

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGAKUMULASI LOGAM
BERAT SEBAGAI AGEN BIOREMEDIASI DARI PESISIR KAWASAN
INDUSTRI DI DESA FATUFIA, KECAMATAN BAHODOPI,
KABUPATEN MOROWALI, PROVINSI SULAWESI
TENGAH**

TESIS

**Oleh:
MUHAMMAD MASLAN
NIM. 200602210011**



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

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGAKUMULASI LOGAM
BERAT SEBAGAI AGEN BIOREMEDIASI DARI PESISIR KAWASAN
INDUSTRI DI DESA FATUFIA, KECAMATAN BAHODOPI,
KABUPATEN MOROWALI, PROVINSI SULAWESI
TENGAH**

TESIS

**Oleh:
MUHAMMAD MASLAN
NIM. 200602210011**

**Diajukan kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
untuk Menempuh Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Magister Sains (M.Si.)**

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

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGAKUMULASI LOGAM
BERAT SEBAGAI AGEN BIOREMEDIASI DARI PESISIR KAWASAN
INDUSTRI DI DESA FATUFIA, KECAMATAN BAHODOPI,
KABUPATEN MOROWALI, PROVINSI SULAWESI
TENGAH**

TESIS

**Oleh:
MUHAMAMMAD MASLAN
NIM; 200602210011**

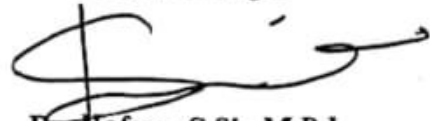
**Telah diperiksa disetujui untuk diuji
Tanggal: 25 November 2022**

Pembimbing 1



**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 19741018 2003 12 2 2009**

Pembimbing 2



**Dr. Hafsan, S.Si., M.Pd.
NIP. 19810912 2009 12 2 008**



Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Biologi

**Prof. Dr. drh. Hj. Bayvinatul Muchtaromah, M.Si.
NIP. 19710919 2000 03 2 001**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENAKUMULASI LOGAM
BERAT SEBAGAI AGEN BIOREMEDIASI DARI PESISIR KAWASAN
INDUSTRI DI DESA FATUFIA, KECAMATAN BAHODOPI,
KABUPATEN MOROWALI, PROVINSI SULAWESI
TENGAH**

TESIS

**Oleh:
MUHAMAMMAD MASLAN
NIM; 200602210011**

**telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Tesis dan dinyatakan diterima sebagai salah satu
persyaratan untuk memperoleh gelar Magister Sains (S.Si.)
Tanggal: 8 Desember 2022**

Penguji Utama	: Prof.Dr.drh. Hj. Bayyinatul M., M.Si. NIP. 19710919 2000 03 2 001	(.....) 
Ketua Penguji	: Dr. Eko Budi Minarno M.Pd. NIP. 19630114 1999 03 1 001	(.....) 
Sekretaris Penguji	: Dr. Evika Sandi Savitri, M.P. NIP. 19741018 2003 12 2 2009	(.....) 
Anggota Penguji	: Dr. Hafsan, S.Si., M.Pd. NIP. 19810912 2009 12 2 008	(.....) 



**Mengesahkan,
Ketua Program Studi Magister Biologi**

Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si.
NIP. 19710919 2000 03 2 001

HALAMAN PERSEMBAHAN

Puji syukur kepada Allah SWT atas penyelesaian tesis ini dengan baik. Tesis ini saya persembahkan untuk:

- ❖ Kedua orang tuaku tercinta, Bapak Manna dan Ibu Halija yang selalu memberi doa dan dukungan, kasih sayang tanpa batas, serta memotivasi menjalani hidup untuk terus belajar dengan penuh kesabaran.
- ❖ Saudara-saudaraku tercinta Kakak Maslina, Kakak Sudirman, Kakak Mahir, Adik Mansur, Kakak Ipar Muhammad Darwis, Ipar Umi dan semua Keluarga yang tersayang telah mendoakan selalu dimudahkan segalanya dan mendukung penyelesaian studi.
- ❖ Istriku tercinta Jusriani, kedua mertuaku Bapak Rahman Semmang dan Ibu Sanatang yang tersayang telah memberikan support dan doanya untuk berjuang bersama menjalani hidup dengan memotivasi “jalani, nikmati, dan syukuri”
- ❖ Serta semua pihak yang telah membantu dan mendukung dari awal penyusunan karya ini sampai dengan selesai.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Maslan
NIM : 200602210011
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi / Magister Biologi
Judul Penelitian : Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pengakumulasi Logam Berat sebagai Agen Bioremediasi dari Pesisir Kawasan Industri di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis 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 tesis ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 12 Desember 2022

Yang membuat pernyataan,


Muhammad Maslan
NIM. 200602210011

PEDOMAN PENGGUNAAN TESIS

Tesis 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.

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pengakumulasi Logam Berat sebagai Agen Bioremediasi dari Pesisir Kawasan Industri di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah

Muhammad Maslan, Evika Sandi Savitri, Hafsan

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

ABSTRAK

Penceraman logam berat dari aktivitas industri pertambangan yang menghasilkan limbah telah menjadi isu dan perhatian serius karena membahayakan ekosistem biota laut dan kesehatan manusia. Pesisir kawasan industri yang terletak di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah terindikasi telah tercemar logam berat diantaranya logam krom (Cr). Bioremediasi oleh bakteri dengan cara mengakumulasi dan menguraikan pencemar di lingkungan menjadi bentuk yang kurang berbahaya menjadi salah satu solusi. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis cemaran logam pada area pesisir kawasan industri, mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri pengakumulasi logam Cr dari pesisir kawasan industri dan mengetahui kemampuan bakteri dalam mengakumulasi logam Cr.

Metode penelitian didahului dengan pengambilan sampel sedimen dan air dari dua stasiun (S1 dan S2) menggunakan teknik *purposive sampling*. Analisis cemaran logam untuk membandingkan tingkat cemaran sampel dengan standar indeks pencemar (ANZECC & ARMCANZ, 2000; dan KMNLIH No. 51 Thn, 2004). Isolasi dan seleksi bakteri menggunakan metode *streak plate*. Identifikasi isolat bakteri dilakukan dengan pendekatan molekuler berbasis 16S rRNA melalui analisis BLAST NCBI dan konstruksi filogenik. Uji kemampuan mengakumulasi logam Cr dilakukan dengan menggunakan AAS.

Hasil menunjukkan logam berat yang menjadi pencemar dan resiko lingkungan bahaya tinggi di pesisir kawasan industri adalah logam Cr sebagaimana pada Stasiun 1 (sedimen 2150.44 mg/kg dan Air 0.11 mg/L. Dua isolat bakteri yang terindikasi tahan terhadap logam Cr konsentrasi tinggi 5000 mg/L masing-masing kode S1.1 dan S1.2. Karakteristik morfologi isolat S1.1 adalah koloni kuning, *circular, entire, flate*, basil dan gram positif dan isolat S1.2 adalah koloni putih, *circular, undulate, flate*, basil dan gram positif. Berdasarkan hasil identifikasi molekuler terhadap kedua isolat tersebut S1.1 dan S1.2 memiliki kemiripan dengan *Exiguobacterium indicum* dan *Bacillus mobilis*. Aktivitas akumulasi logam dan kemampuan menurunkan konsentrasi logam Cr selama waktu 48 jam yaitu isolat S1.1 dari 10.77 mg/L menjadi 9.39 mg/L, dan isolat S1.2 dari 10.36 mg/L menjadi 9.27 mg/L dengan persentase penurunan 84% dan 82% sehingga bakteri tersebut potensial untuk dimanfaatkan sebagai agen bioremediasi.

