromo River, Indigenous bacteria, lead, bioremediation

احتمالية وجود البكتيريا الأصلية في تراكم الرصاص (*Pb*) من نهر وونكرومو، مدينة سورابايا

ملخص البحث

إيكا فييريانا ميلينيا واتي، تياس نيونيتا بونجونجساري، مجاهدين أحمد

برنامج دراسة الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

يعد نهر وونكرومو أحد الأنهار الرئيسية في مدينة سورابايا التي تلوثت ظروفها المائية بالرصاص المعدي الثقيل (*Pb*). يحتوي نهر وونكرومو على محتوى من الرصاص في حدود 1.5 - 2.0 جزء في المليون، مما يعني أنه أعلى من عتبة مستوى الرصاص المسموح به لمياه النهر من الفئة 2. الجهود التي يمكن بذلها للتعامل مع التلوث ومحتوى الرصاص في النهر تتم من خلال المعالجة البيولوجية. تم إجراء هذا البحث بهدف معرفة أنواع البكتيريا المترابطة للرصاص وقدرتها على تراكم الرصاص. يستخدم هذا البحث البحث التجريبي الكمي الوصفي. جاءت عينات المياه من نهر وونكرومو، مدينة سورابايا في ثلاث محطات مختلفة وأخذت قياسات درجة الحرارة ودرجة الحموضة. عزل بكتيريا نهر وونكرومو باستخدام التخفيف، صب اللوح وطريقة الصفيحة الخطية. تم إجراء التعرف على البكتيريا بشكل مجهري وميكروسكوبي والذي تضمن تلوين الجرام والاختبارات البيوكيميائية باستخدام مجموعات تحديد البكتيريا الدقيقة. تم اختبار مستوى المقاومة البكتيرية للرصاص باستخدام مقياس الطيف الضوئي. كانت مستويات الرصاص المستخدمة لاختبار المقاومة 0، 1.5، 2، 3 و 4 جزء في المليون. كان مستوى الرصاص المستخدم في اختبار تقليل الرصاص هو 4 جزء في المليون، تم إجراؤه باستخدام AAS (مقياس طيف الامتصاص الذري) لتحديد مستويات الرصاص المتبقية. تم عرض البيانات التي تم الحصول عليها وصفيًا وتم إجراء التحليل الإحصائي باستخدام اختبار *T*. وكانت نتائج هذه الدراسة أن ثلاث عزلات بكتيرية كانت الأكثر قدرة على تراكم الرصاص. اشتملت العزلات على *Pseudomonas SIP1 (1)* بنسبة *pseudomallei* والتي تمكنت من تقليل *Pb* بنسبة 94.75%، *Bacillus subtilis* (*S2P2 (2)*) بنسبة 94.5% و *Pseudomonas pseudomallei* (*S3P2(2)*) بنسبة 95.25%.

تأملكتا تيسينرلا: نهر وونكرومو، البكتيريا الأصلية، الرصاص، خلال المعالجة البيولوجية.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Bismillahirrohmaanirrohiim, Puji syukur kehadiran Allah SWT, karena atas rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul “Potensi Bakteri Indigen dalam Mengakumulasi Timbal (Pb) dari Sungai Wonokromo, Kota Surabaya”. Sholawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada junjungan kita Nabi besar Muhammad SAW yang telah membimbing kita dari kegelapan menuju jalan kebaikan, yakni Din al-Islam.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan tugas akhir ini tidak akan berhasil tanpa adanya bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih yang tak terkira khususnya kepada:

1. Prof. Dr. M. Zainuddin, M.A selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Hariani, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc dan Mujahidin Ahmad, M.Sc, selaku pembimbing I dan II, yang senantiasa sabar memberikan dukungan, motivasi, waktu, daran dan arahan sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.
5. Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si selaku Dosen wali, yang telah membimbing dan memberikan masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.
6. Seluruh Dosen dan Staf di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang senantiasa ikhlas memberikan ilmu, bantuan dan dorongan semangat semasa perkuliahan.
7. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, atas keikhlasan bantuan dan dukungan, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis, akan mendapatkan balasan dari Allah SWT. Penulis menyadari bahwa penulisan tugas akhir ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang konstruktif demi kesempurnaan penulisan ini. Penulis berharap semoga karya yang sederhana ini dapat bermanfaat dengan baik bagi semua pihak. *Aamiin.*

Wassalamu 'alaikum Wr. Wb.

Malang, 29 Agustus 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
HALAMAN MOTTO	vii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	viii
HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	ix
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
ملخص البحث	xii
KATA PENGANTAR	xiii
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTARLAMPIRAN	xix
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Manfaat	7
1.5 Batasan Masalah.....	8
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Pencemaran Lingkungan.....	9
2.2 Sungai Wonokromo	10
2.3 Logam Berat.....	12
2.4 Timbal.....	13
2.5 Bioremediasi	16
2.6 Macam-macam Bioremediasi	18
2.7 Bakteri.....	19
2.8 Bakteri Indigen.....	20
2.9 Fase Pertumbuhan Bakteri	21
2.10 Bakteri Sebagai Agen Bioremediasi.....	24
2.11 Bakteri Pengakumulasi Timbal (Pb)	25
2.12 Mekanisme Resistensi Bakteri Terhadap Timbal (Pb)	27
2.13 Isolasi Bakteri	30
2.14 Identifikasi Makroskopis	31
2.15 Uji Pewarnaan Gram	32
2.16 Uji Biokimia.....	33

BAB III. METODE PENELITIAN	37
3.1 Rancangan Penelitian	37
3.2 Waktu dan Tempat	37
3.3 Alat dan Bahan	37
3.3.1 Alat	37
3.3.2 Bahan	38
3.4 Prosedur Kerja.....	38
3.4.1 Penentuan Lokasi Pengambilan Sampel	38
3.4.2 Pengambilan Sampel.....	39
3.4.3 Sterilisasi Alat	40
3.4.4 Pembuatan Media	40
3.4.5 Penentuan Larutan Stok Timbal Nitrat	41
3.4.6 Isolasi Bakteri.....	41
3.4.7 Uji Resistensi Bakteri Indigen terhadap Timbal (Pb).....	42
3.4.8 Identifikasi Isolat Bakteri	43
3.4.9 Uji Penurunan Pb oleh Bakteri Indigen	45
3.4.10 Pengukuran Kadar Pb Menggunakan AAS	46
3.4.11 Pengukuran Efisiensi Penurunan Kadar Pb oleh Bakteri Indigen	46
3.4.12 Analisis Data	47
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	48
4.1 Karakterisasi Lingkungan Sungai Wonokromo	48
4.2 Isolat Bakteri Pengakumulasi Timbal (Pb) dari Sungai Wonokromo 53	
4.2.1 Isolasi Bakteri dari Sungai Wonokromo	53
4.2.2 Uji Resistensi Bakteri Terhadap Timbal (Pb)	53
4.2.3 Identifikasi Bakteri Resisten Timbal (Pb) Secara Makroskopis 55	
4.2.4 Identifikasi Bakteri Resisten Timbal (Pb) Secara Mikroskopis 58	
4.2.5 Hasil Uji Biokimia Isolat Bakteri Resisten Timbal (Pb)	61
4.3 Uji Penurunan Kadar Timbal (Pb) oleh Bakteri.....	66
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	73
5.1 Kesimpulan	73
5.2 Saran.....	73
 DAFTAR PUSTAKA	74
LAMPIRAN	83

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 3. 1 Pembuatan media NA yang diperkaya Pb 1,5 ppm.....	41
Tabel 3. 2 Pembuatan media NB yang diperkaya Pb	42
Tabel 4. 1 Hasil pengukuran suhu dan pH pada air Sungai Wonokromo	48
Tabel 4. 2 Hasil Identifikasi Isolat Bakteri Secara Makroskopis	57
Tabel 4. 3 Hasil Uji Pewarnaan Gram Isolat Bakteri dari Sungai Wonokromo ...	59
Tabel 4. 4 Hasil Uji Biokimia Isolat Bakteri dari Sungai Wonokromo	62
Tabel 4. 5 Hasil Uji Penurunan Timbal (Pb) oleh Ketiga Isolat Bakteri	67
Tabel 4. 6 Waktu terjadinya fase pertumbuhan ketiga isolat bakteri Sungai Wonokromo	69

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2. 1 Peta Lokasi Penelitian.....	11
Gambar 2. 2 Fase Petumbuhan Bakteri.....	21
Gambar 2. 3 Mekanisme Resistensi Bakteri Terhadap Timbal (Pb)	27
Gambar 2. 4 Karakter Makroskopis Koloni Bakteri.....	32
Gambar 3. 1 Peta Lokasi Penelitian yang telah dioperasikan menggunakan QGIS 3.16.....	38
Gambar 3. 2 Lokasi Penelitian	39
Gambar 4. 1 Hasil Pengukuran Nilai OD untuk Uji Resistensi	54
Gambar 4. 2 Gambar Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri	57
Gambar 4. 3 Hasil Pewarnaan Gram Isolat Bakteri dari Sungai Wonokromo	61
Gambar 4. 4 Kurva Pertumbuhan Bakteri Berdasarkan Nilai OD	68

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Metode Kerja	83
Lampiran 2. Pembuatan Media yang Diperkaya Timbal Nitrat ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$)	85
Lampiran 3. Hasil Pengukuran Kadar Timbal (Pb) Sungai Wonokromo	88
Lampiran 4. Nilai OD pada Uji Resistensi Bakteri Terhadap Pb	89
Lampiran 5. Hasil Pengukuran <i>Optical Density</i> (OD) untuk Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri	90
Lampiran 6. Hasil Identifikasi Berdasarkan Uji Biokimia Isolat Bakteri Sungai Wonokromo.....	91
Lampiran 7. Hasil Analisis Penurunan Kadar Pb oleh Bakteri dan Hasil Identifikasi Bakteri Secara Biokimia	94
Lampiran 8. Hasil Analisis Statistik	95
Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian.....	96
Lampiran 10. Form Checklist Plagiasi.....	102
Lampiran 11. Kartu Konsultasi Dosen Pembimbing I.....	103
Lampiran 12. Kartu Konsultasi Dosen Pembimbing II	104

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pencemaran lingkungan merupakan keadaan dimana kualitas lingkungan menurun dan tidak dapat digunakan sesuai dengan fungsi awalnya. Pencemaran lingkungan ini terjadi karena masuknya suatu komponen seperti zat, energi, dan makhluk hidup kedalam lingkungan yang dapat mengganggu aktivitas didalamnya hingga menyebabkan penurunan kualitas lingkungan tersebut (Fakhrudin *et al.*, 2008). Bahan pencemar dapat berasal dari aktivitas manusia seperti kegiatan industri, rumah tangga, maupun pertanian. Kegiatan-kegiatan yang bersifat membuang bahan pencemar ke badan perairan seperti sungai, waduk dan danau berpotensi menyebabkan penurunan kualitas perairan yang signifikan. Pengendalian terhadap pencemaran air telah diatur oleh pemerintah melalui beberapa peraturan, seperti PP No. 82 tahun 2001 serta Permen LH No.13 tahun 2010. Namun dalam prakteknya, penegakan hukum atas pengendalian pencemaran tersebut belum mendapatkan mendapat pengawasan yang maksimal, sehingga penurunan kualitas air masih terus berlangsung. Tercatat sekitar 74% sungai di Pulau Jawa, terutama sungai besarnya tidak memenuhi Kriteria Air Kelas II (Priadie, 2012). Penurunan kualitas pada air sungai akan menurunkan fungsinya dan mengganggu aktivitas makhluk hidup akuatik didalamnya yang telah mempunyai peran masing-masing untuk menjaga keseimbangan lingkungan perairan (Afrianti, 2020).

Penurunan kualitas perairan merupakan suatu hal yang terjadi akibat perusakan lingkungan oleh manusia. Penurunan kualitas perairan dapat disebabkan oleh zat pencemar organik maupun anorganik. Zat pencemar

anorganik yang membahayakan kualitas perairan salah satunya yaitu logam berat (Ramliya, 2018). Bahan pencemar yang masuk kedalam perairan dapat mengalami proses pengendapan dan penyebaran yang mencakup area yang lebih luas (Erlangga, 2007). Adanya logam berat di dalam perairan ini erat kaitannya dengan aktivitas manusia yang menghasilkan limbah domestik dan limbah industri. Logam berat dapat ditemukan dalam badan air, maupun sedimen pada dasar perairan (Budiastuti dkk., 2016). Logam berat yang semakin lama terakumulasi di perairan nantinya akan menyebabkan perubahan ekosistem dan kondisi perairan, seperti perubahan temperatur, pH, BOD, dan COD (Heriyanto, 2011). Logam berat masuk kedalam perairan akan melalui dua proses, yaitu pengendapan serta adsorpsi oleh makhluk hidup. Jika konsentrasi logam berat dalam perairan lebih tinggi daripada daya larutnya, maka logam berat tersebut akan mengendap. Kadar logam berat yang mengendap pada dasar perairan dapat bertambah maupun berkurang tergantung pada kondisi lingkungan badan air (Sitorus, 2004).

Salah satu dari beberapa jenis logam berat yang merupakan komponen pencemar perairan adalah timbal (Pb). Pb memiliki kemampuan dalam membentuk ikatan dengan logam lain yang dapat meningkatkan sifat metalurginya, sehingga banyak dimanfaatkan dalam konstruksi pabrik-pabrik kimia, pembuatan kabel listrik, industri baterai, dan kontainer. Selain itu, timbal juga memiliki kemampuan untuk tidak mengalami korosi (Palar, 2012).

Timbal (Pb) membahayakan kehidupan organisme dan lingkungan, serta termasuk logam berat yang dikategorikan dalam bahan berbahaya dan beracun. Keberadaan timbal di udara dapat dikristalkan dengan bantuan air hujan, dan secara ilmiah masuk kedalam perairan. Tingginya kadar timbal (Pb) pada

perairan, baik pada badan air maupun yang mengalami pengendapan pada dasar perairan akan menyebabkan makhluk hidup akuatik tercemar dan jika dikonsumsi tentunya akan membahayakan kesehatan (Budiastuti dkk., 2016). Logam berat yang masuk kedalam tubuh organisme dan terakumulasi dalam jaringan tubuhnya dalam kurun waktu yang lama dapat menjadi racun. Hal ini dikarenakan logam berat, salah satunya Pb dapat berikatan dengan protein metalotionin sehingga dapat menyebabkan keracunan (Darmono, 1995 dalam Murtini *et al.*, 2003).

Logam berat adalah bahan kimia golongan logam yang tidak dibutuhkan dalam tubuh manusia, sehingga dalam kadar yang tinggi atau berlebihan akan mengakibatkan dampak yang negatif terhadap fungsi fisiologis tubuh (Palar, 2012). Timbal (Pb) beresiko mengakibatkan gangguan kesehatan tulang, sistem saraf, pembuluh darah, dan otak karena bersifat karsinogen. Gangguan kesehatan yang biasanya dialami oleh seseorang yang mengalami keracunan Pb adalah gangguan konsentrasi dan ingatan, tekanan darah tinggi, nyeri pada sendi dan otot (Palar, 2012).

Sungai yang disalahgunakan sebagai tempat pembuangan limbah, baik domestik maupun industri menyebabkan bahan pencemar tersebut terdistribusi hingga ke muara sungai maupun laut. Sungai Wonokromo merupakan salah satu percabangan Sungai Surabaya yang dari daerah Jagir Wonokromo mengalir ke arah timur. Sungai tersebut menerima beban pencemar dari limbah domestik maupun industri. Menurut Peraturan Gubernur No. 61 Tahun 2010, Sungai Surabaya ditetapkan sebagai sungai kelas II, dimana air sungainya diperuntukkan sebagai sarana rekreasi air, pembudidayaan air tawar, peternakan, dan untuk mengairi pertanian.

Status mutu air Sungai Wonokromo adalah tercemar sedang dan termasuk dalam kelas C. Hal ini didasarkan pada penelitian Purnamasari (2017) yang melakukan uji kualitas air dengan menggunakan metode storet (Natalia, 2013). Salah satu beban pencemar anorganik pada sungai ini adalah timbal (Pb). Menurut pernyataan Murnitasari (2009), Sungai Wonokromo merupakan anak Sungai Surabaya dimana disekitar aliran Sungai Surabaya terdapat beberapa industri yang menghasilkan limbah berupa logam berat Pb. Beberapa industri tersebut diantaranya adalah 1 industri zat kimia, 9 industri kertas dan 3 industri logam. Berdasarkan hasil uji pendahuluan dapat dinyatakan bahwa tingkat akumulasi timbal (Pb) pada stasiun pertama (pintu air Sungai Wonokromo) adalah sebesar 1,56 ppm. Tingkat akumulasi Pb pada stasiun kedua (bawah jembatan medokan semampir) adalah sebesar 1,85 ppm. Tingkat akumulasi Pb pada stasiun ketiga (hilir sungai Wonokromo) adalah sebesar 2,01 ppm. Kadar timbal (Pb) pada sungai tersebut termasuk dalam kategori tinggi dan berada diatas ambang batas maksimal timbal (Pb) yang diperbolehkan pada air sungai. Ambang batas timbal (Pb) pada sungai kelas 2 menurut Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 22 Tahun 2021 tentang Penyelenggaraan Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup adalah 0,03 ppm.

Upaya untuk mengatasi pencemaran lingkungan tersebut dapat dilakukan dengan bantuan makhluk hidup, seperti mikroorganisme. Mikroorganisme dapat dimanfaatkan untuk membantu mengatasi pencemaran logam berat Pb di lingkungan perairan melalui bioremediasi. Penggunaan mikroorganime, khususnya bakteri sebagai agen bioremediasi untuk mengatasi atau mengurangi kandungan logam berat di lingkungan perairan telah banyak diteliti. Pengkajian

tentang penggunaan bakteri sebagai agen bioremediasi merupakan bentuk pengamalan atas perintah Allah SWT untuk senantiasa berfikir bahwa segala sesuatu yang diciptakan di muka bumi ini memiliki manfaat sebagaimana dalam Q.S Yunus ayat 101 :

قُلْ أَنْظَرُوا مَاذَا فِي السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ وَمَا تُغْيِي الْاٰيٰتِ وَالنُّذُرْ عَنْ قَوْمٍ لَا يُؤْمِنُوْنَ ۝۱۰۱

Artinya: *"Katakanlah: "Perhatikanlah apa yang ada di langit dan di bumi. Tidaklah bermanfaat tanda kekuasaan Allah dan rasul-rasul yang memberi peringatan bagi orang-orang yang tidak beriman." (Q.S Yunus [10]: 101)*

Ayat tersebut menjelaskan bahwa manusia harus berfikir tentang segala sesuatu yang telah diciptakan Allah SWT di muka bumi ini. Segala hal yang terdapat di muka bumi ini merupakan bukti keagungan Allah SWT. Atas kuasa Allah SWT, makhluk hidup diciptakan dengan beragam bentuk dan manfaat (Ibnu Katsir, 2005). Salah satu makhluk hidup di muka bumi ini yang memiliki banyak manfaat adalah mikroorganisme.

Bioremediasi merupakan suatu upaya pengendalian pencemaran yang dapat dilakukan dengan memanfaatkan mikroorganisme, baik dengan mikroba indigen saja maupun ditambahkan dengan mikroba eksogen (Maulana dkk., 2017). Bioremediasi menjadi alternatif pilihan dalam pengolahan air yang tercemar limbah, karena harganya lebih terjangkau daripada menggunakan bahan kimia. Penggunaan bahan kimia juga beresiko menghasilkan produk akhir yang tidak dikehendaki dan membahayakan lingkungan (Buthelezi *et al.*, 2009). Pemanfaatan bakteri untuk mendegradasi air limbah merupakan salah satu teknik yang aman bagi lingkungan. Bakteri indigen yang berpotensi sebagai agen bioremediasi untuk mengurangi kadar limbah dapat diperoleh dengan cara mengisolasi dari limbah itu sendiri (Shovitri, 2012). Bakteri dipilih sebagai agen

bioremediasi untuk menangani dampak dari Pb di perairan karena mempunyai daya resistensi terhadap logam berat yang dilakukan dengan cara pengikatan oleh dinding sel. Bakteri tersebut memproduksi protein pada permukaan dinding selnya dan mempunyai kemampuan melakukan aktifitas metabolisme melalui mekanisme biokimia dalam masa pertumbuhannya. Aktifitas metabolisme bakteri memerlukan nutrisi yang diperoleh dari organisme lain maupun dari lingkungan disekitarnya (Palapa dan Maramis, 2015). Logam berat dalam hal ini nantinya akan dimanfaatkan bakteri sebagai mikronutrientnya (Srinivas, 2008).

Bioremediasi merupakan suatu upaya untuk menurunkan kadar polutan dengan menumbuhkan mikroorganisme pada polutan tertentu. Bioremediasi yang dilakukan oleh mikroorganisme berlangsung dengan cara mengubah struktur polutan yang beracun (toksik) menjadi tidak beracun (nontoksik) dan berbahaya dengan memanfaatkan bantuan enzim-enzim yang dihasilkan oleh selnya. Standar baku mutu dalam kegiatan bioremediasi telah diatur oleh pemerintah Indonesia dalam Keputusan Menteri Lingkungan Hidup No. 128 tahun 2003, tentang tata cara, persyaratan teknis dan pengelolaan limbah minyak bumi dan tanah terkontaminasi minyak bumi secara biologis. Peraturan ini juga menyebutkan bahwa kegiatan bioremediasi dapat dilakukan dengan bantuan mikroba indigen (mikroba lokal). Pengendalian pencemaran air dan pengolahan limbah secara biologis, salah satunya melalui bioremediasi yang memanfaatkan bakteri telah dilakukan sejak tahun 1900-an (Mara *et al.*, 2003).

Penelitian sebelumnya mengenai bakteri yang dapat mengakumulasi timbal (Pb) telah berhasil mengisolasi bakteri dari beberapa Genus. Penelitian yang dilakukan oleh Lailiya (2021) berhasil mengisolasi bakteri dari sungai

Porong Sidoarjo yang mendapatkan isolat bakteri A1B1 dan A2B2 dari genus Bacillus, serta isolat A2B1 dari genus Pseudomonas. Penelitian lain yang dilakukan Ikhsan dkk (2020) berhasil mengisolasi bakteri dari air Sungai Ciujung, Serang, Banten dan didapatkan 7 isolat. Isolat tersebut telah diisolasi pada media selektif yang diperkaya Pb dengan konsentrasi 10 ppm. Isolat tersebut antara lain adalah isolat IA2, IA3, IA4, IA21, IA22, IA23, dan IA24. Penelitian dan usaha untuk menemukan bakteri resisten yang dapat mengakumulasi logam berat timbal (Pb) pada lingkungan perairan harus terus dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menemukan adanya potensi bakteri pengakumulasi Pb pada Sungai Wonokromo Kota Surabaya.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Spesies bakteri pengakumulasi timbal (Pb) apa saja yang ditemukan di Sungai Wonokromo Kota Surabaya?
2. Bagaimanakah kemampuan isolat bakteri pengakumulasi timbal (Pb) Sungai Wonokromo Kota Surabaya dalam mengakumulasi timbal (Pb)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui spesies bakteri pengakumulasi logam berat timbal (Pb) dari Sungai Wonokromo Kota Surabaya.
2. Untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri pengakumulasi timbal (Pb) Sungai Wonokromo Kota Surabaya dalam mengakumulasi timbal (Pb).