Kata Kunci: Isolasi, Identifikasi Bakteri, Bioremediasi, Logam Berat

Isolation and Identification of Heavy Metal Accumulating Bacteria as Bioremediation Agents from Coastal Industrial Estates in Fatufia Village, District Bahodopi, Morowali Regency, Central Sulawesi Province

Muhammad Maslan, Evika Sandi Savitri, Hafsan

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

ABSTRACT

The deepening of heavy metals from mining industry activities that produce waste has become a serious issue and concern because it endangers marine life ecosystems and human health. The coastal industrial area located in Fatufia Village, Bahodopi District, Morowali Regency, Central Sulawesi Province is indicated to have been contaminated with heavy metals including chrome metal (Cr). Bioremediation by bacteria by accumulating and decomposing pollutants in the environment into less harmful forms is one solution. The purpose of this study is to analyze metal contamination in the coastal area of the industrial area, isolate and identify the Cr metal accumulating bacteria from the coastal industrial area and determine the ability of bacteria to accumulate Cr metal.

The research method was preceded by sampling sediment and water from two stations (S1 and S2) using *purposive sampling* techniques. Analysis of metal contamination to compare sample contamination rates with pollutant index standards (ANZECC & ARMCANZ, 2000; and KMNLH No. 51 Yr, 2004). Isolation and selection of bacteria using the *streak plate* method. Identification of bacterial isolates was carried out with a molecular approach based on 16S rRNA through NCBI BLAST analysis and phylogenetic construction. The test of the ability to accumulate Cr metal was carried out using AAS.

The results showed that heavy metals that are pollutants and high risk of environmental hazards in coastal industrial areas are Cr metals as in Station 1 (sediment 2150.44 mg/kg and Water 0.11 mg/L. Two bacterial isolates indicated to be resistant to high concentrations of Cr metal 5000 mg/L respectively codes S1.1 and S1.2. The morphological characteristics of isolates of S1.1 are yellow, circular, *entire*, flate, bacillus and gram-positive colonies and S1.2 isolates are white, *circular*, *undulate*, flate, bacillus and gram-positive colonies. Based on the results of molecular identification of the two isolates S1.1 and S1.2 have similarities with *Exiguobacterium indicum* and *Bacillus mobilis*. Metal accumulation activity and the ability to reduce the concentration of Cr metal for a period of 48 hours, namely isolate S1.1 from 10.77 mg / L to 9.39 mg / L, and isolate S1.2 from 10.36 mg / L to 9.27 mg / L with a percentage decrease of 84% and 82% so that the bacteria have the potential to be used as a bioremediation agent.

Keywords: Isolation, Bacterial Identification, Bioremediation, Heavy Metals

عزل وتحديد البكتيريا المتراكمة للمعادن الثقيلة كعوامل معالجة بيولوجية من المدن الصناعية الساحلية في قرية فاتوفيا، مقاطعة باهودوبي، موروالي ريجنسي، مقاطعة سولاويزي الوسطى

Muhammad Maslan, Evika Sandi Savitri, Hafsan

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

تجريدي

أصبح تعميق المعادن الثقيلة من أنشطة صناعة التعدين التي تنتج النفايات قضية خطيرة ومصدر قلق لأنها تعرض النظم الإيكولوجية للحياة البحرية وصحة الإنسان للخطر. ويشار إلى أن المنطقة الصناعية الساحلية الواقعة في قرية فاتوفيا، مقاطعة باهودوبي، موروالي ريجنسي، مقاطعة سولاويزي الوسطى، قد تلوثت بالمعادن الثقيلة بما في ذلك معدن الكروم (Cr). يعد العلاج البيولوجي للبكتيريا عن طريق تراكم الملوثات وتحللها في البيئة إلى أشكال أقل ضرراً أحد الحلول. الغرض من هذه الدراسة هو تحليل التلوث المعدني في المنطقة الساحلية للمنطقة الصناعية، وعزل وتحديد البكتيريا المتراكمة من معدن Cr من المنطقة الصناعية الساحلية وتحديد قدرة البكتيريا على تراكم معدن Cr.

وقد سبق طريقة البحث أخذ عينات من الرواسب والمياه من محطتين (S1 و S2) باستخدام تقنيات أخذ العينات الهادفة. تحليل التلوث المعدني لمقارنة معدلات تلوث العينات بمعايير مؤشر الملوثات (ANZECC & ARMCANZ, 2000 ; KMNHLH رقم 51 سنة ، 2004). عزل واختيار البكتيريا باستخدام طريقة لوحة الخط. تم تحديد العزلات البكتيرية بنهج جزيئي يعتمد على 16S rRNA من خلال تحليل NCBI BLAST والبناء الفيلوجيني. تم إجراء اختبار القدرة على تجميع معدن Cr باستخدام AAS. أظهرت النتائج أن المعادن الثقيلة الملوثة والمخاطر العالية للمخاطر البيئية في المناطق الصناعية الساحلية هي معادن Cr كما في المحطة 1 (الرواسب 2150.44 ملغم/كغم والماء 0.11 ملغم/لتر. يشار إلى عزلتين بكتيريتين لأنهما مقاومتان للتركيزات العالية من معدن الكروم 5000 مجم/لتر على التوالي الرمزين S1.1 و S1.2. الخصائص المورفولوجية لعزلات S1.1 هي مستعمرات صفراء ودائرية وكاملة ومسطحة وعصيات وإيجابية الجرام ومعزولات S1.2 هي مستعمرات بيضاء ودائرية وتموجة ومسطحة وعصوية وإيجابية الجرام. بناء على نتائج التحديد الجزيئي للعزلتين S1.1 و S1.2 لهما أوجه تشابه مع *Bacillus mobilis* و *Exiguobacterium indicum*. نشاط تراكم المعادن والقدرة على تقليل تركيز معدن الكروم لمدة 48 ساعة، أي عزل S1.1 من 10.77 مجم/لتر إلى 9.39 مجم/لتر، وعزل S1.2 من 10.36 مجم/لتر إلى 9.27 مجم/لتر مع انخفاض بنسبة 84% و 82% بحيث يكون للبكتيريا القدرة على استخدامها كعامل معالجة حيوية.

الكلمات المفتاحية: العزل، تحديد البكتيريا، المعالجة الحيوية، المعادن الثقيلة

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamualaikum Wr. Wb.

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah yang telah dilimpahkan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini yang berjudul “Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pengakumulasi Logam Berat sebagai Agen Bioremediasi Dari Pesisir Kawasan Industri di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah”. Salawat dan salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Baginda Besar Nabihullah Muhammad SAW beserta keluarga dan para sahabatnya hingga pada umatnya, Nabi diutus sebagai khalifah ke permukaan bumi ini dan untuk menuntun manusia dari lembah kebiadaban menjadi kebaikan seperti sekarang ini yang menjadi suri taulan dan uswatun hasanah bagi kita semua. Aamiin.

Berkat bimbingan, bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, maka penulis mengucapkan terima kasih yang tak terkira khususnya kepada:

1. Prof. Dr. M. Zainuddin, MA. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si., selaku ketua Jurusan Magister Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, dosen wali, sekaligus selaku dewan penguji tesis yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing dan arahan agar tesis ini selesai dengan baik.
4. Dr. Evika Sandi Savitri, S.Si., M.P, selaku pembimbing utama yang tulus dan sabar memberikan arahan, dan terus membimbing dan memotivasi dalam menyelesaikan tesis ini.
5. Dr. Hafsan, S.Si., M.Pd., pembantu pembimbing yang dengan sabar dan ikhlas telah memberikan bimbingan, pengarahan serta motivasi dalam menyelesaikan tesis dan studi ini.
6. Dr. Eko Budi Minarno, M. Pd. selaku dewan penguji yang telah memberikan saran, nasehat, arahan dan kritik yang membangun serta dukungan sehingga membantu penulisan tesis dapat terselesaikan.
7. Seluruh Bapak/Ibu Dosen, Laboran dan Staf jurusan Magister Biologi maupun Fakultas Saintek yang telah membantu dan memberikan saran serta memberikan kemudahan, terima kasih atas semua ilmu.
8. Kedua orang tua Ayahanda (Bapak Manna) dan Ibunda (Ibu Halija) yang selalu memberikan doa, semangat serta motivasinya untuk menyelesaikan tulisan ini.
9. Saudara Kakak Maslina, Sudirman, Mahir dan Adik Mansur yang selalu mendukung penyelesaian studi ini.
10. Istri Jusriani, kedua mertua Bapak Rahman Semmang dan Ibu Sanatang yang telah memberi support dan doanya untuk sama menyelesaikan tesis ini.
11. Teman-teman program studi magister biologi yang telah berjuang bersama menyelesaikan studi ini.
12. Seluruh pihak yang tidak mungkin saya sebutkan satu persatu yang turut membantu menyelesaikan tesis ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan tesis ini. Untuk itu, saran dan kritik yang membangun untuk sempurnanya tesis ini penulis sangat harapkan. Semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT dan semoga dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi para pembaca pada umumnya. *Aamiin.*
Wassalamualaikum Wr. Wb.

Malang, 12 Desember 2022

Penulis

DAFTAR ISI

SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN TESIS	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
تجريد	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan Penelitian	9
1.4 Manfaat Penelitian	10
1.5 Batasan Penelitian	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	12
2.1 Pencemaran Logam Berat	12
2.1.1 Pengertian Logam Berat dan Cemarannya	12
2.1.2 Jenis-Jenis Pencemaran Logam berat	18
2.2 Bioremediasi Logam Berat oleh Bakteri	24
2.2.1 Pengertian Bioremediasi	24
2.2.2 Mekanisme Bioremediasi oleh Bakteri	29
2.1 Identifikasi Molekuler Bakteri Bioremediasi	32
2.1.1 Pengertian DNA	32
2.1.2 Tinjauan Replikasi DNA	33
2.1.3 Amplifikasi Gen 16S-rRNA	35
2.2 Lokasi Penelitian Kawasan Industri IMIP	47
BAB III METODE PENELITIAN	51
3.1 Jenis Penelitian	51
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	51
3.3 Preparasi Alat Dan Bahan Penelitian	52
3.4 Metode Pengumpulan Data	53
3.5 Tahap Persiapan dan Pengambilan Sampel	54
3.6 Uji Analisis Kadar Logam Berat Cemarannya Pesisir Kawasan Industri	55
3.7 Isolasi dan Seleksi Bakteri Tahan Logam Berat Cr	58
3.8 Karakteristik Morfologi Bakteri Tahan Logam Berat Cr	59
3.9 Identifikasi Molekuler Bakteri Tahan Logam Berat Cr menggunakan marka 16S rRNA	60

3.10 Uji Kemampuan Bakteri Mengakumulasi Logam Berat Cr	62
3.11 Teknik Pengolahan dan Analisis Data.....	63
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	51
4.1 Analisis Cemaran Logam Berat Pesisir Kawasan Industri IMIP	67
4.2 Isolasi dan Seleksi Bakteri Tahan Logam Cr	71
4.3 Identifikasi Morfologi Bakteri Tahan Logam Berat Cr.....	78
4.4 Identifikasi Molekuler Bakteri Tahan Logam Berat Cr Menggunakan Marka 16S rRNA	80
4.5 Kemampuan Bakteri Mengakumulasi Logam Berat Krom (Cr).....	97
4.6 Kajian Penelitian dalam Perspektif Al-Quran	103
BAB V PENUTUP	105
5.1 Kesimpulan.....	105
5.2 Saran.....	106
DAFTAR PUSTAKA	107
LAMPIRAN.....	113
1. Data Analisis Kadar Logam Sampel Sedimen dan Air Pesisir Kawasan Industri IMIP	113
2. Data Pengujian Mikrobiologi.....	123
3. Dokumentasi Analisis Kadar Logam Sampel Sedimen dan Air	126
4. Dokumentasi Pengujian Mikrobiologi Sampel Sedimen dan Air.....	128
5. Dokumentasi Pengerjaan Molekuler 16S rRNA, Sekuensing, Analisis BLAST dan Uji Filogenik	133

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Perilaku logam berat di lingkungan (Adhani & Husaini, 2017)	17
Gambar 2.2 Mekanisme bioremediasi logam berat mikroba dari lokasi yang terkontaminasi.....	32
Gambar 2.3 Peta lokasi penelitian dan hamparan kawasan industri IMIP.....	48
Gambar 4.1 Isolasi bakteri tahan terhadap logam Cr; (a) sedimen S1, (b) sedimen S2, (c) air S1, dan (d) air S2	73
Gambar 4.2 Isolat murni bakteri resisten terhadap Cr; (a) sedimen S1, (b) air S1, (c) sedimen S2, dan (d) air S2	74
Gambar 4.3 Hasil elektroforesis dari produk amplifikasi gen 16S rRNA isolat S1.1 dan S1.2= ± 1200 bp	80
Gambar 4.4 Hasil sekuensing urutan basa nukleotida kedua isolat bakteri terpilih.....	81
Gambar 4.5 Hasil Analisis BLAST Bakteri Isolat S1.1 dan Isolat S1.2.....	83
Gambar 4.6 Perbandingan urutan nukleotida bakteri isolat S1.1 (Query) dengan bakteri <i>Exiguobacterium indicum</i> strain SHHR3-1 (Subject).....	84
Gambar 4.7 Perbandingan urutan nukleotida isolat bakteri S1.2 (Query) dengan bakteri <i>Bacillus thuringiensis</i> strain L2 (Subject)	85
Gambar 4.8 Pohon filogenik kelompok bakteri pengkumulasi logam berat menggunakan metode Neighbor-Joining, Bootstrap from 1000 berdasarkan hasil analisis 16S-rRNA	86
Gambar 4.9 Kurva pertumbuhan bakteri (0, 24, 48, 72 jam).....	98
Gambar 4.10 Aktivitas bakteri mengakumulasi logam Cr (0, 24, 48, dan 72 jam)	99
Gambar 4.11 Persentasi penurunan konsentrasi logam Cr oleh bakteri.....	99

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 3.1 Stasiun lokasi penelitian berdasarkan GPS (Global Positioning System)	51
Tabel 3.2 Komposisi PCR mix.....	61
Tabel 4.1 Konstrasi logam berat pesisir dengan indeks pencemaran berdasarkan (ANZECC & ARMCANZ, 2000; IADC/CEDA, 1997) dan (KMNLH No. 51 Thn, 2004).....	68
Tabel 4.2 Potensi resiko lingkungan (HQ).....	70
Tabel 4.3 Uji Maximum Tolerance Concentration (MTC).....	76

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data Analisis kadar logam sampel sedimen dan air laut kawasan industri di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah.....	113
2. Data Pengujian Mikrobiologi.....	123
3. Dokumentasi Analisis kadar logam sampel air dan sediment.....	126
4. Dokumentasi pengujian mikrobiologi sampel sediment dan air.....	128
5. Dokumentasi Pengerjaan Molekuler 16S rRNA, Sekuensing, Blast dan Uji Filogenik.....	133

DAFTAR SINGKATAN

Simbol/Singkat	Keterangan
IMIP	Indonesia Morowali Industrial Park
RNA	Ribo Nucleic Acid
DNA	Deoxyribo Nukleid Acid
rRNA	ribosomal RNA
rDNA	ribosomal DNA
S	Svedberg
NA	Nutrient Agar
NB	Nutrient Broth
ddH ₂ O	Aquabidestilata
M	Molar
µl	Mikroliter
mL	Mililiter
mg	Miligram
g	Gram
kg	Kilogram
fp	Faktor Pengenceran
°C	derajat Celcius
rpm	Rotation per minute
nm	Nanometer
TBE	Tris-Acetate-EDTA
EDTA	Ethylene Diamine Tetraacetic Acid
A	Absorbansi
EtBr	Ethidium bromide
PCR	Polymerase Chain Reaction
AAS	Atomic Absobtion Spectrophotometer
PLTU	Pembangkit Listrik Tenaga Uap
bp	base pare
MEGA	Molecular Evolutionary Genetics Analysis
pH	power of Hydrogen
NCBI	National Center for Biotechnology Information
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Al-Quran merupakan pedoman hidup yang wajib dipahami oleh seluruh umat Islam karena telah membawa kebenaran ilmiah di muka bumi, maka sebagai ilmuan atau peneliti muslim sepatutnya menjadikan Al-Quran sebagai sumber ilmu pengetahuan. Allah SWT telah mengingatkan kepada manusia tentang kerusakan lingkungan jauh sebelum berkembangnya ilmu lingkungan. Allah SWT berfirman dalam Al-Quran Surah Ar-Rum ayat 41 sebagai berikut:

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

Artinya: *Telah tampak 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)* (RI, Kementerian Agama, 2021).