1.4 Manfaat

Manfaat dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Untuk memberikan informasi mengenai jenis bakteri yang mampu mengakumulasi logam berat timbal (Pb) dari Sungai Wonokromo Kota Surabaya yang dapat dijadikan sebagai data penelitian selanjutnya yang relevan.
2. Sebagai bahan pertimbangan untuk mengolah limbah industri yang akan dibuang ke Sungai Wonokromo supaya tidak membahayakan masyarakat sekitar.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Sampel air yang diambil adalah yang berada di bagian permukaan.
2. Mikroorganisme yang diidentifikasi adalah bakteri.
3. Karakteristik bakteri diamati secara makroskopik yang meliputi tepi, permukaan, bentuk dan warna koloni bakteri, serta secara mikroskopis dengan pewarnaan gram dan biokimia.
4. Identifikasi bakteri secara biokimia menggunakan *microbact kit*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pencemaran Lingkungan

Pencemaran lingkungan merupakan terjadinya perubahan yang tidak dikehendaki pada suatu lingkungan dan sebagian besar terjadi sebagai dampak atas perbuatan manusia (Darmono, 1995). Setiap kegiatan manusia yang membuang limbah atau bahan pencemar, baik dalam bentuk cair, padat, dan gas dengan kadar sedikit maupun banyak dapat menjadi sumber pencemaran. Pencemaran dapat terjadi di perairan, daratan, maupun udara hingga nantinya dampak yang terjadi akan sampai pada manusia sendiri (Wardhana, 2001).

Polutan dapat digolongkan menjadi polutan *degradable* (dapat didegradasi) dan *non-degradable* (tidak dapat didegradasi). Polutan yang dapat didegradasi (*degradable*) merupakan polutan yang dapat diuraikan kembali atau diturunkan sifat toksisitasnya hingga dapat diterima oleh alam melalui proses yang terjadi di alam itu sendiri maupun dengan teknologi yang telah dikembangkan oleh manusia. Kelompok polutan jenis ini dapat didegradasi dengan cepat (*rapidly degradable pollutants*) dan lambat (*slowly degradable pollutants*) apabila kemampuan dekomposer telah mencapai batas maksimalnya dalam melakukan proses penguraian. Polutan *non-degradable* merupakan polutan yang tidak dapat didegradasi atau diuraikan kembali oleh dekomposer maupun alam itu sendiri. Contoh polutan *non-degradable* adalah merkuri (Hg^{2+}), timah hitam (Pb), dan arsenik. Namun, polutan jenis ini dapat dikurangi tingkat toksisitasnya sebelum akhirnya dibuang dari lingkungan di sekitar manusia (Rochmad, 2019). Pencemaran termasuk salah satu tindakan perusakan terhadap lingkungan. Agama islam mengajarkan untuk tidak melakukan tindakan

perusakan di muka bumi, supaya bumi juga tetap menjaga kehidupan manusia.

Hal tersebut sesuai dengan firman Allah SWT dalam Q.S Al A'raf ayat 56 :

وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ بَعْدَ إِصْلَاحِهَا وَادْعُوهُ خَوْفًا وَطَمَعًا إِنَّ رَحْمَتَ اللَّهِ قَرِيبٌ مِّنَ الْمُحْسِنِينَ
٥٦

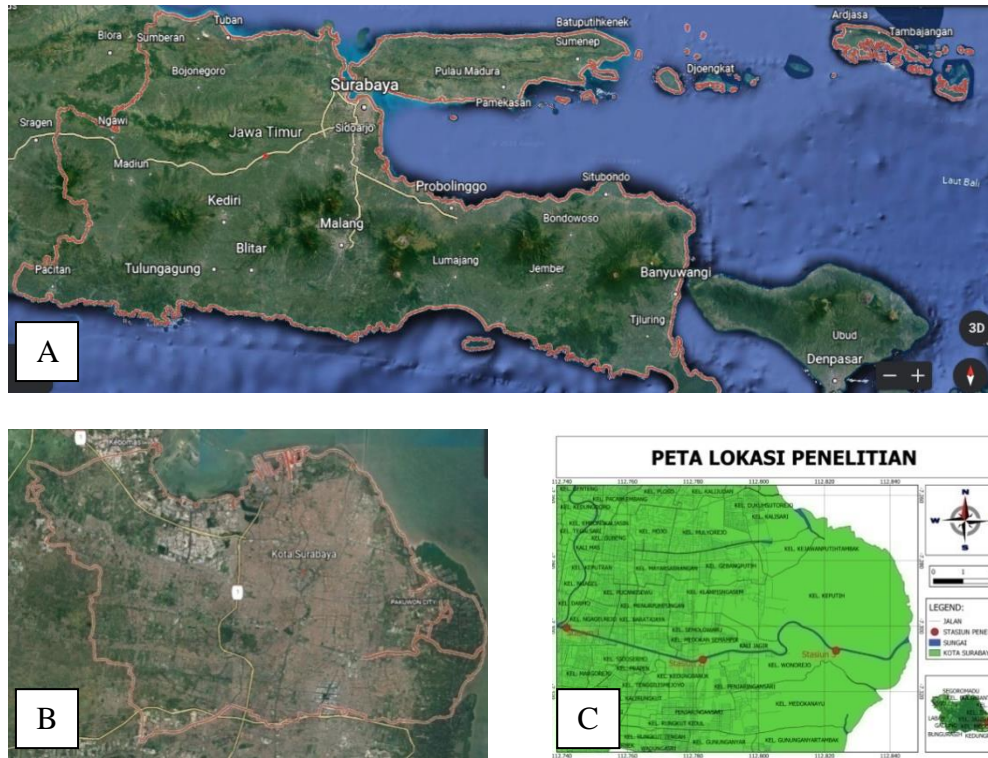
Artinya : *“Dan janganlah kamu membuat kerusakan di muka bumi, sesudah (Allah) memperbaikinya dan berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut (tidak akan diterima) dan harapan (akan dikabulkan). Sesungguhnya rahmat Allah amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik.”* (Q.S Al A'raf [7]: 56)

Menurut Ibnu Katsir (2005) ayat tersebut mempunyai makna bahwa Allah SWT melarang manusia untuk berbuat kerusakan dan melakukan perbuatan membahayakan kelestarian di muka bumi ini. Apabila sesuatu pada mulanya berjalan dengan baik, kemudian terjadi perusakan, maka akan membahayakan makhluk hidup didalamnya, termasuk manusia. Sesungguhnya Allah SWT akan memberikan rahmat-Nya kepada orang-orang yang berbuat kebaikan, diantaranya adalah orang-orang yang mengikuti perintah-Nya dan menjauhi larangan-Nya. Asy Syaukani (2011) dalam Tafsir Fathul Qadir juga menyatakan bahwa Allah SWT melarang manusia untuk berbuat kerusakan di muka bumi ini dengan cara apapun, baik dalam kadar yang sedikit maupun banyak, seperti menebangi pohon dan mencemari sungai-sungai. Segala contoh kerusakan tersebut merupakan bentuk kufur terhadap Allah SWT.

2.2 Sungai Wonokromo

Kota Surabaya merupakan sebuah kota besar di provinsi Jawa Timur, tepatnya di tepi pantai utara pada posisi 112° 36' - 112° 54' Bujur Timur dan 7° 9'- 7° 21' Lintang Selatan (Kurnianto, 2019). Sungai Surabaya merupakan hasil percabangan dari Sungai Brantas di Wilayah Dam Mlirip Mojokerto. Sungai Surabaya yang berada di daerah Jagir Wonokromo bercabang lagi menjadi dua

anak sungai, yaitu Kali Mas dan Kali Wonokromo. Panjang Sungai Wonokromo yaitu 9 km, dengan lebar 73 m dan luasnya mencapai 253 km². Sungai ini menuju ke pantai timur hingga akhirnya bermuara di Selat Madura. Pemanfaatan utama sungai ini adalah sebagai drainase kota, pariwisata air dan penunjang kegiatan perikanan serta peternakan (Purnamasari, 2017).



Gambar 2. 1 Peta Lokasi Penelitian; (A) Jawa Timur (B) Kota Surabaya (Google Earth, 2022) (C) Peta lokasi pengambilan sampel yang telah dioperasikan menggunakan QGIS 3.16 (Gambar Pribadi, 2022)

Gambar 2.1 menunjukkan peta lokasi penelitian, tepatnya di Sungai Wonokromo yang melewati beberapa kecamatan di Kota Surabaya. Kualitas air pada sungai ini mengalami penurunan yang disebabkan oleh limbah, baik domestik maupun industri. Bantaran sungai ini dimanfaatkan masyarakat untuk MCK (mandi, cuci, kakus) dan membuang limbah ke badan air secara langsung (Natalia, 2013). Aliran sungai yang berada di Kecamatan Rungkut melewati beberapa industri, seperti industri pembuatan kaleng, pipa, jam tangan, lonceng,

kabel listrik, peralatan komputer, carbon brush, komponen mesin. Aktivitas-aktivitas tersebut berpotensi menghasilkan limbah logam berat yang apabila dibuang ke badan perairan dapat menyebabkan pencemaran dan mengganggu aktivitas atau kehidupan makhluk hidup akuatik didalamnya (Meirikayanti, 2018).

2.3 Logam Berat

Bahan pencemar anorganik yang sering ditemukan pada perairan yaitu logam berat. Keberadaan logam berat, baik dalam kadar yang sedikit maupun banyak sangat membahayakan kehidupan organisme. Aktivitas-aktivitas yang melibatkan pekerjaan manusia seperti pembuatan pestisida, penambangan dan pencampuran logam, penyamakan kulit, produksi baterai, produksi minyak dan pigmen, serta kegiatan industri lainnya memiliki potensi untuk menghasilkan limbah berupa logam berat (Rosihan dan Husaini, 2017). Logam berat bersifat karsinogenik dan beracun, sehingga perlu dilakukan pengolahan terlebih dahulu sebelum akhirnya dibuang ke lingkungan. Logam berat yang telah mencemari perairan juga perlu dihilangkan (Rosihan dan Husaini, 2017).

Terdapat dua jenis logam, antara lain adalah logam berat dan logam ringan. Logam berat merupakan logam dengan berat ≥ 5 g untuk setiap cm^3 , sedangkan logam ringan memiliki berat ≤ 5 g setiap cm^3 (Darmono, 1995). Hal lain yang membedakan logam berat dengan logam lainnya adalah dampak yang dihasilkan dari ikatan logam berat dan efeknya ketika masuk kedalam tubuh organisme (Palar, 2012). Logam berat esensial seperti Zink (Zn) dan Besi (Fe) dalam kadar yang cukup diperlukan oleh makhluk hidup untuk menjaga metabolisme dalam tubuh. Sedangkan logam berat non-esensial seperti cadmium (Cd), timbal (Pb), arsenik (As) dan merkuri (Hg) dapat bersifat toksik dan tidak

dibutuhkan dalam tubuh manusia. Logam berat ini sulit untuk didegradasi /dihancurkan dan secara alami terdapat di kulit bumi. Selain itu, logam berat dapat menyebabkan bioakumulasi, yaitu kondisi dimana peningkatan konsentrasi logam berat dalam tubuh dapat membahayakan jika terakumulasi dalam jangka waktu yang lama (Rosihan dan Husaini, 2017).

Beberapa sifat logam berat yang berpotensi membahayakan kehidupan manusia antara lain yaitu (Sutamihardja, 2006) :

- a. Logam berat yang mudah terakumulasi pada sedimen, dimana konsentrasinya lebih tinggi dibandingkan konsentrasi yang terdapat di dalam air.
- b. Logam berat yang terakumulasi dalam jaringan tubuh makhluk hidup. Pada jenis ini konsentrasinya dapat meningkat dan dapat mengalami bioakumulasi, serta biomagnifikasi.
- c. Logam berat yang sulit dihancurkan atau didegradasi. Logam berat jenis ini cenderung akan terakumulasi di lingkungan.

2.4 Timbal (Pb)

Timbal yang disebut juga dengan timah hitam dan disimbolkan dengan Pb adalah salah satu jenis logam berat. Timbal digolongkan kedalam logam berat karena memiliki densitas atau rapatan yang sangat tinggi yaitu $11,34 \text{ gr/cm}^3$, jauh lebih tinggi dibandingkan densitas tertinggi bagi logam transisi pertama ($8,92 \text{ gr/cm}^3$ untuk tembaga) (Sugiyarto, 2010). Pb termasuk kedalam kelompok logam golongan IV-A dengan nomor atom (NA) dan berat atom (BA) 207,2 (Palar, 2012).

Pb merupakan logam berat yang mudah dibentuk, titik leburnya rendah, mempunyai sifat kimia aktif, banyak dimanfaatkan untuk mencegah perkaratan dan melapisi logam. Pb memiliki kepadatan yang melebihi logam berat lain, sehingga apabila dicampurkan dengan logam lain akan membentuk logam campuran yang lebih baik dibandingkan logam murninya (Darmono, 1995). Pb mudah ditemukan pada area pertambangan di seluruh dunia, serta mudah untuk dimurnikan. Pb memiliki warna coklat kehitaman dan sifat yang lunak (Titin, 2010).

Timbal (Pb) banyak dimanfaatkan dalam kehidupan manusia, terutama dalam kegiatan perindustrian seperti pemanfaatan untuk bahan dalam pembuatan baterai, kabel, pipa, campuran zat pewarna atau cat, bahan penyusun solder, serta sebagai antiletop pada bensin (Angraeni, 2017). Sifat yang dimiliki oleh Pb sehingga banyak dimanfaatkan untuk berbagai hal adalah Pb memiliki titik cair yang rendah, sehingga jika dibutuhkan dalam wujud cair, biaya produksinya lebih murah dan caranya lebih sederhana. Pb juga mudah untuk dibentuk karena bertekstur lunak, mudah bercampur atau berikatan dengan logam lain. Selain itu, Pb memiliki sifat kimia yang membuatnya dapat dimanfaatkan sebagai lapisan pelindung saat berhubungan dengan kondisi udara lembab. Pb jika dibandingkan dengan logam yang lainnya, memiliki angka densitas yang lebih tinggi (Rohmah, 2017).

Timbal (Pb) dalam jumlah yang cukup dapat bermanfaat bagi kehidupan manusia. Namun, jika kadarnya berlebihan dapat mencemari lingkungan dan merugikan bagi manusia itu sendiri. Allah SWT menciptakan segala sesuatu dengan kadar yang seimbang, seperti firman-Nya dalam surat Al Mulk ayat 3:

الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ طِبَاقًا مَّا تَرَى فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِن تَفْوُتٍ فَارْجِعِ الْبَصَرَ هَلْ تَرَى مِن

فُطُورٍ ۝ ۳

Artinya: “Yang telah menciptakan tujuh langit berlapis-lapis. Kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan Yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang. Maka lihatlah berulang-ulang, adakah kamu lihat sesuatu yang tidak seimbang?” (Q.S Al Mulk [67]: 3)

Menurut Shihab (2002) dalam Tafsir Al-Mishbah, kata تَفْوُتٌ pada mulanya bermakna kejauhan. Dua hal yang berjauhan ini mengesankan ketidakserasian atau ketidakseimbangan. Allah SWT menciptakan langit hingga seluruh makhluk dalam keadaan seimbang sebagai rahmat. Apabila tidak seimbang, maka akan mengganggu tatanan hidup manusia di bumi dan menimbulkan kekacauan. Begitu pula dengan pemanfaatan timbal (Pb) dalam kehidupan. Apabila pengolahan timbal (Pb) tidak dilakukan dengan baik dan kadarnya pada lingkungan tidak dapat ditoleransi atau berlebihan, maka akan mengakibatkan pencemaran, baik di daratan maupun perairan.

Pb adalah kelompok logam yang berbahaya dan bersifat toksik bagi kehidupan organisme. Limbah Pb secara alamiah dapat mengalami pengkristalan di udara yang selanjutnya bersamaan dengan air hujan dapat masuk ke badan perairan. Pemanfaatan Pb dalam kehidupan secara besar-besaran dapat menyebabkan pencemaran baik di perairan maupun daratan. Logam Pb yang memasuki perairan nantinya akan menjadi air limbah yang selanjutnya dapat mengalami pengendapan atau sedimentasi (Budiastuti, 2016). Pb sulit untuk didegradasi atau diuraikan sehingga pada kurun waktu yang lama dapat dengan mudah terakumulasi dalam lingkungan perairan, sedimen, maupun pada tubuh biota akuatik. Secara langsung maupun tidak langsung, keberadaan Pb di perairan

membahayakan kehidupan makhluk hidup akuatik dan kehidupan manusia secara tidak langsung melalui kontaminasi rantai makanan (Azizah dkk., 2018).

2.5 Bioremediasi

Bioremediasi berasal dari kata “*bio*” yang memiliki arti hidup dan “*remediate*” yang berarti pemulihan. Istilah bioremediasi ini dapat didefinisikan sebagai respon biologis terhadap lingkungan yang tercemar atau rusak supaya menjadi lebih baik. Proses ini memanfaatkan metabolisme organisme dan enzim yang diproduksi oleh bakteri untuk menguraikan bahan pencemar (Hidayat dan Chairil, 2017).

Bioremediasi merupakan sebuah upaya dalam menurunkan kadar polutan tertentu pada suatu lingkungan menggunakan mikroorganisme yang telah dipilih dan ditumbuhkan pada lingkungan tersebut. Tujuan dari penerapan teknik bioremediasi dalam skala lapangan adalah untuk meningkatkan laju penguraian bahan pencemar, serta memanfaatkan mikroba yang dapat bertahan hidup (*survive*) dari keadaan lingkungan yang terkontaminasi bahan pencemar untuk menguraikan zat pencemar supaya senyawa yang dilepaskan ke lingkungan tidak lebih berbahaya dari sebelumnya. Bioremediasi dalam skala lapangan dapat menjadi solusi atas permasalahan lingkungan yang diakibatkan oleh kegiatan pertambangan atau perindustrian. Bioremediasi dalam penerapannya melibatkan peranan mikroorganisme seperti bakteri dan jamur untuk menurunkan kadar polutan atau tingkat cemaran (Priadie, 2012).

Bioremediasi merupakan metode yang lebih menguntungkan untuk detoksifikasi atau penurunan kadar polutan dalam mengendalikan pencemaran jika dibandingkan dengan metode lainnya (Buthelezi *et al.*, 2009). Keuntungan

teknik bioremediasi dibandingkan metode lain seperti elektrolisa dan elektrodisa adalah hasil akhir produk. Bioremediasi menghasilkan produk yang umumnya tidak beracun dan aktivitas biologis yang dihasilkan dari proses tersebut cenderung tidak mengganggu. Bioremediasi hanya membutuhkan peralatan yang sederhana dengan biaya yang terjangkau. Namun, disisi lain teknik bioremediasi juga memiliki beberapa kelemahan. Beberapa diantaranya adalah teknik bioremediasi terbatas hanya pada tempat yang tercemar dan untuk penanganan limbah dengan konsentrasi yang tinggi diperlukan stimulasi pertumbuhan bagi mikroorganisme bioremediator (Waluyo, 2005).

Beberapa faktor yang mempengaruhi bioremediasi adalah nutrisi untuk mikroba, jumlah dari mikroba pendegradasi bahan pencemar, serta faktor lingkungan seperti pH, suhu, oksigen atau akseptor elektron lain. Beberapa nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroba antara lain adalah karbon sebanyak 50%, nitrogen sebanyak 14%, oksigen sebanyak 20%, hidrogen sebanyak 8%, fosfor sebanyak 3%, sulfur sebanyak 1%, potassium sebanyak 1%, sodium sebanyak 1%, kalsium sebanyak 0,5%, magnesium sebanyak 0,5%, klorida sebanyak 0,5%, dan besi sebanyak 0,2% (Vidali, 2001). Kondisi lingkungan yang optimal juga dibutuhkan untuk menunjang aktivitas mikroba perombak. Untuk dapat menurunkan kadar logam berat dibutuhkan lingkungan dengan suhu sekitar 35 – 37%, pH sekitar 7 – 8. Keberhasilan reaksi penguraian dalam keadaan aerob dibutuhkan oksigen optimum sebanyak 0,2 mg/l dengan propositas diatas 10%. Sedangkan kebutuhan oksigen untuk reaksi penguraian dalam keadaan anaerobik yaitu dibawah 0,2 mg/l dan propositas maksimal 1% (Munawar, 2012).

2.6 Macam-macam Bioremediasi

Teknik bioremediasi terdapat dua jenis, antara lain yaitu bioremediasi *in situ* dan bioremediasi *ex situ*. Bioremediasi *in situ* atau yang disebut juga dengan *natural attenuation*, merupakan teknik bioremediasi yang memanfaatkan kemampuan mikroorganisme untuk mendegradasi limbah yang ada di lingkungan tercemar. Teknik pengolahan limbah ini dilakukan langsung di lokasi yang tercemar (Shukla, 2010). Bioremediasi *in situ* terjadi secara alamiah dengan memanfaatkan kemampuan mikroba indigen dalam mendegradasi limbah. Proses ini berlangsung dengan sangat lambat. Macam-macam teknik bioremediasi *in situ* antara lain adalah 1) bioaugmentasi, dimana perlakukannya dilakukan dengan menambahkan organisme eksogen yang dapat mendegradasi jenis kontaminan tertentu/spesifik. organisme tersebut ditambahkan di subpermukaan area tercemar; 2) Biostimulasi, dilakukan dengan menambahkan nutrisi seperti N dan P, aseptor elektron (O_2) pada are pertumbuhan mikroorganisme guna menstimulasi pertumbuhannya; 3) *Biosparging*, dilakukan untuk meningkatkan konsentrasi O_2 dan kecepatan proses degradasi, dimana perlakuannya dilakukan dengan menambahkan injeksi berupa udara kedalam air dibawah tekanan (Vidali, 2001).

Bioremediasi *ex situ* merupakan teknik bioremediasi yang dilakukan dengan mengambil limbah secara langsung di lokasi tercemar limbah, lalu diberi perlakuan khusus menggunakan mikroba dan dikembalikan ke lokasi awal. Teknik bioremediasi *ex situ* membutuhkan waktu yang lebih cepat dan lebih mudah dikontrol jika dibandingkan teknik bioremediasi *in situ* (Shukla, 2010). Macam-macam teknik bioremediasi *ex situ* antara lain adalah: 1) *Landfarming*, teknik yang dilakukan dengan mengambil tanah yang terkontaminasi dan dipindahkan pada lahan khusus untuk dilakukan pengamatan dan penelitian secara

berkala hingga limbah berhasil didegradasi; 2) *Composting*, teknik yang dilakukan untuk meningkatkan mikroorganisme dengan cara mengkombinasikan tanah terkontaminasi dengan tanah yang diberi kandungan senyawa organik seperti pupuk; 3) *Biopiles*, teknik yang mengkombinasikan antara *landfarming* dan *composting*; 4) *Bioreactor*, teknik yang dilakukan dengan menggunakan *aqueous* reaktor pada area terkontaminasi (Vidali, 2001).

2.7 Bakteri

Bakteri merupakan mikroorganisme uniseluler yang pada umumnya tidak memiliki klorofil. Beberapa bakteri bersifat fotosintetik dan reproduksinya dilakukan secara aseksual melalui pembelahan. Keberadaan bakteri tersebar luas di alam, diantaranya terdapat didalam tanah, di atmosfer, didalam endapan-endapan lumpur, didalam air, dan didalam tubuh manusia, hewan, tumbuhan. Bakteri pada umumnya memiliki dimensi sekitar 1 μm . Selnya dapat berupa tunggal maupun rantai. Berat jenis dari bakteri berkisar antara 1,05 – 1,1 g/cm^3 dan beratnya sebagai partikel kering adalah 10^{-12} g. Ukuran tersebut dipengaruhi beberapa faktor seperti media dan laju pertumbuhan (Hidayat dkk., 2006).