Berdasarkan ayat tersebut mengenai kerusakan di darat dan di laut yang diakibatkan oleh manusia adalah suatu peringatan bagi manusia. Menurut tafsir Jalalayn bahwa (telah tampak kerusakan di darat) disebabkan terhentinya hujan dan menipisnya tumbuh-tumbuhan (dan di laut) maksudnya di negeri-negeri yang banyak sungainya menjadi kering (disebabkan perbuatan tangan manusia) seperti perbuatan maksiat (supaya Allah merasakan kepada mereka) dapat dibaca *liyudziiqhum* dan *limudziiqahum*; kalau dibaca *linudziiqahum* artinya supaya kami merasakan kepada mereka (sebagian dari akibat perbuatan mereka) sebagai hukumannya (agar mereka bertobat dari perbuatan-perbuatan maksiat. Sedangkan menurut tafsir Quraisy Shibab bahwa telah terlihat kebakaran, kekeringan, kerusakan, kerugian perniagaan dan ketenggelaman yang disebabkan oleh

kejahatan dan dosa-dosa yang diperbuat manusia. Allah menghendaki untuk menghukum manusia di dunia dengan perbuatan-perbuatan mereka, agar mereka bertobat dari kemaksiatan (Jalalain & Shihab, 2022).

Sehubungan dengan ayat tersebut hal ini serupa dengan perbuatan manusia dalam kerusakan lingkungan yaitu aktivitas industri yang dapat menyebabkan pencemaran lingkungan yaitu pencemaran logam berat ke laut. Pencemaran logam berat telah menjadi isu dan menjadi perhatian serius karena pengaruh industrialisasi, antropogenik, dan urbanisasi serta secara geologi. Menurut Zarezadeh *et al.*, (2017) dan Saimu *et al.*, (2015) bahwa sumber utama pencemaran logam berat di lingkungan pesisir adalah aktivitas pertambangan yang menghasilkan limbah batuan dan limbah *tailing*. Distribusi logam berat ke pesisir menurut Akkajit *et al.*, (2018) juga pengaruh oleh proses antropogenik seperti limpasan pertanian, kegiatan transportasi laut, dan limbah industri.

Beberapa penyebab pencemaran laut menurut Hardjaloka (2015) adalah bersumber dari darat yang diakibatkan oleh pengaruh antropogenik seperti limbah pertanian, kegiatan pertambangan, limbah industri, sampah plastik, pestisida, dan aktivitas rumah tangga, yang bukan pelapukan geologis. Menurut Rajeev *et al.*, (2021) dan Zarezadeh *et al.*, (2017) ekosistem pesisir dan laut berpotensi mengalami pencemaran logam berat konsentrasi tinggi karena terjadi kontaminasi pada lingkungan baik di air, tanah dan sedimen.

Menurut Rajeev *et al.*, (2021) logam-logam yang berasal dari proses alami dan sumber antropogenik mudah berikatan dengan partikel halus dan bertahan lama di sedimen, akibatnya sedimen dapat bertindak sebagai penyimpan kontaminan logam dan dapat memberikan efek merusak pada organisme hidup. Dalam beberapa

keadaan, sedimen pantai dapat bertindak sebagai sumber potensial logam berat untuk organisme akuatik, memungkinkan kontaminan logam berat masuk ke dalam jaring makanan yang dapat berdampak negatif terhadap kesehatan manusia. Menurut Akkajit *et al.*, (2018) dan Marzan *et al.*, (2017) distribusi logam dari limbah industri dan transportasi dianggap penting dapat menimbulkan dampak buruk bagi kesehatan manusia. Elizabeth *et al.*, (2017) menambahkan, bahwa dampak logam berat tidak hanya merusak spesies individu dan populasi tetapi juga komunitas biologis alami dan menyebabkan kematian lebih dari 14.000 orang setiap hari.

Pencemaran logam berat pada lingkungan memiliki efek merusak ekosistem perairan, bersifat beracun, sulit didegradasi dan memiliki dampak toksisitas, mutagenik serta karsinogenik pada manusia dan organisme lainnya. Logam berat menurut Hutagalung (1984) yaitu unsur kimia dengan memiliki berat jenis melebihi 5 g/cm^3 . Di alam, unsur-unsur ini terdapat dalam konsentrasi yang sangat rendah. Kandungan logam berat dalam air laut biasanya antara 10^{-5} sampai 10^{-2} ppm.

Menurut Hryniewicz dan Baum, (2014) bahwa logam berat dikategorikan sebagai esensial dan non esensial, beberapa logam sangat dibutuhkan oleh kehidupan organisme (Ca, Co, Cr, Fe, Cu, Mg, Mn), dan logam lainnya (Hg, Al, Cd, Pb, Au) tidak memiliki peran biologi, namun berpotensi akan berbahaya atau beracun jika konsentrasi terlalu tinggi. Miller (1995) berdasarkan toksisitasnya, logam berat digolongkan ke dalam tiga golongan, (1) Hg, Cd, Pb, As, Cu dan Zn yang mempunyai sifat toksik yang tinggi, (2) Cr, Ni dan Co yang mempunyai sifat toksik menengah, dan (3) Mn dan Fe yang mempunyai sifat toksik rendah.

Industri pertambangan yang berkembang saat ini yang ada di Indonesia tepatnya di Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah menunjukkan kondisi pesisir telah tercemar logam berat.

Penelitian yang pernah dilakukan oleh Rastina *et al.*, (2020) menunjukkan bahwa aktivitas pertambangan nikel di sepanjang pesisir perairan Morowali yang berkembang cukup pesat. Air dari lokasi tambang dialirkan menuju sungai dan bermuara di laut, sehingga berpotensi menyumbang logam berat yang selanjutnya akan terakumulasi dalam sedimen. Hasilnya adalah semua titik terdeteksi logam berat logam Ni, Cu, dan logam Cd tidak terdeteksi dengan konsentrasi total logam berat logam Ni berkisar 192.01 – 202.09 mg/kg, logam Cu berkisar 3.72 – 8.07 mg/kg, dan logam Cd tidak terdeteksi di semua stasiun pengamatan. Sedangkan hasil analisis pencemaran logam berat menggunakan indeks geoakumulasi (I_{geo}) menunjukkan sedimen perairan Morowali sudah masuk kategori tercemar logam berat nikel.

Saimu *et al.*, (2015) mengemukakan bahwa aktivitas pertambangan nikel di daerah perairan pantai Kecamatan Bungku pesisir Kabupten Morowali, Sulawesi tengah terdapat 7 perusahaan pertambangan nikel menunjukkan konsentrasi logam berat yang terdapat di air yaitu Pb di bawah ambang batas dengan kategori aman,. Konsentrasi logam berat Cd, Cu, Zn dan Ni rata-rata telah melampaui ambang batas dengan kategori tidak aman untuk biota perairan pantai,. sedangkan logam berat yang terdapat pada sedimen yaitu Pb, Cd, Cu, Zn dan Ni konsentrasinya sangat tinggi dari ambang batas dengan kategori tidak aman bagi biota perairan.

Penelitian ini difokuskan di lokasi pesisir kawasan industri yang terletak di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi

Tengah yaitu kawasan industri PT. Indonesia Morowali Industrial Park (IMIP). IMIP merupakan kawasan industri smelter terbesar di dunia yang berbasis pengolahan Nikel dengan memiliki produk utama berupa nikel, stainless steel dan carbon steel. Kawasan IMIP merupakan naungan beberapa perusahaan kurang lebih 20 perusahaan yang salah satu terdapat pengolahan feronikel dan ferokrom. Laju perkembangan PT. IMIP selain berdampak positif terhadap perekonomian nasional, juga terdapat dampak negatif terhadap lingkungan perairan sebagai konsekuensi meningkatnya produktivitas industri sehingga pencemaran logam berat dapat mengakibatkan kerusakan ekosistem laut dan badan air yang merupakan sumber air bersih bagi masyarakat sekitar.

Berdasarkan uji pendahuluan pada lokasi penelitian bahwa hasil analisis cemaran logam berat pada pesisir kawasan industri IMIP menunjukkan telah tercemar logam berat berdasarkan standar baku mutu ANZECC & ARMCANZ, (2000) dan IADC/CEDA, (1997) dan KMNLH No. 51 Thn, (2004) dengan nilai konsentrasi tercemar tertinggi pada dua stasiun (S) sampel sedimen yaitu Cr (S1= 2150,44 mg/kg dan S2= 250,46 mg/kg) diikuti logam berat Ni (S1= 407,31 mg/kg dan S2= 407,31 mg/kg) dan Zn (S1= 48,36 mg/kg dan S2= 142,63 mg/kg), sedangkan logam berat Cu dan Pb masih di bawah ambang batas. Sampel Air telah tercemar logam berat tertinggi Cr (S2= 0.13 mg/L) dan Ni (S1 dan S2 = 0.11 mg/L), sedangkan logam Zn, Cu, dan Pb tidak terdeteksi. Berdasarkan analisis resiko lingkungan pada sampel sedimen dan air yang menunjukkan kondisi berisiko tinggi bahaya logam Cr dan Ni, sedangkan logam lainnya Zn, Cu, dan Pb berisiko sedang dan rendah.

Indonesia terus melakukan pengembangan dalam mengatasi pencemaran lingkungan sesuai dengan peraturan pemerintah (Permen LH No 9/2006 dan No 1/2010) maka perlu untuk dilakukan pengolahan atau pencegahan polutan untuk mengurangi jumlah konsentrasi dan mengatasi pencemaran logam berat tertinggi seperti pencemaran logam berat yang berada di pesisir kawasan Industri di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah telah tercemar tertinggi logam berat krom (Cr). Salah satu cara untuk mengatasi pencemaran logam berat Cr adalah teknik bioremediasi dengan memanfaatkan makhluk hidup seperti bakteri.

Bakteri memiliki peran sebagai pengurai (dekomposer) pada lingkungan. Menurut Rajeev *et al.*, (2021) peran bakteri secara ekologis sebagai dekomposisi bahan organik, daur ulang nutrisi, dan degradasi baik di sedimen pesisir sehingga bakteri dapat dijadikan sebagai agen bioremediasi.

Bioremediasi menurut Nokman *et al.*, (2019) penggunaan mikroba atau bakteri untuk menghilangkan atau mendetoksifikasi logam berat terutama dari tanah, air dan sedimen. Menurut Andrea *et al.*, (2017) mengemukakan bioremediasi adalah penggunaan organisme yang hidup, utamanya mikroorganisme untuk menguraikan pencemar di lingkungan menjadi bentuk pencemar yang kurang berbahaya atau tidak berbahaya, hal ini merupakan teknik degradasi secara biologi.

Menurut Andrea *et al.*, (2017) strain bakteri tertentu mampu mengikat logam berat atau mengubahnya menjadi bentuk yang kurang beracun. Menurut De Fretes *et al.*, (2019) mengemukakan bahwa logam berat yang masuk ke dalam sel organisme termasuk organisme perairan, mengakibatkan terjadinya metabolisme untuk mendapatkan energi dengan melalui penyerapan dan akumulasi endapan

ekstraseluler, mineralisasi dan oksidasi atau reduksi enzimatis menjadi bentuk tidak beracun, serta penghilangan logam berat dari sel.

Menurut Waluyo, (2018) dan Nokman *et al.*, (2019) teknik penggunaan bakteri mempunyai keunggulan yaitu kecepatan degradasi dan biotransformasi dapat ditingkatkan, lebih mudah, relatif murah, dan aman dalam lingkungan. Teknik isolasi dan karakterisasi adalah cara untuk mendapatkan jenis bakteri yang dibutuhkan sebagai target agen bioremediasi. Menurut Jufri, (2020) teknik isolasi mikroba merupakan upaya untuk menumbuhkan mikroorganisme di luar lingkungan alaminya dengan tujuan untuk mendapatkan kultur bakteri yang tidak bercampur dengan bakteri lain yang disebut kultur murni.

Prinsip isolasi mikroba adalah memisahkan satu jenis mikroba dengan mikroba lain yang berasal dari campuran berbagai mikroba. Menurut Rajeev *et al.*, (2021) dan Meenambigai *et al.*, (2016) bahwa karakteristik mikroba bertujuan untuk mengetahui morfologi, fisiologi, biokimia dan secara molekuler untuk mengetahui struktur dan dinamika dengan mengeksplorasi respons komunitas atau keanekaragaman bakteri yang beratnya tahan logam dan kapasitas biodegradasi melalui sequencing 16S rRNA sehingga didapatkan bakteri target.

Beberapa penelitian telah memanfaatkan bakteri sebagai agen bioremediasi dalam pencemaran logam berat di lingkungan yaitu *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* dan *Proteobacteria* (Karellova *et al.*, 2011)., *Bacillus oceanisediminis* PGD1A, *Vibrio alginolyticus* PGD5A, dan *Halobacillus kuroshimensis* PGD9B (De Fretes *et al.*, 2019)., *Bacillus weihenstephanensis* strain IA1 dan *Exiguobacterium aestuarii* strain CE (Gupta *et al.*, 2012)., *Bacillus* sp. (Yuliani *et al.*, 2019), *Enterococci* and *Bacillus acidiproducens* (Andrea *et al.*, 2017).

Penelitian terkait eksplorasi mikroba potensial dari area industri pertambangan di Morowali, Sulawesi Tengah, masih belum ditemukan. Oleh karena itu, penelitian ini mengkaji tentang bakteri pengakumulasi logam berat sekitar kawasan pesisir laut PT. IMIP sebagai upaya menemukan agen bioremediasi yang potensial, di samping juga menganalisis kadar logam berat kromium (Cr), nikel (Ni), zink (Zn), tembaga (Cu), dan timbal (Pb).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka penelitian yang berjudul isolasi dan identifikasi bakteri pengakumulasi logam berat sebagai bioremediasi pesisir kawasan industri di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah ini penting dilakukan

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Jenis logam berat apa saja yang terindikasi mencemari pesisir kawasan industri di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah?
2. Bagaimana hasil isolasi dan seleksi bakteri yang potensial tahan logam Cr dari pesisir kawasan industri di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah?
3. Bagaimana karakter morfologi bakteri yang berpotensi tahan logam berat Cr dari pesisir kawasan industri di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah?

4. Bagaimana hasil identifikasi molekuler dengan menggunakan marka 16S rRNA pada bakteri tahan logam berat Cr dari pesisir kawasan industri di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah?
5. Bagaimana kemampuan bakteri mengakumulasi logam berat Cr sebagai kandidat agen bioremediasi?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang ada maka tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui logam berat apa saja yang terindikasi mencemari pesisir kawasan industri di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah.
2. Untuk mengisolasi dan menyeleksi bakteri yang berpotensi tahan logam Cr dari pesisir kawasan industri di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah
3. Untuk mengetahui karakter morfologi bakteri yang berpotensi mengakumulasi logam berat Cr dari pesisir kawasan industri di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah.
4. Untuk mengidentifikasi secara molekuler menggunakan marka 16S rRNA pada bakteri tahan logam berat Cr dari pesisir kawasan industri di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah.
5. Untuk mengetahui kemampuan bakteri mengakumulasi logam berat Cr sebagai kandidat agen bioremediasi.