Bakteri dapat diidentifikasi dan dikelompokkan berdasarkan bentuk dan sifatnya terhadap pengecatan gram. Pengecatan gram merupakan suatu upaya untuk melihat pengaruh cat terhadap dinding sel. Terdapat empat macam cat pada pewarnaan gram, antara lain adalah cat utama (A), cat penguat (gram B), cat peluntur (gram C), dan cat penutup (gram D). Bakteri berdasarkan sifatnya terhadap pengecatan gram dikelompokkan menjadi dua jenis, yaitu bakteri gram positif dan gram negatif. Bakteri gram positif adalah bakteri yang mampu

mempertahankan cat utama, sedangkan bakteri gram negatif sebaliknya (Hidayat dkk., 2018).

Berdasarkan bentuknya bakteri terbagi menjadi tiga, antara lain (Hidayat dkk., 2006) :

1. Bakteri berbentuk bulat (*kokus*)

Bakteri jenis ini tidak benar-benar berbentuk bulat, melainkan *spheroid*. Bakteri jenis ini dibedakan lagi menjadi beberapa jenis yaitu bulat satu-satu (*micrococcus*), bulat bergandengan dua-dua (*diplococcus*), bulat bergandengan seperti rantai (*streptococcus*), bulat terdiri dari 4 sel yang tersusun dalam bentuk bujur sangkar (*tetracoccus*), bulat terdiri dari 8 sel yang tersusun dalam bentuk kubus (*sarsina*).

2. Bakteri berbentuk Batang (*basil*)

Bakteri dengan bentuk batang/basil juga terbagi menjadi dua jenis, yaitu batang panjang dan batang pendek. Bakteri batang pendek dapat memiliki ujung yang datar ataupun lengkung. Bakteri basil dapat terdiri atas sel tunggal, bergandengan dua-dua (*diplobasilus*) dan sebagai rantai (*streptobasilus*).

3. Bakteri Berbentuk lengkung

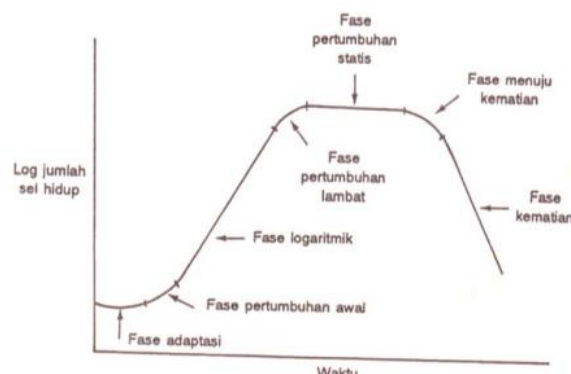
Bakteri dengan bentuk lengkung dibagi menjadi beberapa jenis yaitu bentuk koma (*vibrio*) yang lengkungnya kurang dari setengah lingkaran, *spirochaeta* yang spiralnya halus dan lentur, serta *spirillum* yang spiralnya tebal dan kaku.

2.8 Bakteri Indigen

Bakteri indigen (*indigenous*) atau biasa dikenal sebagai bakteri lokal merupakan bakteri yang hidup dengan bebas di alam. Bakteri indigen memiliki beragam manfaat bagi kehidupan manusia. Hasil penelitian terdahulu yang

menggunakan bakteri indigen menunjukkan bahwa bakteri ini dapat berfungsi sebagai penghasil antibiotik, pendegradasi limbah, pelarut fosfat, serta penghasil berbagai enzim potensial yang banyak dimanfaatkan dalam bidang industri (Batubara dkk., 2015). Penggunaan bakteri lokal (*indigenous*) untuk melakukan degradasi limbah jika dibandingkan dengan bakteri eksogen dinilai lebih murah atau biayanya lebih terjangkau. Kemampuannya dalam mendegradasi limbah juga memiliki efektivitas yang lebih tinggi dibandingkan bakteri eksogen. (Dash and Das, 2015).

2.9 Fase Pertumbuhan Bakteri



Gambar 2. 2 Fase Petumbuhan Bakteri (Boleng, 2015)

Gambar 2.2 menunjukkan beberapa fase pertumbuhan bakteri yang membentuk suatu kurva pertumbuhan. Fase pertumbuhan bakteri menurut Boleng (2015) adalah sebagai berikut :

1. Fase adaptasi

Fase adaptasi merupakan fase dimana sel bakteri mulai mengadakan adaptasi, sehingga belum melakukan pembelahan. Prosesnya meliputi pemulihan dari media lama yang mengandung metabolit yang bersifat toksik dan sintesis enzim yang sesuai dengan media baru. Jumlah sel pada fase ini tidak bertambah,

melainkan volume selnya yang bertambah, karena pada fase statis biasanya terjadi pengurangan ukuran sel (Purwoko, 2009).

Jangka waktu pada fase ini dipengaruhi oleh faktor media pertumbuhan dan jumlah inokulum. Bakteri tidak memerlukan fase adaptasi jika media pertumbuhannya sama dengan media sebelumnya. Tetapi jika kondisi dan nutrisi pada media sebelumnya sangat berbeda dengan media baru, maka waktu yang dibutuhkan dalam mensintesis enzim yang diperlukan untuk metabolisme juga semakin lama. Bakteri yang dipindahkan dari media yang lebih kaya nutrisi ke media dengan kandungan nutrisi terbatas akan mengalami fase adaptasi yang berlangsung lambat. Faktor kedua yang mempengaruhi adalah jumlah inokulum. Fase adaptasi berlangsung lebih cepat jika jumlah awal sel tinggi. Faktor lain yang menyebabkan lambatnya fase adaptasi adalah terbentuknya mutan baru dan kultur bakteri yang dipindahkan ke media baru saat mengalami fase statis (Boleng, 2015).

2. Fase pertumbuhan awal

Setelah melewati fase adaptasi dimana bakteri melakukan adaptasi terhadap media barunya, sel bakteri mulai melakukan pembelahan. Namun pembelahan dilakukan dengan kecepatan yang masih rendah.

3. Fase eksponensial

Fase ini juga dikenal sebagai fase logaritmik karena penambahan jumlah selnya dapat direpresentasikan seperti kurva logaritmik. Pembelahan sel pada fase eksponensial terjadi secara cepat dan stabil (konstan). Kecepatan pertumbuhan selnya sangat dipengaruhi oleh nutrisi, pH dan kelembaban udara. Jika dibandingkan dengan fase lainnya, pada fase eksponensial dibutuhkan energi yang

lebih banyak untuk sel bakteri (Boleng, 2015). Sel bakteri juga akan melakukan proses fisiologis, sehingga pada fase ini bakteri akan mensekresikan produk yang diinginkan manusia berupa senyawa. Beberapa senyawa tersebut contohnya adalah etanol, asam amino, asam lemak, serta asam organik lain (Purwoko, 2009).

4. Fase pertumbuhan lambat

Jumlah sel yang tumbuh pada fase ini lebih banyak daripada sel yang mati, tetapi pertumbuhan selnya cenderung tidak stabil. Beberapa faktor yang menyebabkan pertumbuhannya diperlambat adalah nutrisi, salah satunya oksigen sudah berkurang, adanya produk metabolisme yang bersifat toksik bagi pertumbuhan sel (Boleng, 2015).

5. Fase pertumbuhan statis

Sel pada fase pertumbuhan statis berjumlah tetap, dimana sel yang bertumbuh dan mati jumlahnya sama. Sel tetap melakukan pembelahan meskipun nutrisinya berkurang, sehingga ukurannya menjadi lebih kecil. Sel juga lebih dapat beradaptasi atau bertahan pada kondisi yang ekstrim, seperti kondisi yang sangat panas, dingin, serta kondisi dengan paparan bahan kimia dan radiasi (Boleng, 2015). Bakteri tidak melakukan pembelahan sel pada fase ini dikarenakan nutrisi yang telah habis, terjadi akumulasi dan penumpukan metabolik beracun, penurunan ketersediaan air dan kadar oksigen (Purwoko, 2009).

6. Fase menuju kematian

Fase menuju kematian sel terjadi dikarenakan oleh nutrisi yang tersedia dan cadangan energi didalam sel telah habis, sedangkan zat-zat yang bersifat toksik semakin meningkat (Boleng, 2015).

7. Fase kematian (G)

Fase kematian pada bakteri terjadi karena sel mengalami autolisis dan energi seluler menurun. Kemampuan bakteri dalam bertahan dari fase statis hingga kematian juga berbeda. Jangka waktu yang dilewati bakteri untuk dapat bertahan dari fase statis hingga masuk ke fase kematian juga berbeda. Beberapa bakteri hanya bertahan beberapa jam saja, beberapa lainnya dapat bertahan beberapa hari. Sedangkan bakteri yang mampu mengubah selnya menjadi spora dapat bertahan hingga puluhan tahun (Purwoko, 2009).

2.10 Bakteri Sebagai Agen Bioremediasi

Mikroorganisme seperti jamur dan bakteri merupakan agen bioremediasi yang berperan dalam menurunkan polutan atau limbah dengan kadar tertentu. Tujuan dari penggunaan mikroorganisme ini adalah memanfaatkan enzim-enzim yang dihasilkannya untuk mengubah atau menguraikan struktur polutan yang berbahaya atau toksik (Priadie, 2012). Mekanisme yang terjadi pada tubuh mikroorganisme untuk dapat bertahan hidup terhadap logam berat antara lain adalah bioakumulasi, biopretisipasi, metilasi, dan bioakumulasi (Yajid, 2007).

Mekanisme yang paling banyak digunakan mikroba untuk menurunkan kadar polutan seperti logam berat adalah mekanisme bioakumulasi. Bioakumulasi terjadi dengan cara mengikat ion-ion logam dengan struktur sel yang dimiliki mikroba, salah satunya pada dinding sel. Proses pengikatan ini dapat terjadi melalui beberapa proses, antara lain adalah melalui ikatan permukaan, sistem transport aktif kation dan mekanisme lainnya. Mekanisme pengikatan tersebut didukung oleh sifat anion dan fisikokimia yang dimiliki dinding sel. Logam berat mampu membentuk kation sehingga dapat diikat secara adesi oleh dinding sel

(Atlas and Bartha, 1993; Mallick and Rai, 1992). Kriteria bakteri yang dapat dijadikan untuk mendegradasi limbah atau agen bioremediasi adalah bakteri indigen yang hidup pada lingkungan tercemar limbah. Bakteri tersebut dapat termasuk bakteri non patogen maupun yang memiliki tingkat patogenitas rendah dan dapat menghasilkan enzim pendegradasi bahan utama limbah (Sabrina dan Stalis, 2018).

2.11 Bakteri Pengakumulasi Timbal (Pb)

Bakteri yang mampu mengakumulasi logam berat dapat berasal dari genus *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Morrococcus*, *Phenylobacterium*, *Flavobacterium*, *Staphylococcus* dan *Enhydrobacter* (Hasrudin dan Rifnatul, 2014). Penelitian yang dilakukan oleh Rohmah (2017) terkait bioremediasi dilakukan dengan mengisolasi bakteri dari lumpur lapindo. Bakteri pertama yang berhasil diisolasi adalah *Bacillus subtilis* yang mampu mengakumulasi kadar Pb sebanyak 93%, yaitu yang kadar awalnya sebesar 27,90 ppm menurun hingga 2,10 ppm. Bakteri kedua yaitu *Pseudomonas pseudomallei* yang mampu mengakumulasi kadar Pb sebanyak 86,13%, yaitu yang kadar awalnya sebesar 25,84 ppm menurun hingga 4,16 ppm. Bakteri ketiga yang berhasil diisolasi adalah *Acinetobacter baumannii* yang mampu mengakumulasi kadar Pb sebanyak 77,2%, yaitu yang kadar awalnya sebesar 23,16 ppm menurun hingga 6,84 ppm. Bakteri keempat yang berhasil diisolasi adalah *Brevibacillus laterosporis* yang mampu mengakumulasi kadar Pb sebanyak 69,2%, yaitu yang kadar awalnya sebesar 20,76 ppm menurun hingga 9,24 ppm (Rohmah, 2017).

Penelitian yang dilakukan Ikhsan dkk. (2020) berhasil mengisolasi bakteri dari air Sungai Ciujung, Serang, Banten dan didapatkan 7 isolat. Isolat tersebut

telah diisolasi pada media selektif yang diperkaya Pb dengan konsentrasi 10 ppm. Isolat tersebut antara lain adalah isolat IA2, IA3, IA4, IA21, IA22, IA23, dan IA24. Penelitian yang dilakukan oleh Lailiya (2021) berhasil mengisolasi bakteri dari sungai Porong Sidoarjo yang mendapatkan isolat bakteri A1B1 dan A2B2 dari genus *Bacillus*, serta isolat A2B1 dari genus *Pseudomonas*. Penelitian lain berhasil mengisolasi bakteri resisten Pb dari perairan laut Dumai dengan isolat yang memiliki tingkat penurunan terbaik yaitu isolat D1. Isolat tersebut berhasil menurunkan kadar Pb pada konsentrasi awal 10 ppm sebesar 80,53%, pada konsentrasi awal 20 ppm sebesar 78,8% dan pada konsentrasi awal 30 ppm sebesar 77,21% (Yanti dkk., 2021).

Beberapa genus bakteri yang memiliki potensi dalam mengakumulasi kadar timbal (Pb) adalah sebagai berikut :

a. Genus *Bacillus*

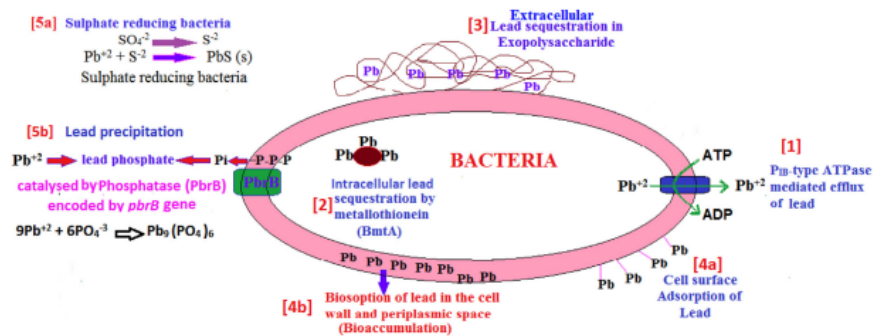
Genus *Bacillus* adalah bakteri berbentuk batang yang termasuk dalam kelompok gram positif karena selnya terlihat berwarna ungu. Jika dilihat dari motilitasnya, terdapat beberapa spesies yang motil dan beberapa lainnya non motil. Bersifat anaerob fakultatif atau aerob. Genus ini mampu membentuk endospora yang resisten pada habitat yang tergolong ekstrim seperti suhu yang tinggi dan lingkungan tercemar logam berat (Cote *et al.*, 2015). Genus *Bacillus* dapat resisten terhadap logam berat dengan melakukan mekanisme resistensi ekstraseluler melalui pengikatan oleh polisakarida dan pengendapan polifosfat (Jaroslwiecka and Seget, 2014). Selain itu juga mampu melakukan mekanisme resistensi intraseluler melalui pengikatan oleh protein *Metallothioneins* (MTs). Bakteri ini dapat tersebar di tanah dan juga air (Naik and Santosh, 2013).

b. Genus Pseudomonas

Bakteri dari Genus Pseudomonas dapat tumbuh pada suhu yang mencapai 42⁰C. jika dilihat dari motilitasnya, bakteri ini bersifat motil (Angraeni, 2017). Bakteri Genus Pseudomonas mampu melakukan mekanisme resistensi terhadap Pb secara ekstraseluler dengan pengikatan oleh eksopolisakarida. Selain itu memiliki kemampuan untuk melakukan proses penyerapan dalam menurunkan kadar pencemar berupa Pb (Junopia, 2015). Bakteri dari Genus Pseudomonas memanfaatkan CO₂ atau H₂ yang berada di air limbah dan tanah sebagai sumber energi (Jamilah and Amri, 2019).

2.12 Mekanisme Resistensi Bakteri Terhadap Timbal (Pb)

Bakteri indigen yang diisolasi dari lingkungan tercemar timbal (Pb) pada umumnya memiliki daya resistensi terhadap Pb yang terdapat pada area tercemar tersebut. Hal tersebut dikarenakan bakteri secara genetik memiliki kemampuan beradaptasi. Adaptasi genetik oleh bakteri resisten timbal (Pb) tersebut dapat dilakukan melalui mekanisme bioakumulasi maupun biosorpsi (Fahrudin *et al.*, 2019).



Gambar 2.3 menunjukkan beberapa mekanisme resistensi bakteri terhadap Pb. Mekanisme resistensi bakteri terhadap timbal (Pb) berfungsi untuk mengatasi atau mengurangi sifat toksik Pb supaya tidak mengganggu sistem dan fungsi

biologis suatu mikroorganisme. Mekanisme resistensi bakteri terhadap logam berat timbal (Pb) dapat dibagi menjadi mekanisme ekstraseluler, intraseluler dan sistem *efflux* (Jaroslwiecka and Seget, 2014). Mekanisme resistensi ekstraseluler yang pertama dilakukan oleh dinding sel dengan tujuan untuk membatasi pergerakan Pb (Bruins *et al.*, 2000). Mekanisme ini dilakukan untuk mengurangi toksisitas timbal (Pb) yang ada di lingkungan. Dinding sel pada mikroorganisme memiliki polisakarida yang dapat mengikat logam berat Pb. Komponen membran luar yang berperan dalam mekanisme pengikatan Pb pada bakteri gram positif yaitu oleh peptidoglikan dengan bantuan asam teikuronat dan teikoat, sedangkan pada gram negatif diperankan oleh lipopolisakarida (Beveridge and Fyfe, 1985 dalam Jaroslwiecka and Seget, 2014).

Mekanisme pengikatan oleh polisakarida ini nantinya akan membentuk endapan polifosfat (Jaroslwiecka and Seget, 2014). Logam berat Pb akan bereaksi dengan beberapa anion yang terdapat pada dinding sel. Reaksi tersebut akan dikatalis oleh enzim fosfatase yang mengubah fosfor organik menjadi fosfat. Fosfat merupakan anion sehingga mampu berikatan dengan kation pada Pb. Reaksi tersebut akan menghasilkan endapan Pb atau $PbHPO_4$ (Naik and Santosh, 2013).

Namun, banyak juga mikroorganisme yang melindungi komponen penting selnya dengan cara mensintesis polimer ekstraseluler (EPs) (Bruins *et al.*, 2000). EPs ini memiliki banyak muatan negatif seperti gugus karboksil (COO^-), sulfidril ($-SH$), hidroksil (OH^-) dan fosforil (PO_4^{3-}) yang mampu berikatan dengan ion positif yang dimiliki oleh Pb (Yani dan Ratna, 2008).

Timbal (Pb) yang lolos dari pengikatan ekstraseluler akan memasuki sel melewati sistem transporter logam. Jika telah memasuki sel, maka bakteri akan melakukan pertahanan melalui mekanisme intraseluler. Mekanisme intraseluler antara lain adalah melalui pengikatan yang dilakukan oleh protein spesifik dan pengendapan oleh polifosfat (Jaroslwiecka and Seget, 2014). Protein *Metallothioneins* (MTs) merupakan protein spesifik yang seringkali dilibatkan dalam proses pengikatan Pb. Protein MTs ini memegang peranan penting dalam hal homeostasis seng. Protein MTs dikode oleh lokus *smt* yang meliputi gen *smtA* dan *smtB* (Murthy *et al.*, 2011). Keberadaannya ditemukan pertama kali pada *Synechococcus* PCC 7942. *smtA* memiliki peranan dalam hipersensitivitas terhadap seng (Zn) sehingga terlibat dalam homeostasis seng. Pengkodean kelas II MT dilakukan oleh *smtA*, sedangkan produk dari *smtB* menekan transkripsi *smtA*. Ekspresi dari gen *smtA* dapat diubah dengan adanya logam Pb. Mekanisme ini telah ditemukan pada bakteri dari genus *Bacillus*, *Streptomyces*, *Salmonella*, dan *Proteus* (Huckle *et al.*, 1993; Naik *et al.*, 2012). Mekanisme intraseluler kedua adalah pengendapan oleh polifosfat dengan enzim fosfatase sebagai katalisnya. Enzim fosfatase dapat melepaskan fosfat anorganik (Naik *et al.*, 2012). Reaksi yang terjadi didalam sel tersebut akan menghasilkan endapan Pb fosfat intraseluler dan kemudian menghasilkan *Poliphospat Body* (PPB). Peranan dari PPB adalah menetralkan sifat toksik dari logam berat Pb dan mengendapkan ion logam (Pereira *et al.*, 2012).

Timbal (Pb) yang lolos dari mekanisme ekstraseluler maupun intraseluler dapat dikeluarkan dari sel melalui aktivitas sistem *efflux*. Mekanisme ini merupakan mekanisme resistensi yang paling aktif dibandingkan mekanisme

lainnya. Mekanisme sistem *efflux* diperantarai oleh superfamili P-type ATPases dari famili P_{1B} (Bruins *et al.*, 2000). P-type ATPases merupakan transporter transmembran yang bertanggungjawab atas pergerakan ion dan molekul organik kecil di dalam dan keluar dari membran sel. Subfamili transporter transmembran, yang mencakup ATPase tipe P_{1B}, mengatur pengurangan toksisitas logam berat di luar membran sel dan mencegah akumulasi berlebihan di dalam sel (Naik and Santosh, 2013).

2.13 Isolasi Bakteri

Teknik yang dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh mikroorganisme yang ada di alam dan dipindahkan atau ditumbuhkan ke media buatan disebut dengan teknik isolasi. Teknik ini dapat memisahkan campuran berbagai macam mikroba menjadi satu jenis mikroba. Teknik isolasi bakteri dapat dibagi menjadi tiga, yaitu :

1. Metode gores (*streak plate*)

Metode *streak plate* dilakukan dengan cara membuat goresan-goresan berbentuk garis dengan pola tertentu menggunakan jarum ose di permukaan media pertumbuhan bakteri. Isolasi dengan metode ini nantinya akan membentuk garis-garis. Koloni akan tumbuh mengikuti garis dan semakin lama pada goresan akhir koloninya semakin terpisah (Irianto, 2012). Media yang digunakan adalah media steril yang belum ditumbuhi oleh isolat bakteri. Hasil akhir yang diinginkan dari metode *streak plate* adalah koloni murni yang tidak tercampur dengan koloni lain (Hadioetomo, 1993).

2. Metode tuang (*pour plate*)

Metode *pour plate* digunakan dengan tujuan untuk memperkirakan jumlah bakteri yang hidup dalam sebuah cairan, baik bakteri aerob maupun anaerob. Jumlahnya yang berhasil dihitung dinyatakan dalam bentuk koloni (Irianto, 2012).

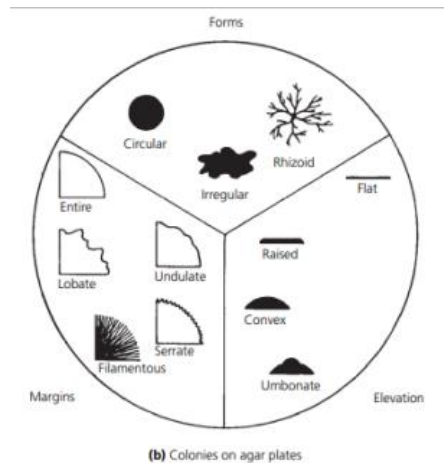
3. Metode pengenceran (*dillution plate*)

Metode *dillution plate* dilakukan dengan cara mensuspensikan atau melarutkan sampel bakteri kedalam aquades steril supaya lebih mudah saat akan dipindahkan ke cawan petri maupun tabung reaksi dan memudahkan ketika dilakukan perhitungan jumlah sel mikroba (Waluyo, 2005)

2.14 Identifikasi Makroskopis

Identifikasi bakteri secara makroskopis dilakukan untuk mengamati karakter morfologi koloni bakteri yang tumbuh pada medium agar. Karakter morfologi koloni yang diamati dan diidentifikasi meliputi bentuk, ukuran, pinggiran atau margin koloni, peninggian atau elevasi, warna, permukaan, konsistensi dan pigmen yang dihasilkan.

Pertumbuhan populasi bakteri didukung oleh nutrisi dan kondisi lingkungan yang sesuai. Hal tersebut dapat menunjang bakteri untuk berkembang dengan cepat. Suatu jenis koloni terkadang akan menunjukkan penampilan yang khas dan berbeda dengan koloni yang lainnya (Putri dkk., 2017).



Gambar 2. 3 Karakter Makroskopis Koloni Bakteri (Cappuccino and Welsh, 2018).

Gambar 2.4 menunjukkan karakter makroskopis yang dapat diamati dari koloni bakteri, antara lain adalah sebagai berikut (Cappuccino and Welsh, 2018),:

- a. Bentuk koloni, meliputi bentuk seperti akar (*rhizoid*), bentuk tidak teratur (*irregular*), bulat tidak terputus (*sirkular*).
- b. Permukaan koloni, meliputi permukaan yang datar (*flat*), permukaan yang sedikit meninggi (*raised*), permukaan seperti kubah (*convex*), permukaan yang membukit (*umbonate*).
- c. Bentuk tepian koloni, meliputi tepian utuh (*entire*), tepian keriting (*undulate*), tepian berombak (*lobate*), tepian menyebar seperti benang (*filamentous*), tepian bergerigi (*serrate*)

2.15 Uji Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram adalah sebuah metode pengujian secara mikroskopis yang digunakan untuk melihat sel bakteri. Metode ini juga dikenal sebagai pewarnaan diferensial karena kemampuannya dalam membedakan kelompok bakteri. Pewarnaan gram secara umum akan mengelompokkan bakteri menjadi kelompok bakteri gram positif dan gram negatif. Kelompok bakteri gram positif

adalah yang mampu menyerap zat warna dari larutan kristal violet-iodium dan tetap mempertahankannya setelah diberi larutan pemucat. Hal ini dikarenakan komposisi dinding sel yang lebih tebal pada bakteri gram positif. Setelah diberi perlakuan dengan alkohol, dinding sel tersebut akan menyusut karena proses dehidrasi. Pori-pori pada dinding sel bakteri gram positif akan menutup sehingga dapat mencegah larutnya zat warna dari kristal violet-iodium saat pemberian larutan pemucat. Sedangkan sel bakteri gram negatif berwarna merah karena zat warna dari kristal violet-iodium larut saat diberi larutan pemucat. Hal tersebut dikarenakan dinding selnya lebih banyak mengandung lipid, sehingga akan larut jika diberi alkohol atau aseton. Larutnya lipid akan mengakibatkan pori-pori dinding sel membesar dan mempercepat pemucatan. Bakteri gram negatif akan mengambil zat warna kedua, sehingga ketika diamati menggunakan mikroskop selnya akan berwarna merah. Penyebab perbedaan warna sel kedua kelompok bakteri tersebut dikarenakan komposisi dinding selnya yang berbeda (Waluyo, 2005).

2.16 Uji Biokimia

a. Uji motilitas

Uji motilitas dilakukan untuk melihat ada atau tidaknya pergerakan pada bakteri. Media uji yang digunakan umumnya bersifat semi padat, contohnya media MO (*Motilitas Ornithin*) dan SIM (*Sulfide Indol Motility*). Hasil uji positif ditunjukkan dengan adanya flagel dan goresan berbentuk akar dengan warna putih di sekitar area inokulasi. Hasil negatif pada uji motilitas ditunjukkan bahwa akar berwarna putihnya hanya berada pada bekas tusukan inokulasi (Rohmah, 2017).

b. Uji fermentasi karbohidrat

Uji fermentasi karbohidrat digunakan untuk melihat kemampuan bakteri dalam memproduksi H₂S, gas dan memfermentasikan glukosa. Media uji yang digunakan adalah media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*). Kandungan yang terdapat pada media tersebut antara lain adalah laktosa, glukosa, dan sukrosa. Jika bakteri mampu membentuk H₂S maka indikator fenol akan berubah dari warna merah menjadi kuning. Jika senyawa H₂S bereaksi dengan Fe²⁺ akan menjadi menjadi FeS (*ferro sulfide*) yang menyebabkan media berwarna hitam (Sari, 2014).

c. Uji Katalase

Uji katalase digunakan untuk melihat apakah suatu bakteri mampu memproduksi enzim katalase. Tahapan dalam uji katalase ini adalah mengoleskan biakan pada *object glass* yang sudah hidrogen peroksida (H₂O₂). Jika terlihat adanya gelembung-gelembung udara berarti hasil uji katalase adalah positif (Hadioetomo, 1993).

d. Uji urease

Uji urease digunakan untuk melihat apakah suatu bakteri mampu memproduksi enzim urease. Jika terjadi perubahan warna media *urea base* menjadi merah muda pekat berarti hasil uji urease adalah positif (Rohmah, 2017).

e. Uji VP

Uji *Voges Proskauer* (VP) digunakan untuk melihat apakah dari hasil fermentasi glukosa bakteri mampu membentuk asetil metil karbinol (asetoin). Media uji yang digunakan adalah media pepton glukosa fosfat. Jika media berwarna merah setelah penambahan a-naphtol 5% dan KOH 40%, berarti hasil uji VP adalah positif. Sedangkan jika tidak terjadi perubahan warna media, maka hasil uji VP adalah negatif (MacFaddin, 1980).

f. Uji indol

Uji indol digunakan untuk mengetahui apakah bakteri mampu memproduksi enzim triptofanase. Enzim tersebut merupakan katalis yang dapat menguraikan gugus indol yang terdapat pada asam amino triptofan (Ulfa, dkk., 2016). Uji ini dilakukan dengan menambahkan reagen Kovac's, dimana reagen tersebut mengandung *paradimetil amino bensaldehid*. Hasil uji positif ditunjukkan dengan adanya cincin merah pada media, sedangkan jika hasil uji negatif maka tidak terbentuk cincin merah pada media (Rohmah, 2017).

g. Uji Sitrat

Uji sitrat merupakan digunakan untuk melihat apakah bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbonnya. Media uji yang dipakai adalah *simons citrat* yang berisi indikator BTB (*Brom Tynol Blue*). Jika media berubah warna menjadi biru menandakan bahwa media bersifat basa dan hasil uji positif, sedangkan pada hasil negatif tidak terjadi perubahan warna (Rohmah, 2017).

h. Uji Spora

Bakteri memiliki dinding spora yang bersifat impermeabel, tetapi jika preparat dipanaskan maka zat-zat warna dapat diserap ke dalamnya. Spora memiliki lapisan luar yang sulit untuk diwarnai karena memiliki kandungan yang dapat menahan bahan kimia. Namun, lapisan luar spora mengembang jika dipanaskan, sehingga zat warna dapat masuk (Lay, 1994 dalam Prihanto, 2018).

i. Uji Oksidase

Uji oksidase dilakukan untuk mengetahui apakah isolat bakteri mampu memproduksi enzim oksidase. Hasil positif pada uji oksidase menunjukkan berubahnya sumur pada *microbact kit* menjadi warna biru. Enzim oksidase yang

dihasilkan bakteri berfungsi untuk mengkatalis proses redoks (reduksi dan oksidasi) elektron (Prihanto, 2018).

j. Uji *Lysin*

Lysin dapat memberikan aminonya kepada asam amino lain dan termasuk dalam asam diamino monokarboksilat. Tetapi *lysin* tidak mampu mengalami proses reaminasi. Hasil positif pada uji *lysin* ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi kuning, lalu kembali lagi menjadi ungu. (Poedjiadi, 1994 dalam Prihanto, 2018).

k. Uji Ornithin

Uji ornithin pada uji biokimia digunakan untuk melihat apakah bakteri mampu mengurai asam amino (ornithin) menjadi amino. Jika media berubah warna menjadi ungu maka hasil uji adalah positif. Sedangkan jika media berubah warna menjadi kuning/kekuningan berarti hasil uji adalah negatif (Usman, 2015).

l. Uji Nitrat

Uji nitrat dilakukan untuk melihat apakah bakteri mampu memproduksi enzim nitrit reduktase yang dapat mengubah nitrat menjadi nitrit. Hasil positif pada uji nitrat menunjukkan bahwa setelah setelah ditambahkan reagen α -*Naphtylene Diamine* (NAD) dan *Sulfanilamide Acid* (SA) media berubah warna menjadi merah muda atau merah (Wulan, 2019).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk jenis penelitian deskriptif kuantitatif eksperimental. Jenis deskriptif kuantitatif karena data hasil penelitian yang diperoleh meliputi karakteristik makroskopis bakteri yang mampu mengakumulasi timbal (Pb), hasil identifikasi spesies bakteri dengan *Microbact Identification Kits*, dan persentase timbal (Pb) yang diakumulasi. Sedangkan jenis penelitian eksperimental karena dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri yang diperoleh dalam mengakumulasi Pb dengan konsentrasi Pb yang berbeda.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret sampai Juni 2022, bertempat di Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah pH indikator, kontainer es, botol kaca, termometer, tabung reaksi, cawan petri, rak tabung, gelas ukur, timbangan analitik, *beaker glass*, batang pengaduk, lemari pendingin, *hotplate*, erlenmeyer, plastik steril, *laminar air flow*, *autoclaf*, autoklaf destruksi, inkubator, *vortex*, mikropipet 5 ml dan 10 ml, *bluetip*, bola hisap, inkubator *shaker*, pipet ukur 10 mL, *Microbact Identification Kits*, mikroskop, kaca benda,

kaca penutup, kuvet, stirer, pipet, pinset, bunsen, jarum ose, dan alat uji Spektrofotometer Serapan Atom (SSA).

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah sampel air sungai Wonokromo, media *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), aquades steril, garam fisiologis 0,9%, kertas label, tisu, sabun cuci, kristal violet, iodine 1%, alkohol 96%, safranin, aluminium foil, kapas, kassa, dan timbal nitrat ($Pb(NO_3)_2$), larutan NaCl 0,85%, nitrat A dan B, *mineral oil*, VP I dan II, *indol kovact*, serta TDA.




3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Penentuan Lokasi Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel air dan pengukuran suhu dan pH air dilakukan di Sungai Wonokromo Kota Surabaya menggunakan 3 stasiun. Stasiun pertama terletak di pintu air Sungai Wonokromo. Stasiun kedua terletak dibawah jembatan semampir. Stasiun ketiga terletak di hilir Sungai Wonokromo. Lokasi penelitian tersebut terdapat pada gambar 3.1 dan tabel 3.1.



Gambar 3. 1 Peta Lokasi Penelitian yang telah dioperasikan menggunakan QGIS 3.16 (Gambar Pribadi, 2022)

No	Stasiun	Gambar	Keterangan
1.	1		Stasiun 1 terletak di pintu air Sungai Wonokromo. Air sungai pada lokasi tersebut dimanfaatkan sebagai air PDAM.
2.	2		Stasiun 2 terletak dibawah jembatan Semampir. Akumulasi Pb pada lokasi tersebut disebabkan oleh kegiatan perindustrian yang menghasilkan limbah berupa Pb dan pemukiman padat penduduk.
3.	3		Stasiun 3 terletak di muara Sungai Wonokromo. Lokasi tersebut memiliki kadar akumulasi timbal (Pb) tertinggi karena telah melewati banyak pemukiman dan beberapa perindustrian yang terletak di sepanjang jalan Jagir Wonokromo.

3.4.2 Pengambilan Sampel

Sampel air sungai diambil sebanyak 500 mL dan dimasukkan kedalam botol kaca yang telah disterilisasi. Botol kaca kemudian disimpan pada kontainer es dengan suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$ hingga dilakukan pengujian yang berlangsung di laboratorium. Sampel air juga diukur kadar pHnya menggunakan pH meter dan suhunya menggunakan termometer. Selanjutnya sampel dibawa ke laboratorium untuk dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri.

3.4.3 Sterilisasi Alat

Alat-alat gelas dicuci menggunakan sabun, kemudian dikeringkan. Selanjutnya alat-alat tersebut dibungkus dengan rapat menggunakan kertas dan dimasukkan kedalam plastik bening. Sterilisasi tersebut dilakukan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.4.4 Pembuatan Media

1. Media *Nutrient Agar* (NA)

Media NA instan ditimbang dengan timbangan analitik hingga beratnya mencapai 6 gr, kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquades sebanyak 300 mL. Setelah tercampur, dimasak menggunakan *hot plate* sambil dihomogenkan menggunakan stirer hingga mendidih. Setelah didiamkan beberapa saat, erlenmeyer yang berisi media tersebut ditutup dengan kapas yang telah dibungkus kassa. Media NA disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

2. Media *Nutrient Broth* (NB)

Media NB instan ditimbang dengan timbangan analitik hingga beratnya mencapai 2,16 gr, kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquades sebanyak 270 mL. Setelah tercampur, dimasak menggunakan *hot plate* sambil dihomogenkan menggunakan stirer hingga mendidih. Setelah didiamkan, erlenmeyer yang telah berisi media tersebut ditutup dengan kapas yang telah dibungkus kassa. Media NB disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.4.5 Pembuatan Larutan Stok Timbal Nitrat (Pb(NO₃)₂)

Pembuatan larutan stok timbal nitrat (Pb(NO₃)₂) 100 ppm dilakukan dengan menimbang bubuk Pb(NO₃)₂ sebanyak 10 mg. Bubuk tersebut dimasukkan ke dalam botol laboratorium dan ditambahkan dengan aquades dengan volume 100 mL, lalu dihomogenkan. Selanjutnya diukur pHnya menggunakan kertas pH/pH meter hingga didapatkan pH 7. Jika asam maka ditambahkan dengan larutan NaOH, sedangkan jika basa maka ditambahkan HCl.

Pembuatan media NA yang diperkaya dengan timbal nitrat ((Pb(NO₃)₂) 1,5 ppm untuk media pertumbuhan dan pemurnian bakteri terdapat pada tabel 3.1

Tabel 3. 1 Pembuatan media NA yang diperkaya Pb 1,5 ppm

Konsentrasi Pb (ppm)	Volume total media dalam erlenmeyer (mL)	Volume larutan Pb Nitrat (mL)
1,5 ppm	300 mL	4,5 mL

3.4.6 Isolasi Bakteri

Sampel air sungai sebanyak 1 mL dicampurkan ke dalam larutan NaCl 0,85% atau garam fisiologis sebanyak 9 mL yang terdapat pada tabung reaksi, kemudian dihomogenkan. Sebanyak 1 mL sampel dari tabung pengenceran pertama diambil dan dimasukkan ke dalam tabung selanjutnya yang juga telah berisi 9 mL garam fisiologis. Pengenceran berseri ini dilakukan pada tabung-tabung selanjutnya hingga 10⁻⁶. Sebanyak 1 mL biakan dari tabung pengenceran terakhir dipindahkan ke media selektif *Nutrient Agar* (NA) yang telah diperkaya Pb(NO₃)₂ 1,5 ppm. Setelah dipindahkan, kemudian media di dalam cawan petri diratakan dengan memutar membentuk pola angka 8 sebanyak 10 putaran. Diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37 °C selama 1 × 24 jam. Jika telah terlihat adanya pertumbuhan bakteri, dilakukan pengamatan bentuk koloni dan

diambil *single* koloni untuk dilakukan pemurnian isolat. Pemurnian isolat bakteri dilakukan dengan metode *streak plate* hingga didapatkan koloni yang murni untuk selanjutnya dilakukan identifikasi dan uji resistensi. Isolat bakteri juga diperbanyak dalam media agar miring (Widiatmono dkk., 2020).

3.4.7 Uji Resistensi Bakteri Indigen terhadap Timbal (Pb)

Sebanyak 1 ose isolat murni yang telah diperoleh dalam tahapan isolasi bakteri kemudian diinokulasikan pada 7 ml media *Nutrient Broth* (NB) yang telah diperkaya $Pb(NO_3)_2$ dengan konsentrasi 0, 1.5, 2, 3 dan 4 ppm. Pemilihan konsentrasi timbal (Pb) pada media didasarkan pada uji pendahuluan. Kadar 1,5 dan 2 ppm disesuaikan dengan kondisi lingkungan aslinya. Sedangkan kadar 3 dan 4 ppm didasarkan atas penelitian Ikerismawati (2019) yang mengisolasi bakteri resisten Pb dari air limbah dengan menggunakan media yang telah ditambahkan dengan $Pb(NO_3)_2$ sebanyak 3 ppm. Dilakukan pengulangan sebanyak dua kali. Selanjutnya diinkubasi dalam *incubator shaker* selama 24 jam pada suhu 37°C dengan kecepatan 120 rpm. Jumlah larutan timbal nitrat ($Pb(NO_3)_2$) yang ditambahkan pada media NB untuk uji resistensi bakteri terdapat pada tabel 3.2

Tabel 3. 2 Pembuatan media NB yang diperkaya Pb

Konsentrasi Pb (ppm)	Volume total media dalam tabung reaksi (mL)	Volume larutan Pb Nitrat (μ L)
0 ppm	7 mL	0 μ L
1,5 ppm	7 mL	105 μ L
2 ppm	7 mL	140 μ L
3 ppm	7 mL	210 μ L
4 ppm	7 mL	280 μ L

Proses *screening* ketahanan atau tingkat resistensi bakteri terhadap Pb dilakukan menggunakan metode turbidimetri menggunakan spektrofotometer. Kuvet berisi larutan pengencer (*nutrient broth*) dimasukkan pada spektrofotometer dan dikalibrasi dengan daya absorsi 0. Kepadatan bakteri diperoleh melalui pengukuran nilai *Optical density* (OD) dengan panjang gelombang 600 nm (Widiatmono, dkk, 2020). Setelah diketahui beberapa isolat yang mampu bertahan atau resisten terhadap Pb, dipilih isolat bakteri yang memiliki nilai OD tertinggi dan dilanjutkan ke tahap identifikasi dan uji reduksi. Semakin tinggi nilai OD menunjukkan bahwa bakteri tersebut lebih tahan dan dapat beradaptasi dengan Pb (Lewaru, dkk, 2012).

3.4.8 Identifikasi Isolat Bakteri

Karakterisasi dan identifikasi bakteri dilakukan dengan mengacu pada buku *Bergey's Manual of Determination Bacteriology 9th*. Data hasil isolasi bakteri dari Sungai Wonokromo dianalisis secara deskriptif.

3.4.8.1 Identifikasi Makroskopis

Identifikasi bakteri secara makroskopis dilakukan dengan melihat beberapa karakteristik koloni yang tumbuh pada media NA, antara lain adalah (Dwijoseputro, 1994) :

- a. Tepi koloni: utuh (*entire*), berombak (*lobate*), bergerigi (*serrate*), berbenang (*filamentous*), keriting (*undulate*).
- b. Permukaan koloni: rata (*flat*), timbul-datar (*raised*), timbul-melengkung (*convex*), membukit (*umbonate*).
- c. Bentuk koloni: bulat (*circulair*), berbenang (*filamentous*), tak teratur (*irregular*), serupa (*rhizoid*), serupa kumparan (*spindle*)

- d. Warna koloni: keputih-putihan, kelabu, kekuning-kuningan atau hampir bening.

3.4.8.2 Identifikasi Mikroskopis

A. Uji Pewarnaan Gram

Object glass yang akan digunakan untuk pengamatan disterilkan menggunakan alkohol dan difiksasi diatas api. Kemudian ditetaskan aquades sebanyak 1-2 tetes diatas *object glass*. Sebanyak 1 ose isolat bakteri diambil, diletakkan di tetesan aquades, dan difiksasi hingga mengering. Langkah selanjutnya preparat ditetesi dengan larutan kristal violet dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dicuci menggunakan air mengalir. Langkah selanjutnya preparat ditetesi dengan larutan iodin 1% dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dicuci menggunakan air mengalir. Langkah selanjutnya preparat diberi alkohol 96% dan didiamkan selama 30 detik. Langkah selanjutnya preparat diberi larutan safranin dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dicuci menggunakan air mengalir dan dikeringkan. Preparat tersebut diamati menggunakan mikroskop, jika bakteri termasuk kelompok gram positif maka akan berwarna ungu dan jika termasuk kelompok gram negatif maka akan berwarna merah.

B. Uji Biokimia

Identifikasi bakteri secara biokimia dilakukan menggunakan *Microbact Kit* 12A/12E atau 24E dan mengacu pada buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th*. Sebelum ditentukan menggunakan 12A/12E atau 24E, dilakukan uji oksidase terhadap koloni bakteri. Jika hasil oksidase negatif maka menggunakan sistem 12A/12E, sedangkan jika hasil oksidasenya positif maka menggunakan 24E.

Isolat bakteri yang berumur 24 jam diambil menggunakan jarum ose, kemudian dilarutkan dalam 10 ml garam fisiologis 0,9 % pada tabung reaksi steril dan divortex hingga homogen. Selanjutnya diteteskan kedalam sumur *Microbact* sebanyak 250 μ m. Dilakukan uji *Lysin*, *Ornithin*, dan H_2S dan dengan penambahan *mineral oil* 1-2 tetes, lalu *microbact* diinkubasi pada suhu $37^\circ C$ selama 24 jam. Selanjutnya dimasukkan sumur no 7 untuk uji nitrat dengan penambahan reagen nitrat A dan B sebanyak 2 tetes. Dimasukkan sumur no 8 untuk uji indol dengan penambahan indol kovact sebanyak 2 tetes. Dimasukkan sumur no 10 untuk uji VP dengan penambahan 1 tetes VP 1, 2. Dimasukkan sumur no 12 untuk diberi 1 tetes TDA. Uji fermentasi karbohidrat dilakukan pada *microbact* 12B. Jika fermentasi bernilai positif maka akan menunjukkan warna kuning, sedangkan jika bernilai negatif maka tidak ada perubahan warna.

Evaluasi hasil dituliskan pada formulir *patient record* dan dibandingkan tabel warnanya. Angka-angka oktal didapat dari penjumlahan reaksi positif saja, dari tiap kelompok (3 sumur didapatkan 1 angka oktal). Nama bakteri didapatkan berdasarkan angka oktal yang didapat dan dilihat menggunakan komputer. Identifikasi hingga tingkat spesies dilakukan secara manual jika hasil uji gram positif. Jika hasil uji gram negatif maka hasil dari angka-angka oktal dimasukkan ke *software* untuk melihat hasil identifikasi hingga tingkat spesies. (Oxoid, 2004).