1.4 Manfaat Penelitian

Kegunaan dalam melakukan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Diperolehnya informasi ilmiah tentang bakteri pengakumulasi logam berat Cr yang potensial sebagai bioremediasi di pesisir kawasan industri di Fatufia, Kec. Bahodopi, Kab. Morowali, Sulawesi Tengah
2. Menambah pengetahuan dibidang biologi lingkungan, Teknik lingkungan, kesehatan lingkungan dalam mengatasi pencemaran logam berat dengan menggunakan bakteri pengakumulasi logam berat dari pesisir kawasan industri di Fatufia, Kec. Bahodopi, Kab. Morowali, Sulawesi Tengah.
3. Hasil penelitian ini dapat menjadi bahan acuan dan memberikan kontribusi bagi masyarakat utamanya pemerintah Kabupaten Morowali untuk terus melakukan konservasi dan menjaga lingkungan dengan mengurangi cemaran logam menggunakan bakteri bioremediasi.
4. Dapat membantu mewujudkan visi misi perusahaan yang di kawasan industri IMIP dan pemerintah Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah.
5. Dapat dijadikan sebagai bahan perbandingan atau referensi para ilmuan dan peneliti melalui publikasi

1.5 Batasan Penelitian

Batasan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Sampel sedimen dan air laut diambil dua stasiun pesisir kawasan industri PT. IMIP terletak di desa Fatufia, kecamatan Bahodopi, kabupaten Morowali, provinsi Sulawesi Tengah-Indonesia.

2. Pengukuran kadar logam berat sampel yaitu jenis logam Ni, Zn, Cu, Cr, dan Pb sebagai uji pendahuluan untuk mengetahui konsentrasi sampel yang tercemar tinggi, melalui pengujian *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS) dengan membandingkan standar baku mutu.
3. Isolasi dan seleksi bakteri menggunakan teknik *streak plate* dan media *nutrient agar* (NA)+logam Cr untuk mendapatkan kultur murni bakteri pengakumulasi logam berat Cr.
4. Karakter bakteri pengakumulasi logam berat Cr meliputi (1) morfologi (bentuk koloni, warna koloni, elevasi koloni, tepian koloni, permukaan koloni, pewarnaan gram sel, dan bentuk sel), (2) bakteri tahan terhadap logam metode toleransi, meliputi bakteri toleran yakni bakteri tetap dapat tumbuh pada media NA mengandung K_2CrO_4 , sedangkan bakteri tidak toleran yakni bakteri yang tidak/berhenti tumbuh, (3) identifikasi molekuler menggunakan marka 16S rRNA untuk mengetahui secara pasti spesies bakteri tahan logam dengan melihat tingkat keanekaragaman gen bakteri.
5. Bakteri tahan logam yang didapatkan dilakukan uji kemampuan pertumbuhan dalam mengakumulasi dan mendegradasi logam berat pada media cair melalui spektrofotometri UV-Vis dan pengukuran aktivitas metabolisme bakteri terhadap reduksi logam berat melalui alat AAS.
6. Eksperimen penelitian dilakukan di laboratorium fakultas matematika dan ilmu pengetahuan alam (MIPA) dan laboratorium biologi molekuler rumah sakit pendidikan Universitas Hasanuddin (UNHAS) pada bulan Februari sampai September 2022.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pencemaran Logam Berat

2.1.1 Pengertian Logam Berat dan Cemarannya

Al-Quran adalah kitab suci sebagai pedoman hidup yang menjadi rujukan utama dan sumber ilmu pengetahuan yang meliputi ilmu agama dan ilmu sains. Allah SWT menciptakan segala sesuatu yang ada di bumi tidak sia-sia dan menciptakan berbagai macam perumpamaan sebagai petunjuk umat manusia. Manusia diciptakan sebagai khalifah di muka bumi untuk menjaga segala isinya dan peduli terhadap lingkungan supaya mendapat keberkahan dan kesejahteraan. Sebagai ilmuan muslim sudah sepatutnya menjadikan Al-Quran sebagai pedoman ilmiah seperti dalam Surah Ar-Rad ayat 17 sebagai berikut.

أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَسَالَتْ أَوْدِيَةٌ بِقَدَرِهَا فَاحْتَمَلَ السَّيْلُ زَبَدًا رَابِيًا وَمِمَّا يُوقِدُونَ
عَلَيْهِ فِي النَّارِ ابْتِغَاءَ حِلْيَةٍ أَوْ مَتَاعٍ زَبَدٌ مِثْلُهٗ كَذَٰلِكَ يَضْرِبُ اللَّهُ الْحَقَّ وَالْبَاطِلَ
فَأَمَّا الزَّبَدُ فَيَذْهَبُ جُفَاءً وَأَمَّا مَا يَنْفَعُ النَّاسَ فَيَمْكُثُ فِي الْأَرْضِ كَذَٰلِكَ يَضْرِبُ
اللَّهُ الْأَمْثَالَ

Artinya: Allah telah menurunkan air (hujan) dari langit, Maka mengalirlah air di lembah-lembah menurut ukurannya, Maka arus itu membawa buih yang mengambang. dan dari apa (logam) yang mereka lebur dalam api untuk membuat perhiasan atau alat-alat, ada (pula) buihnya seperti buih arus itu. Demikianlah Allah membuat perumpamaan (bagi) yang benar dan yang batil. Adapun buih itu, akan hilang sebagai sesuatu yang tak ada harganya; Adapun yang memberi manfaat kepada manusia, Maka ia tetap di bumi. Demikianlah Allah membuat perumpamaan (RI, Kementerian Agama, 2021)

Dalam penafsiran Al-Wajiz/Syaikh Prof. Dr. Wahbah az-Zuhaili, pakar fiqih dan tafsir negeri Suriah bahwa Allah menurunkan hujan dari langit, lalu air mengalir ke lembah-lembah sesuai ukuran dan luas lembah itu, sedikit maupun banyak. Dalam aliran yang deras itu, terkandung buih yang mengapung di atas air.

Sebagian logam yang dipanaskan akan meleleh ketika diletakkan di api, yaitu logam-logam besi, emas, perak dan lain-lain, dengan tujuan sebagai hiasan dan permata, yaitu emas dan perak atau untuk dibuat peralatan, yaitu besi dan tembaga untuk dimanfaatkan sebagai bejana, alat-alat perang, pertanian dan perindustrian ketika dicairkan. Logam itu memiliki buih layaknya buih pada aliran itu. Maknanya bahwa logam itu juga memiliki buih, yaitu kotoran dari logam-logam ini. Seperti yang disebutkan itulah perumpamaan yang hak dan yang batil serta orang yang melakukan keduanya. Adapun busa yang mengapung itu membawa kebatilan yang terbangun melalui buih itu, sedangkan air dan logam yang dimanfaatkan manusia dan pemiliknya itu masih tetap ada di bumi selama beberapa waktu. Dia memberikan 2 perumpamaan untuk meneguhkan kebenaran yaitu keimanan terhadap Al-Quran dan menghilangkan kebatilan, yaitu kekufuran. Dan kebatilan itu layaknya buih-buih di atas air yang menghilang dan menyebar, sedangkan kebenaran itu tetap ada seperti air dan logam murni yang terus ada di bumi, sehingga manusia dapat memanfaatkannya. Di antara dua perumpamaan itu ada yang bersifat pedesaan yaitu air dan tanaman, dan ada yang bersifat perkotaan yaitu produksi logam .

Bumi diciptakan Allah SWT dengan sangat sempurna yang seluruh isinya menyangkut kebutuhan makhluk hidup. Bumi ini terdiri dari unsur biotik maupun abiotik. Unsur biotik meliputi yang ada di alam dan semua makhluk hidup baik hewan, tumbuhan, mikroorganisme, dan manusia. Sedangkan unsur abiotik seluruh unsur yang tidak hidup dalam ekosistem seperti tanah, air, dan tanah, antara lain adalah logam. Pada ayat tersebut mengenai buih arus yang mengambang yaitu logam yang keluar dari bumi seperti emas, perak, tembaga dan logam lainnya.

Logam memiliki keuntungan yang dapat olah dan eksploitasi melalui peleburan dalam panas api untuk kebutuhan dan kelangsungan hidup seperti pembuatan perhiasan dari logam perak dan emas, sedangkan membuat peralatan dari besi dan tembaga dengan demikian dapat mengambil pelajaran suatu kebenaran dan kebesaran Allah SWT.

Logam adalah zat dengan konduktivitas tinggi listrik, kelenturan, dan kilau yang membentuk kation. Logam digolongkan ke dalam 2 kategori yaitu logam berat dan logam ringan. Logam berat adalah logam yang mempunyai berat 5 g atau lebih untuk setiap cm^3 , dengan sendirinya logam yang kurang dari 5 g setiap cm^3 termasuk ringan (Adhani & Husaini, 2017).

Logam berat merupakan unsur-unsur kimia dengan bobot jenis lebih besar dari 5 gr/cm^3 , tempatnya di sudut kanan bawah sistem periodik, mempunyai afinitas yang tinggi 45 terhadap unsur S dan biasanya bernomor atom 22 sampai 92 dari perioda 4 sampai. Logam berat ini dapat dibagi dalam dua jenis. Jenis pertama adalah logam berat esensial yang keberadaannya dalam jumlah tertentu sangat dibutuhkan oleh organisme hidup, namun dalam jumlah yang berlebihan dapat menimbulkan efek racun. Contoh logam berat ini adalah Zn, Cu, Fe, Co, Mn dan lain sebagainya. Jenis kedua adalah logam berat tidak esensial atau beracun, dimana keberadaannya dalam tubuh masih belum diketahui manfaatnya atau bahkan dapat bersifat racun, seperti Hg, Cd, Pb, Cr dan lain-lain (Nurhamiddin & Ibrahim, 2018).

Logam berat termasuk unsur penting yang diperlukan makhluk hidup. Dalam kadar yang tidak berlebihan, sebagai *trace element*, logam berat esensial seperti tembaga (Cu), selenium (Se), Besi (Fe) dan Zink (Zn) dibutuhkan untuk menjaga metabolisme tubuh manusia. Sebaliknya logam berat yang non esensial

(elemen mikro) tidak mempunyai fungsi di dalam tubuh manusia, dan bahkan sangat berbahaya hingga dapat menyebabkan keracunan (toksik) pada manusia meliputi: timbal (Pb), merkuri (Hg), arsenik (As) dan cadmium (Cd) Adhani & Husaini, (2017).

Logam berat merupakan komponen alami yang terdapat di kulit bumi yang tidak dapat didegradasi ataupun dihancurkan dan merupakan zat yang berbahaya karena dapat terjadi bioakumulasi. Bioakumulasi adalah peningkatan konsentrasi zat kimia dalam tubuh makhluk hidup dalam waktu yang cukup lama, dibandingkan dengan konsentrasi zat kimia yang terdapat di alam. Semua logam berat dapat menjadi racun yang meracuni tubuh makhluk hidup. Misalnya logam merkuri (Hg), kadmium (Cd), timah (Pb), dan krom (Cr). Sebagian dari logam-logam berat tersebut tetap dibutuhkan oleh makhluk hidup dalam kadar yang sangat sedikit. Logam yang diperlukan tersebut dinamakan logam atau mineral esensial tubuh. Beberapa nama logam-logam berat esensial adalah tembaga (Cu), seng (Zn), dan nikel (Ni). Berbagai sumber logam berat termasuk erosi tanah, pelapukan alami kerak bumi, pertambangan, limbah industri, limpasan perkotaan, pembuangan limbah, agen pengendalian serangga atau penyakit diterapkan untuk tanaman, dan banyak lainnya (Adhani & Husaini, 2017).

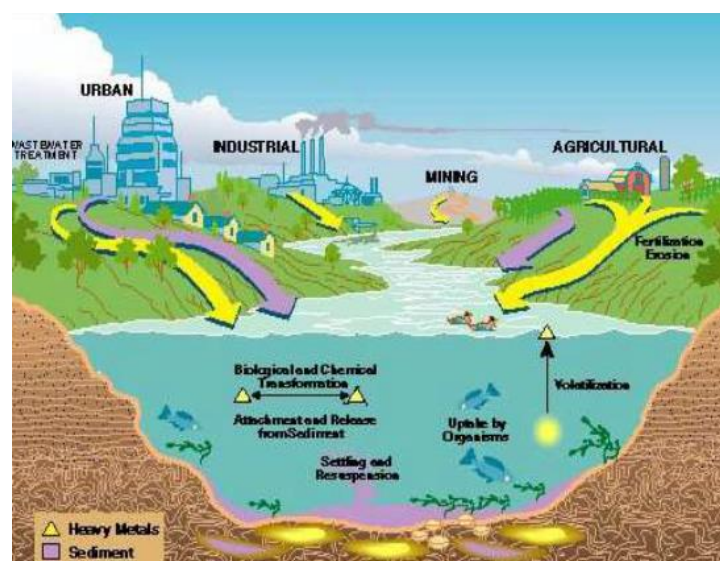
Logam berat yang terjadi secara alami hadir dalam bentuk yang tidak tersedia untuk diserap oleh tanaman. Mereka biasanya hadir dalam bentuk yang tidak larut, seperti dalam struktur mineral, atau dalam bentuk yang diendapkan atau kompleks yang tidak tersedia untuk serapan tanaman. Logam berat yang terjadi secara alami memiliki kapasitas adsorpsi yang besar di dalam tanah dan karenanya tidak tersedia untuk organisme hidup. Energi ikat antara logam berat alami dan

tanah sangat tinggi dibandingkan dengan sumber antropogenik. Contoh proses alam yang menyebabkan terjadinya logam berat di lingkungan adalah komet, erosi, letusan gunung berapi, dan pelapukan mineral. Logam berat dari sumber antropogenik biasanya memiliki bioavailabilitas yang tinggi karena bentuk reaktifnya yang mudah larut dan bergerak. Sumber antropogenik ini termasuk produksi paduan, deposisi atmosfer, produksi baterai, biosolid, pelapisan, pembuatan bahan peledak, penumpukan limbah padat industri yang tidak tepat, penyamakan kulit, pertambangan, pestisida, pupuk fosfat, bahan fotografi, pigmen pencetakan, irigasi limbah, peleburan, baja dan industri elektroplating, tekstil, dan pewarna dan pengawetan kayu (Ayangbenro & Babalola, 2017).

Logam berat adalah salah satu lingkungan yang paling umum polutan, dan keberadaannya di perairan dan biota menunjukkan adanya sumber alami atau antropogenik. Akumulasi dan distribusinya di tanah, air dan lingkungan meningkat pada tingkat yang mengkhawatirkan menyebabkan pengendapan dan sedimentasi di reservoir air dan mempengaruhi organisme akuatik (Singare *et al*, 2012). Urbanisasi yang cepat dan aktivitas industri telah memperkenalkan banyak polutan, termasuk logam berat, ke lingkungan laut di seluruh dunia. Kontaminasi logam berat di ekosistem laut yang dihasilkan dari input alami dan antropogenik menimbulkan ancaman serius karena perilaku kumulatif dan toksisitasnya. Logam berat masuk ke dalam sedimen, terutama melalui proses geogenik dan antropogenik (Islam *et al*, 2020).