3.4.9 Uji Penurunan Pb oleh Bakteri Indigen

Setelah didapatkan beberapa isolat yang mampu bertahan atau resisten terhadap timbal (Pb), sebanyak 1 ose isolat bakteri kemudian diinokulasikan ke dalam media NB 7 mL yang telah ditambahkan dengan larutan $Pb(NO_3)_2$ dengan konsentrasi 4 ppm. Perlakuan ini diberi ulangan sebanyak dua kali. Setelah bakteri

diinokulasikan, selanjutnya diinkubasi pada *incubator shaker* selama 24 jam dengan suhu 37°C dan kecepatan 120 rpm. Penurunan kadar timbal (Pb) diukur dan diuji menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) (Widiatmono, dkk., 2020).

3.4.10 Pengukuran Kadar Pb Menggunakan AAS

Sebanyak 5 mL sampel media NB yang telah ditumbuhi isolat bakteri dimasukkan kedalam *beaker glass*, kemudian ditambahkan dengan 25 mL HCl dan 5 mL HNO₃ pekat. Dipanaskan hingga volumenya mencapai setengah dari volume awal dengan menggunakan *hot plate* pada suhu 100°C. Jika larutan masih keruh, ditambahkan HNO₃ atau zat pengoksidasi lain. Selanjutnya disaring menggunakan kertas saring Whatman no. 42 kedalam labu ukur berukuran 100 mL dan ditambahkan aquades hingga menjadi 100 mL menggunakan pipa kapiler. Larutan tersebut dimasukkan kedalam alat AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*), kemudian dibakar. Warna nyala yang terbentuk diukur nilai absorbansi atau penyerapannya menggunakan filter panjang gelombang Pb (Afifah dkk, 2014).

3.4.11 Pengukuran Efisiensi Penurunan Kadar Pb oleh Bakteri Indigen

Efisiensi penurunan Pb dilakukan dengan perhitungan menggunakan metode Langmuir dengan rumus berikut (Husain dan Irna, 2005 dalam Anggraeni dan Triajie, 2021) :

$$C_s = C(a) - C(b)$$

$$D = \frac{C_s}{C(a)} \times 100\%$$

Keterangan :

D = daya reduksi

Cs = Pb yang kadarnya berkurang (ppm)

C(a) = konsentrasi awal Pb (ppm)

C(b) = konsentrasi akhir Pb (ppm)

3.4.12 Analisis Data

Data jenis isolat bakteri pengakumulasi Pb, karakteristik makroskopis bakteri, hasil uji pewarnaan gram dan biokimia serta hasil uji akumulasi disajikan secara deskriptif. Data hasil penelitian juga dianalisis berdasarkan integrasi sains dan islam, merujuk pada beberapa tafsir ayat Al-Qur'an. Analisis ini dilakukan karena amanah manusia sebagai khalifah di bumi yang memiliki tanggungjawab penting dalam keilmuan.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakterisasi Lingkungan Sungai Wonokromo

Keadaan Sungai Wonokromo dipengaruhi oleh faktor fisika dan kimia. Beberapa faktor kimia yang mempengaruhi keadaan sungai ini adalah suhu dan pH. Pada penelitian tentang potensi bakteri indigen dalam mengakumulasi timbal (Pb) dari Sungai Wonokromo ini dilakukan pengukuran suhu dan pH dengan hasil yang terdapat pada tabel 4.1

Tabel 4. 1 Hasil pengukuran suhu dan pH pada air Sungai Wonokromo

Sampel	Ambang Batas Pb*	Kadar Pb	Suhu	pH
St1	0,03 ppm	1,56 ppm	29°C	7,9
St2	0,03 ppm	1,85 ppm	32,7°C	8,0
St3	0,03 ppm	2,01 ppm	34,1°C	8,2

*)Peraturan Pemerintah Republik Indonesia No. 22 tahun 2021

Tabel 4.1 menunjukkan perbedaan hasil analisis kadar Pb pada Sungai Wonokromo pada setiap stasiunnya. Air sungai pada stasiun 1 (St1) memiliki kandungan Pb sebesar 1,56 ppm, stasiun 2 (St2) memiliki kandungan Pb sebesar 1,85 ppm, dan stasiun 3 (St3) memiliki kandungan Pb sebesar 2.01 ppm. Nilai kadar Pb tersebut berada diatas ambang batas, karena berdasarkan Peraturan Pemerintah Republik Indonesia No. 22 tahun 2021 ambang batas Pb dalam air sungai kelas 2 yaitu sebesar 0,03 ppm. Menurut Mawaddati (2021) berdasarkan Peraturan Daerah Kota Surabaya Nomor 12 Tahun 2014 tentang RTRW Kota Surabaya Tahun 2014-2034, sungai ini harus memenuhi kriteria sungai kelas dua karena diperuntukkan sebagai pelayanan transportasi sungai, sekaligus tempat

wisata. Tingginya kadar Pb di Sungai Wonokromo termasuk kategori pencemaran lingkungan, karena telah menurunkan kualitas perairan.

Pencemaran lingkungan erat kaitannya dengan kerusakan lingkungan yang diakibatkan oleh ulah tangan manusia yang lebih mementingkan urusan pribadi serta golongan dan mengesampingkan kepeduliannya terhadap lingkungan. Kerusakan lingkungan di dunia telah dijelaskan oleh Allah SWT pada Q.S Ar Rum ayat 41 :

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

Artinya : “Telah nampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebahagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar).” (Q.S Ar Rum [30]: 41)

Menurut Shihab (2002) dalam Tafsir Al-Mishbah, kata *الْفُسَادُ* (*al-fasad*) dalam ayat ini dapat dimaknai keluarnya sesuatu dari keseimbangan. Kata “*bima kasabat aid an-nas*” bermakna bahwa kerusakan itu sendiri disebabkan oleh tindakan manusia. Ayat tersebut menjelaskan bahwa telah terjadi kerusakan di daratan dan lautan yang diakibatkan oleh tindakan non-etis manusia terhadap lingkungan. Perusakan manusia terhadap alam dapat berupa eksploitasi maupun pencemaran sehingga lingkungan tidak layak lagi digunakan sebagai habitat makhluk hidup. Allah SWT menciptakan semua makhluk hidup dengan saling terkait. Apabila terjadi ketidakserasian atau ketidakseimbangan, maka akan berdampak kepada seluruh bagian alam, termasuk manusia.

Menurut Natalia (2013), penurunan kualitas perairan yang terjadi di Sungai Wonokromo diakibatkan oleh limbah, baik domestik maupun industri. Limbah tersebut berasal dari kegiatan rumah tangga, sekolah dan pertokoan.

Bantaran sungainya juga digunakan masyarakat sekitar untuk MCK (mandi, cuci, kakus), dimana kegiatan tersebut termasuk membuang limbah secara langsung ke badan sungai.

Perbedaan kadar Pb pada setiap stasiun erat kaitannya dengan parameter lingkungan, yaitu pH dan suhu. Suhu pada Stasiun 1 yaitu sebesar 29°C, suhu pada Stasiun 2 yaitu sebesar 32,7°C, suhu pada Stasiun 3 yaitu sebesar 34,1°C. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar Pb yang terlarut dalam air semakin meningkat seiring dengan meningkatnya suhu air pada setiap stasiunnya. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Rohmah (2017) bahwa semakin tingginya suhu pada suatu tempat menyebabkan kadar logam berat timbal (Pb) juga semakin tinggi.

Suhu berdasarkan penelitian ini termasuk dalam kategori tinggi jika dibandingkan penelitian pada tahun-tahun sebelumnya. Berdasarkan penelitian Purnamasari (2017), hasil pengukuran suhu air pada beberapa titik pantau di sepanjang Sungai Wonokromo menunjukkan bahwa suhu air berkisar antara 27 °C - 30°C. Kondisi lingkungan dengan suhu tinggi juga menyebabkan tingginya senyawa logam berat yang larut dalam air dan semakin tinggi toksisitasnya. Menurut pernyataan Sorensen (1991) dalam Fauziah dkk. (2012), akumulasi dan sifat toksik dari logam berat akan meningkat pada suhu perairan yang tinggi. Laju metabolisme organisme akuatik juga akan meningkat seiring dengan meningkatnya suhu perairan. Meningkatnya laju metabolisme tubuh organisme, seperti bakteri pengurai karena kenaikan suhu perairan juga menyebabkan proses dekomposisi bahan organik meningkat. Hal tersebut menyebabkan oksigen

terlarut yang dibutuhkan oleh organisme akan meningkat, sehingga kandungan atau keberadaan oksigen terlarut didalam air berkurang (Gazali dkk., 2013).

Menurut Pelczar and Chan (2008), pengelompokan jenis bakteri berdasarkan suhu pertumbuhannya dibagi menjadi 3 jenis, yaitu bakteri psikofilik, mesofilik dan termofilik. Bakteri yang bertahan hidup pada suhu 15°C adalah kelompok bakteri psikofilik. Bakteri yang dapat bertahan hidup pada kisaran suhu 25-40°C adalah bakteri mesofilik. Sedangkan bakteri yang dapat bertahan hidup pada kisaran suhu 40-50°C adalah bakteri termofilik. Oleh karena itu, bakteri yang ditemukan dalam penelitian ini dimungkinkan termasuk jenis bakteri mesofilik.

Parameter lingkungan lainnya yang berhubungan dengan kadar timbal (Pb) dalam air adalah pH. Hasil pengukuran pH air Sungai Wonokromo didapatkan bahwa pH air stasiun 1 (St1) yaitu sebesar 7,9. pH air stasiun 2 (St2) yaitu sebesar 8,0 dan pH air stasiun 3 (St3) yaitu sebesar 8,2. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pH air pada ketiga stasiun tersebut bersifat basa. Menurut Effendi (2003), pH adalah gambaran dari aktivitas atau jumlah ion hidrogen dalam perairan dan kenaikan kebasaaan pada air disebabkan oleh adanya ion hidroksida, karbonat, dan bikarbonat.

Berdasarkan pengukuran pH yang telah dilakukan, nilai pH air pada Sungai Wonokromo semakin ke hulu semakin meningkat. Menurut Prihantini (2008) dalam Dimenta dkk. (2020), peningkatan nilai pH pada suatu perairan disebabkan oleh penyerapan CO₂ bebas dan garam bikarbonat oleh mikroalga sehingga konsentrasi CO₂ yang terlarut dalam air menurun. Nybakken (1992) menambahkan bahwa ion-ion seperti natrium, kalsium, dan kalium dalam air akan

meningkat ketika garam-garam bikarbonat menurun. Ion-ion tersebut akan membentuk hidroksida jika bereaksi dengan air. Ion hidroksida yang dihasilkan dari reaksi tersebut jika berikatan dengan ion logam berat akan membentuk sebuah ikatan logam hidroksida.

Berdasarkan penelitian Purnamasari (2017), hasil yang didapatkan dari pengukuran pH pada beberapa titik pantau di sepanjang Sungai Wonokromo menunjukkan bahwa pH air berada pada kisaran 6 – 9. Nilai pH tersebut sesuai dengan baku mutu air kelas II. Derajat keasaman air (pH) berdasarkan penelitian yang telah dilakukan juga berada pada kisaran tersebut, sehingga dikategorikan sesuai baku mutu air kelas II. Hart (1982) dalam Suwarsito dan Esti Sarjanti (2014) menyatakan bahwa pada kondisi pH yang berkisar antara 7- 8, logam berat memiliki kelarutan yang cenderung stabil dan memiliki kemampuan untuk berikatan dengan anion. Ikatan logam dengan anion dapat membentuk kompleks organologam yang biasanya mengendap di dasar perairan. Hal tersebut diperkuat dengan pernyataan Rochyatun dan Rozak (2007), bahwa pada kondisi air dengan pH basa, logam berat akan banyak mengendap di dasar perairan dan sukar terlarut. Jika kadar logam terlarut pada perairan tinggi, maka kadar logam yang mengendap di dasar perairan menjadi rendah. Sebaliknya, jika kadar logam yang terlarut di perairan rendah, maka kadar logam yang mengendap akan lebih tinggi.

Hasil yang didapatkan dari pengukuran pH pada penelitian ini menggambarkan bahwa semakin tinggi pH air pada setiap stasiunnya, maka kadar logam berat timbal (Pb) juga semakin tinggi. Menurut Haryati dkk. (2012) kenaikan pH dalam air akan menyebabkan penurunan kadar oksigen terlarut (*dissolved oxygen*) dalam air dan meningkatkan toksisitas timbal (Pb).

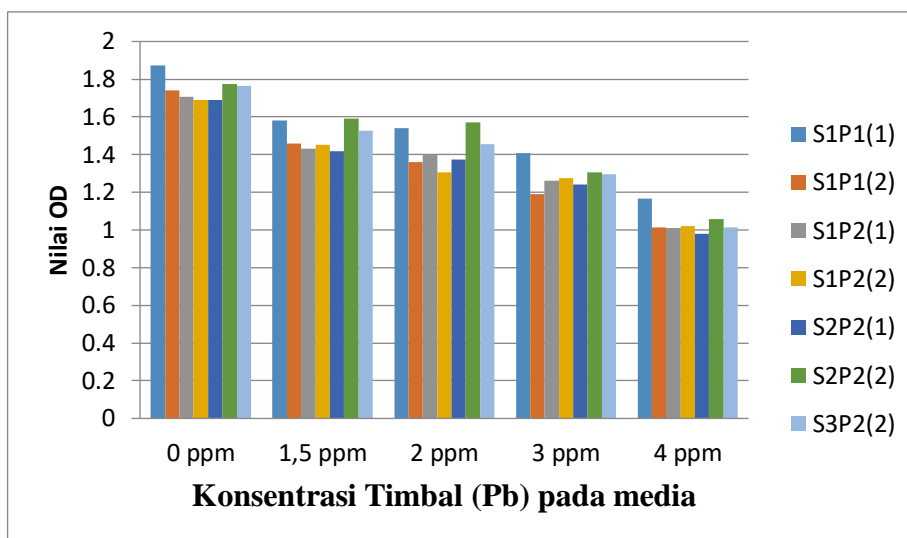
4.2 Isolat Bakteri Pengakumulasi Timbal (Pb) dari Sungai Wonokromo

4.2.1 Isolasi Bakteri dari Sungai Wonokromo

Hasil isolasi bakteri dari Sungai Wonokromo Kota Surabaya didapatkan 7 isolat dari 3 stasiun yang berbeda. Pada stasiun pertama didapatkan 4 isolat yang diberi kode S1P1(1), S1P1(2), S2P2(1), S2P2(2). Pada stasiun kedua didapatkan 2 isolat yang diberi kode S2P2(1), S2P2(2). Pada stasiun ketiga didapatkan 1 isolat yang diberi kode S3P2(2). Isolat-isolat tersebut kemudian diuji resistensinya terhadap logam berat timbal (Pb).

4.2.2 Uji Resistensi Bakteri Terhadap Timbal (Pb)

Uji resistensi bakteri dilakukan untuk mengetahui tingkat resistensi atau ketahanan bakteri indigen terhadap media selektif yang memiliki kandungan timbal (Pb). Perhitungan kepadatan sel bakteri dilakukan dengan pengukuran nilai *Optical density* (OD). Widiatmono (2020) menyatakan bahwa hasil pengujian isolat bakteri menggunakan *spectrophotometer* dengan panjang gelombang 600 nm tersebut dapat dijadikan sebagai dasar penentuan yang efektif untuk mengetahui isolat bakteri yang memiliki daya reduksi terhadap timbal (Pb). Lizayana *et al* (2016) menambahkan bahwa besarnya nilai OD yang terukur berarti semakin banyak cahaya yang diserap oleh bakteri dan hanya sedikit cahaya yang dilewatkan. Hasil pengujian tingkat resistensi bakteri dari Sungai Wonokromo telah disajikan pada gambar 4.1



Gambar 4. 1 Hasil Pengukuran Nilai OD untuk Uji Resistensi

Hasil pengukuran nilai OD untuk uji resistensi bakteri pada penelitian ini didapatkan bahwa nilai OD pada tujuh isolat bakteri hasil isolasi dari Sungai Wonokromo menunjukkan perbedaan. Menurut Ihsan (2020), semakin besar nilai OD yang ditunjukkan, maka jumlah bakteri semakin banyak. Pernyataan tersebut diperkuat dengan pernyataan Lewaru dkk. (2013), bahwa isolat bakteri yang memiliki nilai *Optical density* (OD) yang lebih tinggi menunjukkan bahwa bakteri tersebut lebih tahan dan dapat beradaptasi dengan logam.

Hasil pengukuran nilai *Optical Density* (OD) untuk uji resistensi bakteri pada ketujuh isolat menunjukkan bahwa bakteri yang ditumbuhkan pada media dengan konsentrasi timbal (Pb) lebih rendah memiliki jumlah sel yang lebih banyak jika dibandingkan dengan yang ditumbuhkan pada media dengan konsentrasi Pb lebih tinggi. Semakin tinggi konsentrasi Pb pada media menyebabkan bakteri semakin tidak dapat bertahan hidup. Hal ini dapat disebabkan karena pertumbuhan bakteri yang terhambat oleh logam berat timbal (Pb). Menurut pernyataan Chander, *et al.* (1991) dalam Imamuddin (2018), logam

berat dengan konsentrasi yang cukup tinggi sangat berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Selain itu juga dapat mengubah struktur sel dan mengganggu aktivitas metabolisme selnya. Purwoko (2009) juga menyatakan bahwa logam berat mampu menghambat pertumbuhan bakteri, karena dapat menghambat aktivitas enzim pada sel bakteri tersebut. Misalnya kerja enzim yang tersusun atas asam amino sistein dapat terhambat pada kondisi lingkungan tercemar Pb. Pada kondisi tersebut, enzim yang dimiliki bakteri dapat kehilangan aktivitasnya karena gugus sulfhidrilnya digantikan oleh ion Pb.

Berdasarkan uji resistensi tersebut, isolat bakteri yang paling mampu untuk tumbuh dan dapat beradaptasi pada media Pb dengan konsentrasi tertinggi (4 ppm) adalah isolat S1P1(1) dan S2P2(2). Hal tersebut ditandai dengan tingginya kepadatan bakteri yang diperoleh melalui pengukuran OD. Menurut Jaroslwiecka and Zofia (2014) terdapat tiga mekanisme pertahanan bakteri terhadap Pb yaitu mekanisme intraseluler, ekstraseluler dan sistem *efflux*. Mekanisme ekstraseluler dapat dilakukan dengan peranan dinding sel dan eksopolisakarida, karena beberapa molekul yang terdapat pada dinding sel dapat mengikat logam Pb tersebut. Pada bakteri gram negatif hal ini dilakukan oleh lipopolisakarida, sedangkan pada bakteri gram positif hal ini dilakukan oleh peptidoglikan dan asam teikoit dan teikuroit. Beberapa bakteri juga mensintesis polimer ekstraseluler (EPs) yang mampu mengikat kation dari logam berat toksik untuk melindungi komponen penting didalam tubuh bakteri tersebut. Menurut Salehizadeh and Shajaosadati (2003) mekanisme pengikatan Pb dengan EPs ditemukan pada bakteri *Pseudomonas* sp., dan *Bacillus firmus*.

Mekanisme resistensi bakteri terhadap Pb secara intraseluler dilakukan dengan mekanisme pengikatan Pb oleh *poliphospat body* (PPB) dan protein spesifik. Menurut Pereira *et al.* (2011) Pb dapat berikatan dengan *poliphospat body* (PPB), dimana PPB memiliki peranan utama dalam pengendapan ion logam dan menetralkan efek toksiknya. Akumulasi Pb(II) dalam struktur vakuolar bakteri ini juga telah ditemukan. Menurut Jaroslawiecka and Zofia (2014), mekanisme intraseluler lainnya dapat dilakukan dengan pengikatan Pb oleh protein spesifik. Protein spesifik tersebut dinamakan metallothioneins (MTs). MTs adalah protein yang terlibat dalam mekanisme perlindungan sel dari logam beracun. Mekanisme lainnya dilakukan melalui biotransformasi logam timbal (Pb), sejumlah mikroorganisme yang menghuni tanah dan air dapat mengubah senyawa timbal anorganik dan organik menjadi bentuk volatil, yang mengurangi efek toksiknya. Mekanisme resistensi bakteri melalui pengikatan oleh protein MTs telah ditemukan pada bakteri dari genus *Bacillus* dan *Pseudomonas*.

Timbal (Pb) yang lolos dari mekanisme ekstraseluler maupun intraseluler akan dikeluarkan dari sel bakteri melalui sistem *efflux*. Berdasarkan pernyataan Naik and Santosh (2013), mekanisme melalui sistem *efflux* akan diperantarai oleh *Ptype-ATPase* dari famili P_{1B} . ATPase tipe P_{1B} bertugas untuk mengatur pengurangan toksisitas logam berat dan mencegah akumulasi berlebihan didalam sel.

4.2.3 Identifikasi Bakteri Resisten Timbal (Pb) Secara Makroskopis

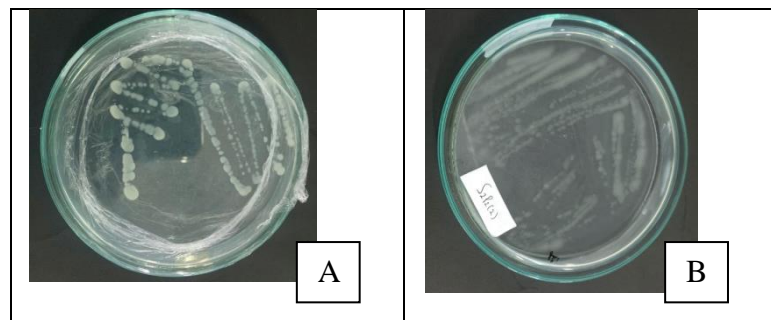
Identifikasi bakteri resisten timbal (Pb) dari Sungai Wonokromo Kota Surabaya secara makroskopis dilakukan dengan mengamati koloni bakteri berdasarkan beberapa karakter. Karakter koloni bakteri yang diamati meliputi

bentuk, tepi, elevasi, warna dan ukuran. Hasil pengamatan koloni bakteri secara makroskopis pada penelitian ini disajikan pada tabel 4.2.

Tabel 4. 2 Hasil Identifikasi Isolat Bakteri Secara Makroskopis

Kode Isolat	Morfologi Koloni				
	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna	Ukuran
S1P1(1)	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih	1,64 mm
S2P2(2)	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	Putih	2,44 mm

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa isolat S1P1(1) berbentuk bulat (*circular*), permukaan koloninya berbentuk kubah (*convex*), dengan tepi utuh (*entire*) dan berwarna putih. Isolat S2P2(2) berbentuk bulat (*circular*), permukaan koloninya sedikit meninggi (*raised*), tepiannya utuh (*entire*), dan berwarna putih. Berdasarkan hasil identifikasi koloni secara makroskopis, dapat disimpulkan bahwa kedua koloni memiliki bentuk yang sama yaitu bulat (*circular*). Jika dilihat dari segi permukaan koloni, isolat S1P1(1) memiliki permukaan berbentuk kubah (*convex*), sedangkan isolat S2P2(2) memiliki permukaan yang sedikit meninggi (*raised*). Jika dilihat dari tepi koloni, kedua isolat sama-sama memiliki tepi utuh (*entire*). Warna koloni pada kedua isolat tersebut juga sama-sama berwarna putih. Hasil pengamatan morfologi koloni bakteri yang telah disebutkan pada tabel 4.2 diperjelas dengan gambar 4.2 berikut.



Gambar 4. 2 Gambar Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri; (A) isolat S1P1(1) (B) isolat S2P2(2)

Gambar 4.2 merupakan gambaran koloni bakteri pada setiap isolat yang didapatkan. Hasil pengukuran diameter koloni bakteri menggunakan jangka sorong pada setiap isolat menunjukkan hasil yang berbeda. Isolat S1P1(1) memiliki diameter 1,64 mm dengan tepi utuh (*entire*). Isolat S2P2(2) memiliki diameter 2,44 mm dengan tepi utuh (*entire*). Diameter isolat S2P2(2) lebih besar daripada isolat S1P1(1).

Berdasarkan hasil penelitian Ikeriswamati (2019) yang mengisolasi bakteri resisten timbal (Pb) dari limbah cair agar, didapatkan isolat C dan G yang koloninya berwarna putih, bentuk koloninya bundar dengan tepian menyebar dan elevasi datar. Isolat C dan G tersebut berhasil menurunkan kadar timbal (Pb) dengan tingkat efisiensi sebesar 72,96% dan 78,29%. Morfologi koloni bakteri pada penelitian tersebut memiliki kesamaan dengan isolat dengan kode S2P2(2). Hasil penelitian yang telah dilakukan Yanti, dkk. (2021) tersebut didapatkan bahwa koloni bakteri yang memiliki bentuk bundar dengan permukaan datar, tepian licin dan memiliki warna putih susu berasal dari kelompok bakteri gram positif.

Hasil penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Hasyimuddin dkk. (2018) membuktikan bahwa koloni bakteri yang memiliki bentuk bulat dengan warna koloni putih, elevasi cembung dan tepi datar berasal dari kelompok bakteri gram negatif yang memiliki bentuk sel basil. Isolat S1P1(1) memiliki karakter morfologi yang cenderung sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Hasyimuddin dkk. (2018). Berdasarkan perbandingan dengan hasil penelitian sebelumnya, pada penelitian ini kemungkinan besar didapatkan satu isolat bakteri dari kelompok gram negatif dan satu isolat bakteri dari kelompok gram positif.

Namun, identifikasi bakteri secara makroskopis ini belum dapat digunakan untuk menentukan jenis gram dari bakteri yang ditemukan, sehingga dilakukan uji lanjut berupa uji pewarnaan gram.

4.2.4 Identifikasi Bakteri Resisten Timbal (Pb) Secara Mikroskopis

Identifikasi isolat bakteri resisten timbal (Pb) dari Sungai Wonokromo secara mikroskopis yang kedua dilakukan melalui uji pewarnaan gram. Menurut Hall *et al.* (2017), bakteri merupakan mikroorganisme yang dapat diidentifikasi melalui pewarnaan gram. Melalui pewarnaan gram, kelompok bakteri akan dibedakan menjadi bakteri gram negatif atau gram positif. Hasil identifikasi melalui pewarnaan gram dan bentuk sel bakteri disajikan pada tabel 4.3

Tabel 4. 3 Hasil Uji Pewarnaan Gram Isolat Bakteri dari Sungai Wonokromo

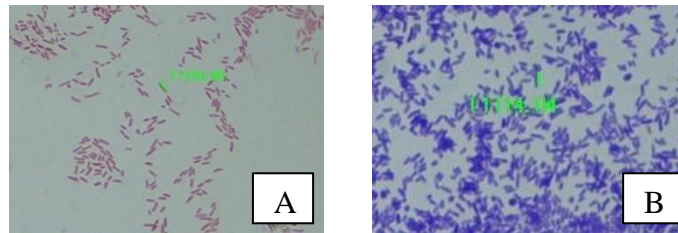
Kode Isolat	Hasil Pewarnaan Gram	Bentuk Sel	Panjang Sel (μm)
S1P1(1)	Negatif (-)	Batang (basil)	20,00
S2P2(2)	Positif (+)	Batang (basil)	14,04

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa berdasarkan hasil uji pewarnaan gram, isolat S1P1(1) termasuk bakteri gram negatif. Hal tersebut ditunjukkan dengan selnya yang berwarna merah. Sedangkan isolat S2P2(2) termasuk bakteri gram positif yang ditandai dengan selnya yang berwarna ungu. Perbedaan komposisi kimiawi yang dimiliki oleh dinding sel bakteri menyebabkan perbedaan warna selnya ketika diamati dibawah mikroskop. Menurut Hanif (2009) dalam Helmi dkk. (2018), sel bakteri gram negatif memiliki komposisi utama yaitu membran luar, lipoprotein, dan lipopolisakarida. Lapisan peptidoglikan pada bakteri gram negatif tipis ($5-10 \text{ nm}^3$), sehingga penyerapan zat warna kristal violet mudah

luntur setelah pemberian alkohol dan akhirnya sel bakteri tersebut terwarnai oleh safranin.

Hal tersebut juga sesuai dengan pernyataan Nomer dkk. (2019), bahwa warna merah pada sel bakteri gram negatif disebabkan oleh penyerapan safranin. Lapisan peptidoglikan kelompok gram negatif lebih tipis daripada gram positif. Dinding sel pada bakteri gram negatif tersusun atas lapisan lipid yang tebal. Namun, setelah ditetesi dengan alkohol, lipid tersebut akan larut sehingga dinding selnya akan terbuka lebar dan zat pewarna kristal violet akan keluar. Setelah ditetesi dengan safranin, sel bakteri gram negatif akan berwarna merah karena menyerap warna merah dari safranin. Menurut Hamzah dkk. (2018), selain digunakan untuk mengetahui jenis gram pada suatu bakteri, uji pewarnaan gram ini juga dapat digunakan untuk melihat bentuk sel bakteri pada suatu koloni tersebut.

Bakteri yang termasuk gram positif pada penelitian ini adalah isolat S2P2(2), dimana selnya terlihat berwarna ungu. Menurut Dwijoseputro (1994) dalam Suarni (2013), jika dibandingkan dengan bakteri gram negatif, bakteri gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tebal. Khaerunnisa dkk. (2019) menambahkan bahwa ketika dilakukan pewarnaan gram, lapisan peptidoglikan yang tebal pada dinding sel bakteri gram positif akan menyerap zat warna ungu dari kristal violet. Lapisan tersebut akan mempertahankan zat warna ungunya meskipun telah dicuci menggunakan alkohol. Hal tersebut memberikan hasil dimana selnya terlihat berwarna ungu ketika diamati menggunakan mikroskop. Hasil pengamatan sel bakteri melalui uji pewarnaan gram pada penelitian ini disajikan pada gambar 4.3



Gambar 4. 3 Hasil Pewarnaan Gram Isolat Bakteri dari Sungai Wonokromo, Perbesaran 400×; (A) isolat S1P1(1) (B) isolat S2P2(2)

Hasil pengamatan bentuk sel bakteri menunjukkan bahwa kedua isolat memiliki sel yang berbentuk batang (basil). Berdasarkan penelitian Hasyimuddin dkk. (2018) didapatkan bakteri gram negatif yang berbentuk batang (basil) dan selnya berwarna merah muda, bakteri yang diidentifikasi pada penelitian tersebut termasuk dalam genus *Pseudomonas*. Selain itu juga didapatkan bakteri yang berbentuk basil dan selnya terlihat berwarna ungu. Berdasarkan hasil uji pewarnaan gram dan biokimia, bakteri tersebut termasuk dalam genus *Bacillus*. Penelitian yang dilakukan Yanti dkk. (2021) juga menunjukkan bahwa genus bakteri gram positif yang memiliki sel berbentuk basil dan resisten terhadap timbal adalah bakteri dari bakteri genus *Bacillus*. Pada penelitian tersebut didapatkan 3 isolat dari genus *Bacillus* yang mampu menurunkan kadar timbal dengan rata-rata penurunan tertinggi sebesar 80,53%.

4.2.5 Hasil Uji Biokimia Isolat Bakteri Resisten Timbal (Pb)

Hasil uji pewarnaan gram menunjukkan bahwa isolat S1P1(2) termasuk bakteri gram negatif, sedangkan isolat S2P2(2) berasal dari kelompok bakteri gram positif. Selanjutnya dilakukan uji biokimia menggunakan *Microbact* terhadap kedua isolat tersebut untuk mengidentifikasi jenis bakteri hingga tingkat spesies. Menurut Hadiutomo (1990), uji biokimia terhadap bakteri merupakan sebuah metode identifikasi bakteri yang dilakukan dengan melihat sifat-sifat fisiologinya. Reaksi biokimia yang terjadi didalam sel bakteri dilakukan dengan

tujuan mensintesis berbagai komponen sel dan merupakan serangkaian proses biokimia sel untuk menghasilkan maupun menggunakan energi.

Helmi dkk. (2018) menambahkan bahwa penentuan spesies bakteri dapat didasarkan dari hasil uji spesifik yang didapatkan dan dicocokkan dengan sifat bakteri berdasarkan bentuk fisik koloni bakteri, pewarnaan gram dan juga sifat biokimia dari bakteri tersebut. Uji tersebut secara spesifik dapat digunakan untuk menentukan jenis dari bakteri. Hasil identifikasi bakteri yang dilakukan dengan *Microbact Kit* tersebut kemudian disesuaikan dengan *Bergey's Manual of Determination Bacteriology*. Hasil uji biokimia isolat bakteri yang diisolasi dari Sungai Wonokromo disajikan pada tabel 4.4

Tabel 4. 4 Hasil Uji Biokimia Isolat Bakteri dari Sungai Wonokromo

No	Uji Biokimia	Isolat Bakteri	
		S1P1(1)	S2P2(2)
1.	Motilitas	+	+
2.	Spora	-	+
3	Sukrosa	-	-
4.	Laktosa	-	-
5.	Glukosa	-	+
6.	Manitol	-	+
7.	Oksidase	+	+
8.	Katalase	-	+
9.	Urease	-	-
10.	V-P	-	+
11.	Ornithin	+	-
12.	<i>Lysin</i>	+	-
13.	Indol	-	-
14.	Sitrat	+	+
15.	Nitrat	-	-
	Spesies	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	<i>Bacillus subtilis</i>

Tabel 4.4 adalah hasil beberapa uji biokimia yang menunjukkan perbedaan respon ketiga isolat bakteri dari Sungai Wonokromo. Uji oksidase dilakukan terlebih dahulu sebelum dilakukan uji menggunakan *Microbact Kit*. Jika hasil uji oksidase negatif maka digunakan *kit Microbact 12A/12E*. sedangkan jika hasil uji positif maka digunakan *kit Microbact 24E* (Oxoid, 2014). Menurut Panjaitan dkk. (2020), pada uji oksidase, jika warna koloni pada kertas oksidase berubah menjadi *violet/deep blue* maka menunjukkan bahwa hasilnya positif. Sedangkan apabila berwarna merah, maka menunjukkan bahwa hasilnya negatif. Hasil pada penelitian ini menunjukkan bahwa hasil uji oksidase pada kedua isolat bakteri adalah positif, dibuktikan dengan perubahan warna kertas oksidase menjadi *violet*. Oleh karena itu, selanjutnya *kit microbact* yang digunakan adalah *kit microbact 24E*.

Selanjutnya dilakukan uji motilitas untuk mengetahui pergerakan bakteri. Uji motilitas pada ketiga isolat bakteri menunjukkan hasil yang positif, dimana bakteri tersebut berarti memiliki flagel. Selanjutnya dilakukan uji spora, dimana isolat yang terbukti memiliki spora adalah S2P2(2) yang termasuk kelompok bakteri gram positif. Sedangkan isolat yang tidak berspora atau menunjukkan hasil negatif adalah isolat S1P1(1) yang termasuk bakteri gram negatif. Menurut Panjaitan dkk. (2020), hasil motilitas positif pada bakteri yaitu pada permukaan media terlihat adanya pertumbuhan dan tidak adanya bekas pada tusukan. Fahrudin dkk (2019) menambahkan bahwa pola penyebaran tersebut terlihat seperti terbentuknya pertumbuhan berwarna putih seperti akar.

Uji biokimia yang dilakukan selanjutnya adalah uji fermentasi gula-gula yang meliputi uji glukosa, sukrosa, laktosa dan manitol. Hasil pada penelitian ini

menunjukkan bahwa uji glukosa pada isolat S1P1(1) adalah negatif, sedangkan pada isolat S2P2(2) adalah positif. Uji sukrosa dan laktosa pada kedua isolat bakteri pada penelitian ini menunjukkan hasil uji yang negatif. Uji manitol pada isolat S1P1(1) menunjukkan hasil negatif, sedangkan pada isolat S2P2(2) menunjukkan hasil positif. Menurut Helmi dkk. (2018), beberapa uji gula tersebut digunakan untuk melihat apakah suatu bakteri mampu memfermentasikan gula. Hasil uji positif ditunjukkan dengan perubahan warna media menjadi kuning.

Selanjutnya dilakukan uji enzim yang meliputi uji katalase dan urease. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa uji katalase pada isolat S1P1(1) menunjukkan hasil negatif, sedangkan uji katalase pada isolat S2P2(2) menunjukkan hasil positif. Menurut Panjaitan dkk. (2020), jika terbentuk gelembung udara berarti bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim katalase yang berarti hasil uji positif. Sedangkan pada hasil reaksi negatif tidak terbentuk gelembung udara. Uji urease pada kedua isolat bakteri menunjukkan hasil reaksi yang negatif. Menurut Fahrudin dkk. (2019), hasil negatif pada uji urease ditunjukkan dengan media yang berwarna kuning tidak mengalami perubahan. Hal tersebut disebabkan karena bakteri tidak mampu memproduksi enzim urease yang dapat merombak molekul urea ($(\text{NH}_2)_2\text{CO}_2$) menjadi karbondioksida (CO_2) dan amonia (NH_3).

Hasil uji Voges Proskauer (VP) pada penelitian ini menunjukkan hasil negatif pada isolat S1P1(1) dan hasil positif pada isolat S2P2(2). Pelczar (1986) menyatakan bahwa hasil positif pada uji VP dicirikan dengan media yang berwarna merah yang berarti bakteri dapat melakukan fermentasi karbohidrat menghasilkan produk utama yaitu 2,3-butanadiol. Uji indol dan nitrat pada ketiga

isolat bakteri menunjukkan hasil yang negatif. Cappucino and Sherman (2001) menyatakan bahwa hasil positif pada uji indol ditunjukkan dengan terbentuknya cincin indol berwarna merah, sedangkan pada hasil negatif tidak terbentuk warna merah ketika ditambahkan reagen *kovach*. Hasil positif pada uji nitrat ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi merah.

Uji sitrat pada ketiga isolat menunjukkan hasil yang positif. Menurut penelitian yang dilakukan Fahrudin dkk. (2019), hasil positif pada uji sitrat ditandai dengan perubahan warna media menjadi biru, sedangkan hasil negatif ditandai dengan media yang tetap berwarna hijau. Uji *lysin*, ornithin pada isolat S1P1(1) menunjukkan hasil positif, sedangkan pada isolat S2P2(2) menunjukkan hasil yang negatif. Cappucino and Sherman (2001) menyatakan bahwa pada uji lisin, hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna media menjadi violet. Menurut Prihanto (2018), pada uji ornithin jika hasilnya negatif maka media akan berubah warna menjadi kuning. Sedangkan jika hasilnya positif maka media akan berwarna ungu. Berbagai hasil uji kimia yang didapatkan pada penelitian ini kemudian disesuaikan dengan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th*. Setelah diidentifikasi, hasil menunjukkan bahwa isolat S1P1(1) adalah *Pseudomonas pseudomallei* dan isolat S2P2(2) adalah *Bacillus subtilis*. Bakteri *Bacillus subtilis* pada penelitian ini ditemukan pada stasiun dua yang memiliki suhu 32,7°C. Menurut pernyataan Arfiati dkk. (2020) bakteri *Bacillus subtilis* termasuk bakteri dengan tipe mesofilik yang dapat hidup di berbagai tipe perairan dengan suhu optimum pertumbuhannya berkisar antara 25 - 40°C.

Allah SWT berfirman dalam Q.S Al Imran ayat 190 dan 191 sebagaimana berikut:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ۝ ١٩٠ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ
اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا
سُبْحَانَكَ قِنَا عَذَابَ النَّارِ ١٩١

Artinya: “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal (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)”.(Q.S Al Imran[3]: 190-191).*

Diketahuinya bakteri *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas pesudomallei* yang memiliki potensi sebagai agen bioremediasi lingkungan yang tercemar timbal (Pb) atau memiliki kemampuan dalam mengakumulasi timbal (Pb) mengajarkan bahwa Allah SWT dalam menciptakan setiap makhluknya tidak ada yang sia-sia. Terdapat banyak manfaat dibalik semua penciptaan Allah SWT atas makhluknya dan manusia harus senantiasa menyadari hal tersebut dengan tidak menyepelkan setiap makhluk Allah SWT. Menurut Al-Qurthubi (2009), ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT memerintahkan manusia untuk menggunakan akalanya dan megambil hikmah atas penciptaan Allah SWT terhadap sesuatu, sehingga manusia tersebut dapat termasuk orang-orang yang beriman. Berdasarkan Q.S Al Imran ayat 190-191, penelitian ini menunjukkan bahwa tidak ada makhluk ciptaan Allah SWT yang dciptakan dengan sia-sia bagi orang-orang yang selalu memikirkan hikmahnya. Oleh karena itu, penelitian ini mampu meningkatkan iman, terutama kepada ilmuan-ilmuan muslim yang mampu mengambil manfaatnya.

4.3 Uji Penurunan Kadar Timbal (Pb) oleh Bakteri

Hasil analisis kemampuan bakteri indigen yang telah diisolasi dari Sungai Wonokromo dalam mengakumulasi timbal (Pb) disajikan pada tabel 4.5

Tabel 4. 5 Hasil Uji Penurunan Timbal (Pb) oleh Ketiga Isolat Bakteri

No	Nama Isolat/Jenis Bakteri	Kadar awal Pb	Kadar Pb yang terakumulasi oleh bakteri	Kadar akhir Pb	Persentase penurunan
1.	S1P1(1) <i>P. pseudomallei</i>	4 ppm	3,79 ppm	0,21 ppm	94,75%
2.	S2P2(2) <i>B. subtilis</i>	4 ppm	3,78 ppm	0,22 ppm	94,5%

Tabel 4.5 menunjukkan hasil uji penurunan kadar timbal (Pb) oleh tiga isolat bakteri yang diisolasi dari Sungai Wonokromo dan memiliki tingkat resistensi tertinggi. Ketiga isolat bakteri tersebut ditumbuhkan pada media yang telah diperkaya timbal (Pb) dengan konsentrasi 4 ppm. Analisis penurunan kadar timbal (Pb) dilakukan menggunakan AAS (lampiran 7). Terdapat perbedaan persentase penurunan atau akumulasi kadar Pb oleh sel bakteri setelah diinkubasi selama 24 jam.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, hasil menunjukkan bahwa isolat bakteri dengan persentase penurunan kadar Pb tertinggi adalah S1P1(1) dengan spesies bakteri yang teridentifikasi yaitu *Pseudomonas pseudomallei*. Kadar Pb yang berhasil diakumulasi dalam sel bakteri *P. pseudomallei* (isolat S1P1(1)) yaitu sebesar 3,79 ppm dan kadar Pb menjadi 0,21 ppm, sehingga tingkat efisiensinya mencapai 94,75%. Tingginya penurunan timbal (Pb) oleh bakteri *P. pseudomallei* pada stasiun pertama ini juga didukung oleh faktor lingkungan, seperti suhu dan pH. Suhu dan pH pada stasiun tersebut tergolong

optimal untuk mendukung pertumbuhan bakteri dan aktivitasnya dalam menurunkan timbal (Pb). Jenis bakteri yang ditemukan juga mempengaruhi kemampuannya dalam mengakumulasi timbal (Pb). Kemampuan akumulasi bakteri *P. pseudomallei* lebih tinggi jika dibandingkan *B. subtilis*. Hal tersebut dikarenakan menurut Hughes (1989) bakteri gram negatif umumnya lebih toleran terhadap pengaruh logam berat dibandingkan bakteri gram positif karena struktur dinding selnya yang kompleks dimana dapat mengikat dan mengimobilisasi sebagian besar ion logam termasuk Pb. Logam-logam tersebut nantinya akan terikat pada gugus karboksil pada rantai peptida dan peptidoglikan, serta gugus fosfat dan lipopolisakarida. Plasmid yang dimiliki bakteri juga akan menyebabkan bakteri tersebut resisten.

Isolat bakteri S2P2(2) dengan spesies bakteri yang teridentifikasi yaitu *Bacillus subtilis* berhasil mengakumulasi timbal (Pb) dengan tingkat efisiensi mencapai 94,5%. Kadar Pb yang terakumulasi dalam sel bakteri *B. subtilis* (isolat S2P2(2)) yaitu sebesar 3,78 ppm dan kadar Pb turun menjadi 0,22 ppm. Berdasarkan penelitian Maulana dkk. (2017) penambahan bakteri *B. subtilis* dengan konsentrasi 20% pada limbah tekstil dengan waktu inkubasi selama 30-45 hari mampu menurunkan timbal (Pb) sebanyak 80%. Penelitian yang dilakukan Rohmah (2017) juga menunjukkan bahwa bakteri *B. subtilis* yang diisolasi dari lumpur lapindo dan telah diinkubasi selama 24 jam mampu menurunkan timbal (Pb) dengan persentase sebesar 93%. Menurut Inggraini (2017), bakteri *B. subtilis* mampu melakukan pengikatan timbal (Pb) pada dinding selnya.

Fahrudin dkk. (2019) menyatakan bahwa akumulasi Pb dalam sel bakteri akan terjadi terus menerus hingga mencapai batas maksimal dimana bakteri

tersebut tidak lagi mampu mentolerir kandungan Pb dalam selnya. Mekanisme akumulasi Pb oleh bakteri terkait dengan ketersediaan gen resisten yang terdapat dalam plasmid, transposon dan kromosomnya. Gen tersebut akan mengontrol mekanisme munculnya sifat resisten bakteri. Selain itu, sifat resistensi bakteri terhadap Pb akan muncul melalui transport aktif menggunakan ATP. Keterbatasan bakteri dalam mengakumulasi logam berat timbal (Pb) merupakan sesuatu yang ditakdirkan Allah SWT, karena makhluk hidup diciptakan sesuai dengan kadarnya. Hal tersebut telah disebutkan Allah SWT dalam firman-Nya pada Q.S Al A'la ayat 2-3 :

الَّذِي خَلَقَ فَسَوَّى ۚ ۲ وَالَّذِي قَدَّرَ فَهَدَىٰ ۚ ۳

Artinya: “Yang menciptakan dan menyempurnakan (penciptaan-Nya) (2). Dan yang menentukan kadar (masing-masing) dan memberi petunjuk (3).” (Q.S Al A'la[87]: 2-3).

Menurut Shihab (2002) dalam Tafsir Al-Mishbah, kata *qaddara* berasal dari kata *qadara* yang berarti mengukur, memberi kadar atau ukuran. Allah SWT menciptakan makhluk dengan memberinya kadar, ukuran, batas-batas tertentu dalam diri, serta kemampuan maksimal. Semua makhluk hidup telah diciptakan Allah SWT sesuai dengan kadarnya, sehingga tidak mampu melampaui batas ketetapan tersebut. Allah SWT tidak hanya sekedar menciptakan dan menyempurnakan, tetapi juga memberi kadar serta petunjuk supaya makhluk hidup dapat melaksanakan fungsi dan peranannya masing-masing.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh berdasarkan hasil penelitian ini adalah spesies bakteri yang berhasil diisolasi dari Sungai Wonokromo dan berpotensi mengakumulasi logam berat timbal (Pb) adalah *Pseudomonas pseudomallei* dan *Bacillus subtilis*. Kadar penurunan Pb oleh bakteri *Pseudomonas pseudomallei* (S1P1(1)) sebesar 94,75%, *Bacillus subtilis* (S2P2(2)) sebesar 94,5% dan *Pseudomonas pseudomallei* (S3P2(2)) sebesar 95,25%.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terdapat beberapa saran untuk penelitian selanjutnya, antara lain sebagai berikut:

1. Perlunya dilakukan isolasi di stasiun lain pada Sungai Wonokromo Kota Surabaya
2. Perlunya dilakukan pembuatan kurva pertumbuhan bakteri sebelum uji penurunan timbal (Pb) untuk melihat waktu pertumbuhan optimal pada bakteri
3. Perlunya dilakukan identifikasi bakteri hingga tingkat spesies secara molekuler untuk memperkuat hasil identifikasi secara biokimia.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, S. N., Dewi, D. C., & Ningsih, R. 2014. Analisis Kadar Timbal (Pb) pada Permen Berkemasan Secara Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) dengan Variasi Larutan Pendestruksi. *ALCHEMY*, Vol. (1), 125-132.
- Afrianti, S., & Irni, J. 2020. Analisa Tingkat Pencemaran Logam Berat Timbal (Pb) di Daerah Aliran Sungai Deli Sumatera Utara. *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*, Vol. 6(2), 153-161.
- Al-Dimasyqi, Ibnu Katsir. 2005. *Tafsir Ibnu Katsir. Penerjemah: Bahrul Abu Bakar dan Anwar Abu Bakar*. Bandung: Penerbit Sinar Baru Algensindo.
- Al-Qurthubi, Syaikh Imam. 2009. *Tafsir Al-Qurthubi*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Angraeni, A., & Triajie, H. 2021. Uji Kemampuan Bakteri (*Pseudomonas Aeruginosa*) dalam Proses Biodegradasi Pencemaran Logam Berat Timbal (Pb), di Perairan Timur Kamal Kabupaten Bangkalan. *Juvenil: Jurnal Ilmiah Kelautan dan Perikanan*, Vol. 2(3), 176-185.
- Angraeni, D. S. 2017. Kemampuan Bioakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) Berdasarkan Waktu Paparannya Oleh Bakteri Endapan Sedimen Perairan Sekitar Rumah Susun Kota Makassar. *Skripsi*. Makassar: Fakultas Sains Dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar.
- Arfiati, D., Lailiyah, S., Dina, K. F., & Cokrowati, N. 2020. Dinamika Jumlah Bakteri *Bacillus subtilis* dalam Penurunan Kadar Bahan Organik TOM Limbah Budidaya Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus*). *JFMR (Journal of Fisheries and Marine Research)*, Vol. 4(2), 222-226.
- Asy-Syaukani, Al-Imam Muhammad bin Ali bin Muhammad. 2011. *Tafsir Fathul Qadir. Terj. Amir Hamzah Fachruddin*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Atlas R.M., and R. Bartha. 1993. *Microbiol Ecology: Fundamental and Application*. California: The Benjamin/Cummings Publishing.
- Azizah, R., Malau, R., Susanto, A. B., Santosa, G. W., Hartati, R., Irwani, I., & Suryono, S. 2018. Kandungan Timbal Pada Air, Sedimen, Dan Rumput laut *Sargassum* sp. Di Perairan Jepara, Indonesia. *Jurnal Kelautan Tropis*, 21(2), 155-156.
- Batubara, U. M., Susilawati, I. O., & Riany, H. 2015. Isolasi dan karakterisasi bakteri *indigenous* tanah di kawasan kampus Universitas Jambi. *SEMIRATA 2015*, Vol. 4(1).
- Beveridge, T.J. dan Fyfe, W.S. 1985. Metal Fixation by Bacterial Cell Walls. *Can J Earth Sci* 22, 1892-1898.
- Boleng, Didimus Tanah. 2015. *Bakteriologi*. Malang: UMM Press.

- Bruins, M.R. Kapil. S dan Oehme, F.W. 2000. Microbial Resistance to Metals in The Environment. *Ekotoxicol Environ Saf.* 45: 198-207.
- Budiastuti, P., Rahadjo, M., & Dewanti, N. A. Y. 2016. Analisis Pencemaran Logam Berat Timbal di Badan Sungai Babon Kecamatan Genuk Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat (Undip)*, 4(5), 119-118.
- Buthelezi, S. P., Olaniran, A. O. and Pillay, B. 2009. Turbidity and Microbial Load Removal from River Water Using Biofloculants from *Indigenous* Bacteria Isolated from Wastewater in South Africa. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 8 (14).
- Cappucino, J.G dan Sherman, N. 2000. *Microbiology: A Laboratory Manual*. California: The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.
- Cote, C.K., Heffron, J.D., Bozue, J.A and Susan L.. W. 2015. *Bacillus anthracis and Other Bacillus Species, Molecular Medical Microbiology: Second Edition*. USA: USAMRIC, Frederick.
- Darmono. 1995. *Logam Dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup*. Jakarta: UI Press.
- Darmono. 2001. *Lingkungan Hidup dan Pencemaran: Hubungannya dengan Toksikologi Senyawa Logam*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Dash, H. R., & Das, S. (2015). Bioremediation of Inorganic Mercury Through Volatilization and Biosorption by Transgenic *Bacillus cereus* BW-03 (pPW-05). *International Biodeterioration & Biodegradation*, Vol. 103, 179-185.
- Dimenta, R. H., Agustina, R., Machrizal, R., & Khairul, K. 2020. Kualitas Sungai Bilah Berdasarkan Biodiversitas Fitoplankton Kabupaten Labuhanbatu, Sumatera Utara. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*. Vol. 11(2).
- Dwijoseputro, D. 1994. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.
- Efendi, Y., Yusra, Y., & Efendi, V. O. 2017. Optimasi Potensi Bakteri *Bacillus subtilis* sebagai Sumber Enzim Protease. *Akuatika Indonesia*, Vol. 2(1), 87-94.
- Effendi, H. 2003. *Telaah Kualitas Air bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan. Cetakan Kelima*. Yogyakarta: Kanisius.
- Erlangga. 2007. Efek Pencemaran Perairan Sungai Kampar Di Provinsi Riau Terhadap Ikan Baung (*Hemibagrus nemurus*) (Tesis). Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Fahrudin., Haedar, N., Slamet, S., and Sri, W. 2019. Uji Kemampuan Tumbuh Isolat Bakteri dari Air dan Sedimen Sungai Tallo Terhadap Logam Timbal (Pb), *Ilmu Alam dan Lingkungan*, Vol. 10(19), pp. 52–57.

- Fakhrudin, M., Y. Gunawan, R. Iwan. & R. Agita. 2008. Pengembangan Model Pengelolaan Daerah Air Sungai Bangor. *Prosoding Seminar Nasional Limnologi IV*. Kalimantan Timur.
- Fauziah, A.R., B.S. Rahardja, and Y. Cahyoko. 2012. Korelasi Ukuran Kerang Darah (*Anadara granosa*) dengan Konsentrasi Logam Berat Merkuri (Hg) di Muara Sungai Ketingan, Sidoarjo Jawa Timur. *J. Marine and Coastal Sci. Vol. 1(1)*, p. 34– 44.
- Fergusson, J. E. 1990. *The Heavy Elements: Chemistry, Environmental Impact and Health Effect*. Pergamon Press, New York.
- Gazali, I., Widiatmono, B. R., & Wirosuedarmo, R. 2013. Evaluasi dampak pembuangan limbah cair pabrik kertas terhadap kualitas air Sungai Klintar Kabupaten Nganjuk. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem. Vol. 1(2)*, 1-8.
- Hadioetomo, R.S. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek: Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Hadiutomo, 1990. *Mikrobiologi Dasar Jilid I*. Jakarta: Erlangga.
- Haryati, M., Purnomo, T., & Kuntjoro, S. 2012. Kemampuan tanaman genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buch.) Menyerap Logam Berat Timbal (Pb) Limbah Cair Kertas Pada Biomassa dan Waktu Pemaparan yang Berbeda. *Lateral Bio, Vol. 1(3)*.
- Hasrudin dan Rifnatul Husna. 2014. *Miniriset Mikrobiologi Terapan*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Hasyimuddin, H., Fatmawati, N., & Indriani, I. 2018. Isolasi Bakteri Pengakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) Pada Saluran Pembuangan Limbah Industri Kabupaten Gowa. *Biotropic: The Journal of Tropical Biology. Vol. 2(2)*, 126-132.
- Helmi, T. Z., Darmawi, D., & Hamzah, A. 2018. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Gram Negatif pada Ambing Sapi Aceh. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner. Vol. 2(4)*, 450-459.
- Heriyanto, N. M., & Subiandono, E. 2011. Penyerapan polutan logam berat (Hg, Pb dan Cu) oleh jenis-jenis mangrove. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*, 8(2), 177-188.
- Hidayat, Asep dan Chairil Anwar. 2017. *Telaah Mendalam Tentang Bioremediasi: Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air*. Bandung: IPB Press.
- Hidayat, Nur., Irene Meitiniarti dna Neti Yuliana. 2018. *Mikroorganisme dan Pemanfaatannya*. Malang: UB Press. Halaman 8

- Hidayat, Nur., Masdiana C. Padaga., dan Sri Suhartini. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: ANDI. Halaman 16.
- Huckle, J. W., Morby, A.P., Turner, J.S and Robinson, N.J. 1993. Isolation of a Prokaryotic Metallothionein Locus and Analysis of Transcriptional Control by Trace Metal Ions. *Mol Microbiol* 7, 177-187.
- Hughes, M. N. and R. K. Poole. 1989. *Metals and Microorganism*. New York : Chapman and Hall
- Ihsan, Y. N., Fellatami, K., Permana, R., Mulyani, Y., & Pribadi, T. D. K. 2020. Analisis Bakteri Pereduksi Konsentrasi Logam Timbal Pb (CH₃COO)₂ Menggunakan Gen 16S Rrna. *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology*, Vol. 13(2), 151-162.
- Ikerismawati, S. 2019. Bioremediasi Pb Oleh Bakteri Indigen Limbah Cair Agar. *Jurnal Biosilampari: Jurnal Biologi*, 1(2), 51-58.
- Ikhsan, F., Herayati, H., Abdullah, S., & Rukmayadi, Y. 2020. Eksplorasi bakteri penyerap logam Pb dari air Sungai Ciujung. *Teknika: Jurnal Sains dan Teknologi*, 16(2), 261-266.
- Imamuddin, H. 2018. Resistensi Beberapa Isolat Bakteri terhadap Logam Berat (Hg, As, Cd, Ni, Pt dan Se). *Jurnal Biologi Indonesia*, 3(2).
- Inggraini, M. 2017. Efektifitas Pengikatan Logam Pb oleh Bakteri *Bacillus subtilis*. *Jurnal Sains Natural*. Vol. 4(2), 152-156.
- Irianto, K. 2012. *Bakteriologi, Mikologi, Virologi*. Bandung: Alfabeta.
- J.G. Cappucino and N. Sherman. 2001. *Microbiology: A Laboratory Manual, 6th Edition*, Pearson Education Inc. USA: San Fransisco.
- Jamilah and Amri. 2019. Analisis Bakteri Pengakumulasi Logam Berat (Pb) di Tanah Pembuangan Limbah Industri Non-Pangan. *Jurnal Sains dan Pendidikan Biologi*, Vol. 2(2), pp. 7–13.
- Jarosławiecka, A. and Piotrowska Seget, Z. 2014. Lead Resistance in Microorganisms, *Microbiology*, Vol. 160: 12–25.
- Junopia, A. C. 2015. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Logam Timbal (Pb) yang Bersumber Dari Danau Tempe Kabupaten Wajo Sulawesi Selatan. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar.
- Khaerunnisa, R., Kurniati, I., Nurhayati, D., & Dermawan, A. 2019. Pemanfaatan Air Rebusan Umbi Kuning dan Ungu Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*. Vol.11(1), 269-276.

- Kurnianto, Alfian. 2019. Analisis Kualitas Air Sungai Kalimas Kota Surabaya Menggunakan Metode Indeks Pencemaran. *Skripsi*. Surabaya: Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sunan Ampel Surabaya.
- Lailiya, N. R. 2021. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Toleran Terhadap Logam Berat Pb Pada Air dan Sedimen di Sungai Porong Sidoarjo Jawa Timur. *Doctoral dissertation*. Surabaya: UIN Sunan Ampel Surabaya.
- Lewaru S., Indah R., Yuniar M. 2013. Identifikasi Bakteri *Indigenous* Pereduksi Logam Berat Cr (VI) dengan Metode Molekuler di Sungai Cikijing Rancaekek, Jawa Barat. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, Vol. 3(4), 81-92.
- Lizayana, Mudatsir, & Iswadi. 2016. Densitas Bakteri pada Limbah Cair Pasar Tradisional. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Biologi*, Vol. 1(1), 95–106.
- M. J. Pelczar dan E.C.S. Chan. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- MacFaddin, J.F. 1980. *Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria Second Ed.* Baltimore: Williams&Wilkins
- Mara, Duncan and Horan,N.J, 2003 Handbook of water and wastewater microbiology, *Elsevier* ISBN 0-12- 470100-0.
- Maulana, A., Supartono, S., & Mursiti, S. (2017). Bioremediasi Logam Pb pada Limbah Tekstil dengan *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. *Indonesian Journal of Chemical Science*. Vol. 6(3), 256-261.
- Mawaddati, I. 2021. Analisis kualitas air dan daya tampung beban pencemaran di Kali Jagir Surabaya. *Doctoral dissertation*. Surabaya: UIN Sunan Ampel Surabaya.
- Meirikayanti, H. 2018. Analisis Kandungan Logam Berat Tembaga (Cu) Pada Kepiting Bakau (*Scylla* Sp.) Di Sungai Wonorejo, Surabaya= Analysis Of Heavy Metal Copper (Cu) Content In Mud Crab (*Scylla* Sp.) At Wonorejo River, Surabaya. *Doctoral Dissertation*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Munawar, A. 2012. *Monograf Tinjauan Proses Bioremediasi*. Surabaya: UPN Veteran.
- Murnitasari, D. 2009. Penetapan Kadar Timbal (Pb), Tembaga (Cu) dan Kadmium (Cd) dalam Air di Kali Wonokromo (Sekitar Pintu Air Jagir). *Doctoral dissertation*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Murthy, S., Geetha, B and Sarangi, S.K. 2011. Effect of Lead on Metallothionein Concentration in Lead Resistant Bacteria *Bacillus cereus* Isolated From Industrial Effluent. *Afr J Biotechnol* 10, 15966-15972.
- Murtini, J.T., Yennie, Y., dan Ariyani, F. 2003. Penelitian pencemaran logam berat di Selat Madura dan Selat Bali. *Prosiding Seminar Nasional*

- Perikanan Indonesia* 2003. Sekolah Tinggi Perikanan. Jakarta. 1 : p. 83–93.
- Naik, M. M. And Dubey, S. K. 2013. Lead Resistant Bacteria: Lead Resistance Mechanisms, Their Applications In Lead Bioremediation and Biomonitoring'. *Ecotoxicology And Environmental Safety. Elsevier, Vol. 98*, Pp. 1–7.
- Naik, M. M., Pandey, A and Dubey, S. K. 2012. *Pseudomonas aeruginosa* Strain W1-1 From Mandovi Estuary Possesses Metallothionein to Alleviate Lead Toxicity and Promotes Plant Growth. *Ecotoxicol Environ Saf. Vol. 79*, 129-133.
- Natalia, Y. 2013. Analisis Daya Tampung Beban Pencemaran Sungai Wonokromo Surabaya menggunakan Metode QUAL2KW. *Skripsi*. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Nomer, N. M. G. R., Duniaji, A. S., & Nocianitri, K. A. 2019. Kandungan Senyawa Flavonoid dan Antosianin Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Serta Aktivitas Antibakteri Terhadap *Vibrio cholerae*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan. Vol.8(2)*, 216-225.
- Nybakken, J.W. 1992. *Biologi Laut: Suatu Pendekatan Ekologis*. Jakarta: PT. Gramedia
- Oxoid. 2004. *Microbact Identification Kits*. Jakarta: IKAPI.
- Palapa, T. M., & Maramis, A. A. 2015. Heavy Metals in Water of Stream Near an Amalgamation Tailing Ponds in Talawaan–Tatelu Gold Mining, North Sulawesi, Indonesia. *Procedia Chemistry, 14*, 428-436.
- Palar, Heryanto. 2012. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta: Rineka Cipta
- Panjaitan, F. J., Bachtiar, T., Arsyad, I., Lele, O. K., & Indriyani, W. 2020. Karakterisasi Mikroskopis dan Uji Biokimia Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) dari Rhizosfer Tanaman Jagung Fase Vegetatif. *CIWAL (Jurnal Ilmu Pertanian dan Lingkungan). Vol. 1(1)*, 9-17.
- Pelczar, M. & Chan, E. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: UI Press.
- Pereira, S., Micheletti, E., Zille, A., Santos, A., Moradas-Ferreira, P., Tamagnini, P. Dan de Philippis, R. 2012. Using Extracellular Polymeric Substances (EPS)-Producing Cyanobacteria for The Bioremediation of Heavy Metals: Do Cations Compete for the EPS Functional Groups and Also Accumulate Inside The Cell? *Microbiology 157*, 451-458.
- Priadie, Bambang. 2012. Teknik Bioremediasi sebagai Alternatif dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Air. *Jurnal Ilmu Lingkungan. Vol. 10(1)*: 38-48.

- Prihanto, A. A. 2018. Isolasi dan identifikasi bakteri endofit mangrove (Sonneratia alba) penghasil enzim gelatinase dari Pantai Sendang Biru, Malang, Jawa Timur. *Indonesia Journal of Halal*. Vol. 1(1), 31-42.
- Purnamasari, D. E. 2017. Penentuan Status Mutu Air Sungai Wonokromo Dengan Metode Storet dan Indeks Pencemar. *Doctoral dissertation*. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Purwoko, Tjahjadi. 2009. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Putri, Meganada., Sukini dan Yodong. 2017. *Mikrobiologi*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Ramlia, R., & Djalla, A. 2018. Uji Kandungan Logam Berat Timbal (Pb) di Perairan Wilayah Pesisir Parepare. *Jurnal Ilmiah Manusia Dan Kesehatan*, Vol. 1(3), 255-264.
- Rochmad, Subardan. 2019. *Pencemaran Lingkungan*. Tangerang Selatan: Universitas Terbuka.
- Rochyatun, E., & Rozak, A. 2007. Pemantauan Kadar Logam Berat Dalam Sedimen di Perairan Teluk Jakarta. *Makara Journal of Science*. Vol. 11(1)
- Rohmah, N. S. 2017. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Yang Berpotensi Sebagai Agen Bioremediasi Timbal (Pb) Dari Lumpur Lapindo, *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang
- Rosihan, A., dan Husaini, H. 2017. *Logam Berat Sekitar Manusia*. Banjarmasin: Lambung Mangkurat University Press.
- Sabrina, A. N., & Ethica, S. N. (2018, November). Potensi Bakteri Indigen Penghasil Enzim Protease dan Lipase sebagai Agen Bioremediasi Limbah Biomedis Puskesmas Tlogosari Kulon. *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus*. Vol. 1.
- Salehizadeh, H & Shojaosadati, S.A (2003). Removal of Metal Ions from Aqueous Solution by Polysaccharide Produced from Bacillus firmus. *Water Res*. Vol. 37, 4231-4235
- Sari, N. I. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Tanah di Kecamatan Pattallassang Kabupaten Gowa, *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar
- Sari, S.H.J., J.F.A. Kirana, G. Guntur. 2017. Analisis kandungan logam berat Hg dan Cu terlarut di Perairan Pesisir Wonorejo, Pantai Timur Surabaya. *Jurnal Pendidikan Geografi*, 22: 1-9.
- Shihab, M.Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah*. Jakarta: Lentera Hati.

- Shovitri, M.; Kuswytasari, N.D.; Paramita, P. 2012. Biodegrasi Limbah Organik Pasar dengan Menggunakan Mikroorganisme Alami Tangi Septik. *Jurnal Sains dan Seni ITS* Vol. 1, Sept. 2012. ISSN: 2301-928X.
- Shukla, K.P., Singh, N.K., and Sharma, S. 2010. Bioremediation: Developemnt, Current Practices and Perspectives. *Genetic Engineering Biotechnol Journal*. Vol. 3 (8): 1-20.
- Sitorus, H. 2004. Analisis beberapa karakteristik lingkungan perairan yang mempengaruhi akumulasi logam berat timbal dalam tubuh kerang darah di perairan pesisir timur Sumatera Utara. *Jurnal Ilmu-ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia*, 11(1), 53-60.
- Srinivas, T. 2008. *Environmental Biotechnology*. New Delhi: New Age International Publisher.
- Suarni, Subagio H. 2013. Potensi Pengembangan Jagung dan Sorgum Sebagai Sumber Pangan Fungsional. *J Litbang Pertanian*. Vol. 32(2):47–55.
- Sugiyarto, K.H., Retno D.S. 2010. *Kimia Anorganik Logam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Sutamihardja, 2006. *Buku Bahan Ajar Program Studi Ilmu Lingkungan: Toksikologi Lingkungan*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Suwarsito, S., & Sarjanti, E. 2014. Analisa Spasial Pencemaran Logam Berat Pada Sedimen dan Biota Air Di Muara Sungai Serayu Kabupaten Cilacap. *Geo Edukasi*. Vol. 3(1).
- Titin A. 2010. Kontaminasi logam berat pada makanan dan dampaknya pada kesehatan. *Teknubuga*; 2(2): 53-65.
- Ulfa, A., E. Suarsini, M. H. Irawati, dan A. Muhdhar. 2016. Isolasi dan Uji Sensitivitas Merkuri pada Bakteri dari Limbah Penambangan Emas di Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat. *Proceeding Biology Education Conference*. Vol. 13(1): 793-799.
- Usman, S. W. 2015. Bakteri Asosiasi Karang yang Terinfeksi Penyakit *Brown Band* (Brb) di Perairan Pulau Barranglompo Kota Makassar. *Skripsi*. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Vidali, M. 2001. Bioremediation. *Pure Appl. Chem*. 73: 1163-1172.
- Wahyuningsih, N., & Zulaika, E. (2018). Perbandingan Pertumbuhan Bakteri Selulolitik pada Media Nutrient Broth dan Carboxy Methyl Cellulose. *Jurnal sains dan Seni ITS*. Vol. 7(2), 36-38.
- Waluyo, L. 2005. *Mikrobiologi Lingkungan*. Malang: UMM Press.
- Waluyo, L. 2005. *Mikrobiologi Umum*. Malang : UMM Press.

- Wardhana, Wisnu Arya. 2001. *Dampak Pencemaran Lingkungan. Edisi Revisi*. Yogyakarta: Penerbit Andi.
- Widiatmono, B. R., Susanawati, L. D., & Agustianingrum, R. 2020. Bioremediasi Logam Timbal (Pb) Menggunakan Bakteri *Indigenous* Pada Tanah Tercemar Air Lindi (Leachate). *Jurnal Sumberdaya Alam dan Lingkungan*, 6(3), 11-18.
- Wulan, D. K. R. 2019. Karakterisasi Bakteri Indigenus Pada Kolam di Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) Sewon, Bantul. *Doctoral Dissertation*. Yogyakarta: UAJY.
- Yajid, M. 2007. Kajian Pemanfaatan Bakteri Hasil Isolasi Sebagai Agen Bioremediasi Radionuklida Uranium di Lingkungan. *Jurnal Prosiding PPI*. ISSN 0216-3128.
- Yang, W., Meng, F., Peng, J., Han, P., Fang, F., Ma, L., & Cao, B. 2014. Isolation and identification of a cellulolytic bacterium from the Tibetan pig's intestine and investigation of its cellulase production. *Electronic Journal of Biotechnology*, Vol.17(6), 262-267.
- Yani, M. dan Ratna, M. K. 2008. Pengaruh Logam Berat Terhadap Pertumbuhan Bakteri Pendegradasi Minyak Diesel. *Seminar Nasional Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia (PERMI)*, hal 22-23.
- Yanti, Della Hijri, dkk. 2021. Isolation and Identification of Bacteria from Dumai Marine Waters that Have Potencial as Lead Bioremediation Agents. *Journal of Coastal and Ocean Sciences*, Vol. 2(3), 217-222.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Metode Kerja

Pengambilan Sampel

- Diambil sampel air Sungai Wonokromo pada tiga stasiun yang berbeda
- Dimasukkan sampel air sebanyak 500 mL kedalam botol kaca steril
- Diukur suhu dan pH air pada masing-masing stasiun
- Dilakukan perlakuan dan analisis di laboratorium

Sterilisasi Alat

- Dicuci alat-alat gelas menggunakan sabun
- Dibungkus alat-alat gelas menggunakan plastik tahan panas dan diikat rapat
- Dibungkus cawan petri menggunakan kertas dan dimasukkan kedalam plastik tahan panas
- Disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit

Pembuatan Media

- Ditimbang media sesuai takaran dan dimasukkan kedalam *beaker glass*
- Ditambahkan aquades
- Dipanaskan diatas hotplate hingga mendidih dan dihomogenkan menggunakan stirer
- Dituang kedalam erlenmeyer
- Ditungkup menggunakan kapas dan dibungkus dengan kassa
- Disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit

Isolasi Bakteri

- Diambil sampel air sebanyak 1 mL
- Dicampurkan dalam larutan garam fisiologis 9 mL

- Dibuat pengenceran berseri hingga 10^{-6} pada tabung lain yang telah berisi 9 mL garam fisiologis
- Diambil 1 mL air dan diinokulasikan pada media NA yang telah diperkaya $Pb(NO_3)_2$ dengan metode pour plate
- Diinkubasi pada suhu $37^\circ C$ selama 1×24 jam dalam inkubator
- Diambil *single* koloni untuk dilakukan pemurnian isolat
- Diamati pertumbuhan koloni pada media

Uji Resistensi Bakteri

- Diinokulasikan isolat bakteri ke dalam media NB yang diperkaya $Pb(NO_3)_2$ dengan konsentrasi 0; 1,5; 2; 3 dan 4 ppm.
- Diinkubasi ke dalam *incubator shaker* selama 24 jam pada suhu $37^\circ C$ dengan kecepatan 120 rpm
- Diukur nilai ODnya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm.

Identifikasi Bakteri

- Diamati koloni bakteri berdasarkan karakter morfologinya
- Dilakukan uji pewarnaan gram dan diamati selnya menggunakan mikroskop
- Dilakukan uji biokimia menggunakan microbact identification kit

Uji Penurunan Kadar Pb

- Diinokulasikan bakteri ke dalam media NB yang telah diperkaya dengan $Pb(NO_3)_2$ 4 ppm.
- Diinkubasi ke dalam *incubator shaker* selama 24 jam pada suhu $37^\circ C$ dengan kecepatan 120 rpm
- Dibuat kurva pertumbuhan bakteri
- Diukur konsentrasi Pb yang tersisa menggunakan *atomic absorption spectrophotometer* (AAS)

Lampiran 2. Pembuatan Media yang Diperkaya Timbal Nitrat (Pb(NO₃)₂)

1. Pembuatan larutan stok timbal nitrat (Pb(NO₃)₂)

$$1 \text{ ppm} = 1 \text{ mg/L}$$

Larutan stok 100 ppm = 100 mg/L dalam 100 mL pelarut

$$100 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{100 \times 10^{-3} \text{ L}}$$

$$\text{mg} = 100 \text{ mg/L} \times 100 \cdot 10^{-3}$$

$$\text{mg} = 10 \text{ mg}$$

Jadi cara pembuatan larutan stok timbal nitrat (Pb(NO₃)₂) 1000 ppm adalah dengan mengambil serbuk timbal nitrat (Pb(NO₃)₂) sebanyak 10 mg, kemudian dimasukkan ke dalam botol lab 10 ml. Selanjutnya ditambahkan aquades sebagai pelarut hingga tanda batas dan dikocok supaya homogen.

Untuk mendapatkan volume larutan timbal nitrat (Pb(NO₃)₂) yang harus dimasukkan kedalam media NB (pada uji resistensi dan uji akumulasi), digunakan rumus sebagai berikut :

$$V1.M1 = V2.M2$$

$$V1 = \text{volume total media dalam erlenmeyer}$$

$$V2 = \text{volume larutan Pb nitrat yang akan digunakan (mL)}$$

$$M1 = \text{konsentrasi larutan Pb yang ditentukan (mg/L)}$$

$$M2 = \text{konsentrasi larutan Pb yang digunakan (100 mg/L)}$$

2. Pembuatan media NA yang diperkaya timbal nitrat (Pb(NO₃)₂) 1,5 ppm untuk uji resistensi

$$V1 . M1 = V2 . M2$$

$$300 . 1,5 = V2 . 100$$

$$V2 = \frac{300 \times 1,5}{100} = 4,5 \text{ mL larutan Pb}$$

- 3. Pembuatan media NB yang diperkaya timbal nitrat ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) 0 ppm
untuk uji resistensi**

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$270 \cdot 0 = V_2 \cdot 100$$

$$V_2 = \frac{270 \times 0}{100} = 0 \text{ mL larutan Pb}$$

- 4. Pembuatan media NB yang diperkaya timbal nitrat ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) 1,5 ppm
untuk uji resistensi**

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$270 \cdot 1,5 = V_2 \cdot 100$$

$$V_2 = \frac{270 \times 1,5}{100} = 4,05 \text{ mL larutan Pb}$$

- 5. Pembuatan media NB yang diperkaya timbal nitrat ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) 2 ppm
untuk uji resistensi**

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$270 \cdot 2 = V_2 \cdot 100$$

$$V_2 = \frac{270 \times 2}{100} = 5,4 \text{ mL larutan Pb}$$

- 6. Pembuatan media NB yang diperkaya timbal nitrat ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) 3 ppm
untuk uji resistensi**

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$270 \cdot 3 = V_2 \cdot 100$$

$$V_2 = \frac{270 \times 3}{100} = 8,1 \text{ mL larutan Pb}$$

- 7. Pembuatan media NB yang diperkaya timbal nitrat ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) 4 ppm
untuk uji resistensi**

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$270 \cdot 2 = V_2 \cdot 100$$

$$V_2 = \frac{270 \times 2}{100} = 10,8 \text{ mL larutan Pb}$$

Lampiran 3. Hasil Pengukuran Kadar Timbal (Pb) Sungai Wonokromo

BALAI PENELITIAN DAN KONSULTASI INDUSTRI



LABORATORIUM
PENELITIAN DAN KONSULTASI INDUSTRI
SURABAYA – JAWA TIMUR

REPORT

Certificate of Analysis

No. : 0812/KI/IV-2022
Code : Penelitian
Sample Sender : Mhs. Eio UIN Malang
Sample Name : Air Kali
Test : Pb
Sample Brand :
Sample Identity : Cairan keruh
Sample Accepted : 8 April 2022

Chemical laboratory test result is :

Kode	Pb, ppm
St 1.	1,56
St 2.	1,85
St 3.	2,01

Surabaya, 11 April 2022
Head of Chemical Laboratory Researcher

Drs. M. Fatoni, M.S.

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

Lampiran 4. Nilai *Optical density* (OD) pada Uji Resistensi Bakteri Terhadap Pb

Konsentrasi Timbal Nitrat (Pb(NO ₃) ₂)	Isolat	Nilai OD pada ulangan ke-		Rata-Rata	Standar Deviasi
		I	II		
0 ppm	S1P1(1)	1,872	2,004	1,74	0,187
	S1P1(2)	1,742	1,841	1,643	0,140
	S1P1(1)	1,706	1,817	1,595	0,157
	S1P2(2)	1,69	1,593	1,787	0,137
	S2P2(1)	1,688	1,541	1,835	0,066
	S2P2(2)	1,773	1,876	1,67	0,146
	S3P2(2)	1,764	1,822	1,706	0,082
1,5 ppm	S1P1(1)	1,581	1,473	1,689	0,153
	S1P1(2)	1,458	1,564	1,352	0,150
	S1P1(1)	1,433	1,52	1,346	0,123
	S1P2(2)	1,452	1,333	1,571	0,168
	S2P2(1)	1,417	1,336	1,498	0,115
	S2P2(2)	1,59	1,667	1,513	0,109
	S3P2(2)	1,525	1,41	1,64	0,106
2 ppm	S1P1(1)	1,541	1,642	1,44	0,143
	S1P1(2)	1,359	1,491	1,227	0,180
	S1P1(1)	1,396	1,495	1,297	0,107
	S1P2(2)	1,306	1,417	1,195	0,175
	S2P2(1)	1,372	1,275	1,469	0,129
	S2P2(2)	1,571	1,424	1,718	0,188
	S3P2(2)	1,456	1,559	1,353	0,150
3 ppm	S1P1(1)	1,407	1,465	1,349	0,068
	S1P1(2)	1,191	1,083	1,299	0,069
	S1P1(1)	1,26	1,366	1,154	0,058
	S1P2(2)	1,275	1,362	1,188	0,123
	S2P2(1)	1,24	1,121	1,359	0,140
	S2P2(2)	1,306	1,225	1,387	0,093
	S3P2(2)	1,296	1,373	1,219	0,082
4 ppm	S1P1(1)	1,167	1,052	1,282	0,160
	S1P1(2)	1,014	1,115	0,913	0,099
	S1P1(1)	1,011	0,892	1,13	0,075
	S1P2(2)	1,02	0,939	1,101	0,076
	S2P2(1)	0,981	1,058	0,904	0,069
	S2P2(2)	1,058	0,943	1,173	0,163
	S3P2(2)	1,014	1,115	0,913	0,143

Lampiran 6. Hasil Identifikasi berdasarkan Uji Biokimia Isolat Bakteri Sungai Wonokromo)

Kode isolat : S1P1(1)

Nama spesies : *Pseudomonas pseudomallei*

No	Uji Biokimia	Hasil
1.	Motilitas	+
2.	Spora	-
3.	Glukosa	-
4.	Sukrosa	-
5.	Laktosa	-
6.	Manitol	-
7.	Oksidase	+
8.	Katalase	-
9.	Urease	-
10.	V-P	-
11.	Indol	-
12.	<i>Lysin</i>	+
13.	Ornithin	+
14.	Nitrat	-
15.	Sitrat	+

Keterangan :

+ : hasil uji positif

- : hasil uji negatif

Td : tidak diuji

Kode isolat : S2P2(2)

Nama spesies : *Bacillus subtilis*

No	Uji Biokimia	Hasil
1.	Motilitas	+
2.	Spora	+
3.	Glukosa	+
4.	Sukrosa	-
5.	Laktosa	-
6.	Manitol	+
7.	Oksidase	+
8.	Katalase	+
9.	Urease	-
10.	V-P	+
11.	Indol	-
12.	<i>Lysin</i>	-
13.	Ornithin	-
14.	Nitrat	-
15.	Sitrat	-

Keterangan :

+ : hasil uji positif

- : hasil uji negatif

Td : tidak diuji

Lampiran 7. Hasil Uji Penurunan Kadar Pb dan Hasil Identifikasi Bakteri Secara Biokimia

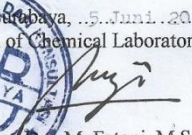
BALAI PENELITIAN DAN KONSULTASI INDUSTRI
LABORATORIUM
PENELITIAN DAN KONSULTASI INDUSTRI
SURABAYA – JAWA TIMUR

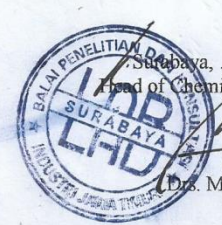
REPORT
Certificate of Analysis

No. : 00199/KI/VI-2022
Code : Penelitian
Sample Sender : Mhs.UIN Bio MLE
Sample Name : Air Limbah
Test : Pb-Jenis bakteri
Sample Brand :
Sample Identity : Cairan keruh
Sample Accepted : 30 Mei 2022

Chemical laboratory test result is :

Kode	Pb,ppm	Jenis bakteri
S1P1	0,21	P.Pseudomallei
S1P1	0,22	B.subtilis
S1P1	0,19	P.Pseudomallei

Surabaya, 5 Juni 2022.....
Head of Chemical Laboratory Researcher

Dr. M. Fatoni, M.S.



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

Lampiran 8. Hasil Analisis Statistik (Uji T)

Isolat S1P1(1)

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	-,386	,295		-1,306	,248
	0ppm (kontrol)	,871	,239	,852	3,641	,015

a. Dependent Variable: 4ppm

Isolat S2P2(2)

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	-,342	,242		-1,410	,218
	0ppm (kontrol)	,760	,162	,903	4,691	,005

a. Dependent Variable: 4ppm






Isolat S3P2(2)

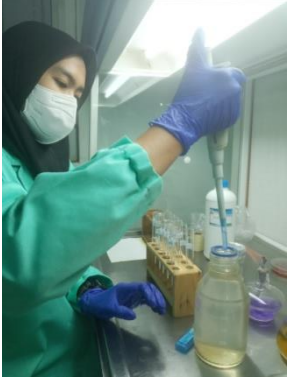
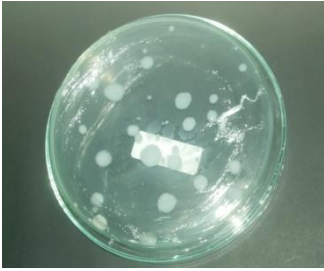



Coefficients^a


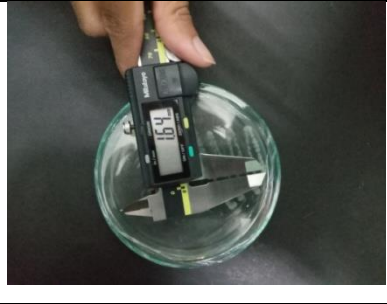
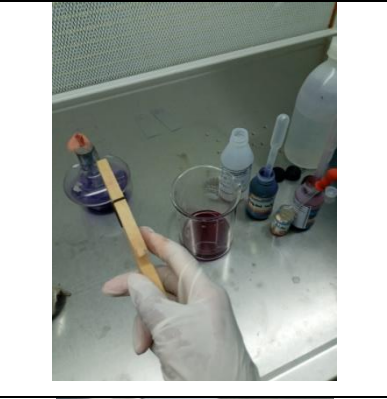

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	-,063	,120		-,526	,621
	0ppm (kontrol)	,910	,110	,965	8,267	,000

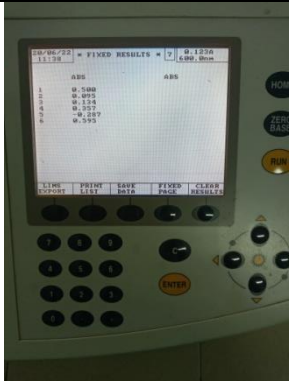

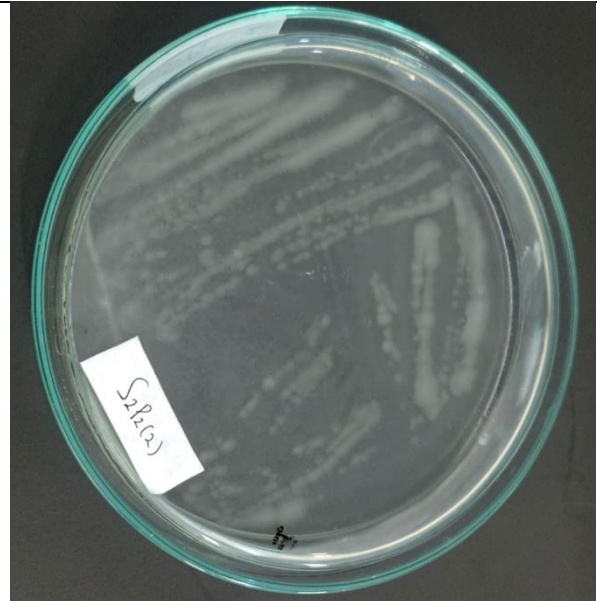
a. Dependent Variable: 4ppm

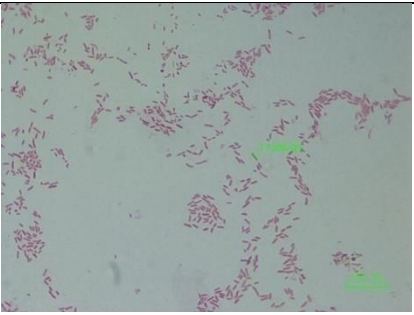

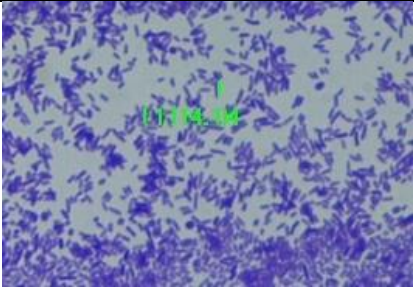
Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian

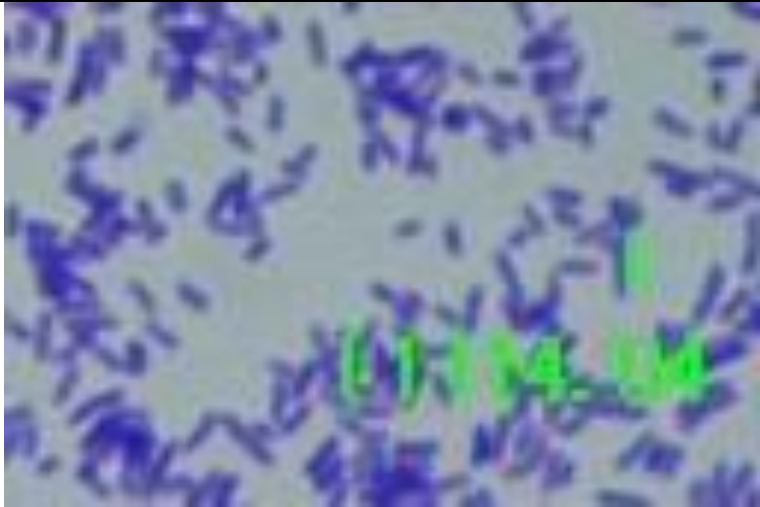
Dokumentasi	Keterangan
	Pengukuran suhu dan pH air Sungai Wonokromo
	Sampel air Sungai Wonokromo
	Pembuatan media
	Media NA dan NB
	Larutan stok Timbal Nitrat ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) 100 ppm

		<p>Proses pengenceran bertingkat $10^{-1} - 10^{-6}$</p>
	<p>Pemurnian isolat bakteri</p>	
	<p>Pengukuran nilai OD untuk uji resistensi</p>	
		

		
		<p>Pengamatan morfologi koloni bakteri dan pengukuran diameter koloni</p>
		<p>Uji pewarnaan gram</p>
		<p>Pengukuran nilai OD untuk pembuatan kurva pertumbuhan bakteri</p>

	<p>Hasil pengukuran nilai OD</p>
<p>Hasil Pengamatan Makroskopik Koloni Bakteri</p>	
	<p>Isolat S1P1(1)</p>
	<p>Isolat S2P2(2)</p>

Hasil Pengamatan Mikroskopis dengan Uji Pewarnaan Gram	
 	Isolat S1P1(1)
	Isolat S2P2(2)

Lampiran 10. Form Checklist Plagiasi



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

Form Checklist Plagiasi

Nama : Eka Febriana Milenia Wati
NIM : 18620094
Judul : Potensi Bakteri Indigen dalam Mengakumulasi Timbal (Pb) dari Sungai Wonokromo, Kota Surabaya

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
4	Dr. Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD. Med. Sc	25%	
5	Tyas Nyonita Punjungsari, M. Sc		



Diketahui,
Dekan Studi Biologi

Dr. Erika Sandi Savitri, M. P

NID. 19741018 200312 2 002

Lampiran 11. Kartu Konsultasi Dosen Pembimbing I



186KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Eka Febriana Milenia Wati
NIM : 18620094
Program Studi : SI Biologi
Semester : Ganjil TA 2022/2023
Pembimbing : Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc
Judul Skripsi : Potensi Bakteri Indigen dalam Mengakumulasi Timbal (Pb) dari Sungai Wonokromo, Kota Surabaya

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	04/11/2021	Konsultasi judul skripsi	
2.	10/01/2022	Bimbingan bab 1 dan 3	
3.	20/01/2022	Bimbingan bab 2 dan hasil revisi bab 1, 3	
4.	27/01/2022	Bimbingan hasil revisi bab 1-3 dan mendapat ACC proposal skripsi	
5.	20/05/2022	Konsultasi data hasil penelitian	
6.	17/06/2022	Bimbingan bab 4	
7.	04/08/2022	Bimbingan hasil revisi bab 1-4	
8.	26/08/2022	Bimbingan hasil revisi naskah keseluruhan	
9.	02/09/2022	Bimbingan hasil revisi naskah keseluruhan	
10.	05/09/2022	Mendapat ACC naskah keseluruhan	

Pembimbing Skripsi I

Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc

NIP. 19920507 201903 2 026

Malang, 5 September 2022
Ketua Program Studi,



Sandi Savitri, M.P

NIP.197410182003122002

Lampiran 11. Kartu Konsultasi Dosen Pembimbing II



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

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Eka Febriana Milenia Wati
NIM : 18620094
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil TA 2022/2023
Pembimbing : Mujahidin Ahmad, M.Sc
Judul Skripsi : Potensi Bakteri Indigen dalam Mengakumulasi Timbal (Pb) dari Sungai Wonokromo, Kota Surabaya

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	04/02/2022	Bimbingan integrasi ayat Al Qur'an bab 1-3	
2.	08/02/2022	Bimbingan hasil revisi integrasi ayat Al Qur'an bab 1-3 dan mendapat ACC bab 1-3	
3.	09/08/2022	Bimbingan integrasi ayat Al Qur'an bab 1, 2 dan 4	
4.	12/08/2022	Bimbingan hasil revisi integrasi ayat Al Qur'an bab 1, 2 dan 4	
5.	15/08/2022	Bimbingan hasil revisi integrasi ayat Al Qur'an bab 1 dan mendapat ACC naskah keseluruhan	
6.			
7.			
8.			
9.			
10.			

Pembimbing Skripsi II

Mujahidin Ahmad, M.Sc

NIP. 19860512 201903 1 002

Malang, 26 Agustus 2022

Ketua Program Studi,



Sandi Savitri, M.P

NIP.197410182003122002