Menurut Sutamihardja (2006) dalam (Adhani & Husaini, 2017) bahwa Sumber buatan berupa logam-logam berat yang dibebaskan oleh proses industri atau kegiatan pertambangan. Beberapa jenis logam yang termasuk kategori logam

berat sebagai berikut: Aluminium (Al), Antimony (Sb), Cadmium (Cd), kromium (Cr), Cobalt (Co), Merkuri (Hg), Cufrum (Cu), Ferrum (Fe), Mangan (Mn), Molybdenum (Mo), Salenium (Se), Silver (Ag), Tin (Sn), Plumbum (Pb), Vanadium (V) dan Zinc (Zn). Logam berat seperti; Merkuri (Hg), Cadmium (Cd), Plumbum (Pb), Chromium (Cr), Cufrum (Cu), Cobalt (Co) sangat berbahaya bila kadar yang terlarut dalam tubuh manusia cukup tinggi atau melebihi ambang batas baku. Logam-logam berat tersebut bersifat sangat toksik yang dapat masuk ke dalam tubuh manusia melalui beberapa cara yaitu makanan, pernafasan dan penetrasi kulit. Adapun sifat logam berat yang dapat membahayakan lingkungan dan manusia adalah logam berat sulit didegradasi, sehingga cenderung akan terakumulasi pada lingkungan. Logam berat dapat terakumulasi dalam tubuh organisme dan konsentrasi dapat semakin tinggi, atau dapat mengalami bioakumulasi dan biomagnifikasi. Logam berat mudah terakumulasi pada sedimen, sehingga konsentrasi selalu lebih tinggi daripada konsentrasi logam dalam air. Perilaku logam berat di lingkungan, dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.1 Perilaku logam berat di lingkungan (Adhani & Husaini, 2017)

Pencemaran logam berat saat ini merupakan masalah lingkungan yang utama karena ion logam bertahan di lingkungan karena sifatnya yang tidak dapat terurai. Kecenderungan toksisitas dan bioakumulasi logam berat di lingkungan merupakan ancaman serius bagi kesehatan organisme hidup. Tidak seperti kontaminan organik, logam berat tidak dapat dipecah oleh proses kimia atau biologis. Oleh karena itu, mereka hanya dapat diubah menjadi spesies yang kurang beracun. Pencemaran lingkungan dengan logam berat telah meningkat melampaui batas yang direkomendasikan dan merugikan semua bentuk kehidupan. Konsentrasi maksimum yang diizinkan dari beberapa logam berat dalam air, sebagaimana dinyatakan oleh (CERCLA), AS, adalah 0,01, 0,05, 0,01, 0,015, 0,002, dan 0,05 mg/L untuk Ar, Cd, Cr, Pb, Hg, dan Ag masing-masing. Standar untuk tanah, seperti yang ditetapkan oleh standar India untuk logam berat, adalah 3–6, 135–270, 75–150, 250–500, dan 300–600 mg/kg untuk Cd, Cu, Ni, Pb, dan Zn masing-masing.

2.1.2 Jenis-Jenis Pencemaran Logam berat

Adapun jenis-jenis Logam berat yaitu sebagai berikut:

1. Krom (Cr)

Krom hadir dalam batuan, tanah, hewan dan tumbuhan. Senyawa krom sangat banyak terdapat dalam sedimen air. Krom dapat terjadi di banyak negara yang berbeda seperti divalen, empat valent, lima valent dan negara heksavalent. Cr (VI) dan Cr (III) adalah bentuk paling stabil dan paparannya ke manusia lebih tinggi. Senyawa chromium (VI), seperti kalsium kromat, kromat seng, strontium kromat dan kromat memimpin, sangat beracun dan karsinogenik di alam. Kromium (III), di sisi lain, adalah suplemen gizi yang penting bagi hewan dan manusia dan memiliki peran penting dalam metabolisme glukosa. Penyerapan senyawa

chromium heksavalen melalui saluran udara dan saluran pencernaan lebih cepat daripada senyawa chromium trivalen. Sumber pekerjaan kromium termasuk pelapis logam pelindung, paduan logam, pita magnetik pigmen cat, karet, semen, kertas, pengawet kayu, penyamakan kulit dan logam plating. Pencemaran kromium berasal dari buangan industri-industri pelapisan krom, pabrik tekstil, pabrik cat, penyamakan kulit, pabrik tinta dan pengilangan minyak. Hal tersebut berasal dari natrium kromat dan natrium dikromat yang merupakan spesies krom (VI) bersifat toksik sebagai bahan pokok untuk memproduksi bahan kimia krom, seperti bahan pewarna krom, garam-garam krom yang dipergunakan penyamakan kulit, pengawetan kayu, bahan anti korosif pada peralatan otomotif, ketel dan pengeboran minyak. Keterangan ini menunjukkan perlu adanya upaya mengurangi sifat toksisitas krom (VI) tersebut dengan cara mengadsorpsi atau mendegradasinya. Beberapa literatur hasil penelitian menunjukkan bahwa sifat toksik logam berat krom (VI) jauh lebih toksik dibandingkan krom (III). Dalam SK Menteri Negara LH yang bernomor Kep 03/MENKLH/11/1991 disebutkan bahwa kadar maksimum krom total yang diperbolehkan dalam perairan adalah 0,1 ppm sedang kadar krom (VI) 0,05 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa dalam jumlah yang lebih sedikit keberadaan krom (VI) telah dapat menyebabkan masalah bagi lingkungan (Adhani & Husaini, 2017).

2. Nikel (Ni)

Nikel adalah unsur kimia metalik yang termasuk kelompok VIII B dari tabel periodik. Nikel memiliki kepadatan spesifik 8,90 g/cm³, titik leleh 1555 °C, dan titik didih 2837 °C. Nikel mempunyai sifat tahan karat. Dalam keadaan murni, nikel bersifat lembek, tetapi jika dipadukan dengan besi, krom, dan logam lainnya, dapat

membentuk baja tahan karat yang keras. Bentuk umum adalah ion nikel (II). Nikel karbonat, sulfida nikel, dan nikel oksida tidak larut dalam air, sedangkan nikel klorida dan nikel nitrat yang larut dalam air. Dalam sistem biologi, nikel terlarut dapat membentuk komponen yang kompleks dengan berbagai ligan dan berikatan dengan bahan organik (Lidya, 2012).

Sebagian besar dari nikel yang digunakan untuk produksi *stainless steel* dan paduan nikel lainnya dengan korosi tinggi dan tahan suhu. Nikel paduan dan plating nikel digunakan di kendaraan, mesin pengolahan, persenjataan, peralatan, peralatan listrik, peralatan rumah tangga, dan mata uang. Senyawa nikel juga digunakan sebagai katalis, pigmen, dan dalam baterai. Pada proses masuknya dalam tubuh Nikel dapat diserap pada manusia dan hewan melalui jalur inhalasi dan Ingesti. Penyerapan melalui inhalasi dan penyerapan nikel melalui pencernaan adalah rute utama masuk selama pemaparan dalam pekerjaan. Nikel juga dapat masuk melalui kulit. Paparan nikel melalui kulit akan mengakibatkan hipersensitivitas. Nikel diangkut dalam darah, terutama terikat albumin. Akumulasi nikel tertinggi terjadi pada ginjal, kelenjar endokrin, paru-paru, dan hati: konsentrasi tinggi juga ditemukan pada otak setelah pemberian karbonil nikel. Semua cairan tubuh termasuk air kencing, empedu, keringat, air mata dan susu adalah rute potensial untuk melakukan ekskresi. Secara umum, nikel yang diserap melalui saluran pencernaan, akan dikeluarkan melalui feses. Pada manusia dan hewan, ekskresi nikel melalui urine biasanya lebih besar (Environmental Health Criteria 108, 1991). Gejala termasuk mual, muntah, kelemahan, sakit kepala, batuk, sesak napas, kelelahan, dan Terpapar dalam jangka waktu yang lama dan berulang dapat menyebabkan gangguan dermatitis, pneumonia. Dapat terjadi disfungsi

ginjal, sementara bersifat nefrotoksisitas ringan. Terjadi iritasi hipersensitivitas apabila kontak dengan kulit dan mata (Lidya, 2012; Tarekegn *et al.*, 2020).

3. Timbal (Pb)

Timbal tersebar di alam dalam jumlah yang sangat sedikit. Penyebaran logam ini di seluruh lapisan bumi hanya sekitar 0,0002% dari kerak bumi. Timbal dapat berbentuk logam murni maupun senyawa inorganik dan organik. Dalam bentuk apapun logam ini memiliki dampak toksisitas yang sama bagi makhluk hidup. Timbal sifatnya lunak dan berwarna coklat kehitaman, serta mudah dimurnikan dari pertambangan. Senyawa ini banyak ditemukan dalam pertambangan seluruh dunia. Logam ini bertitik lebur rendah, mudah dibentuk, mempunyai sifat kimia yang aktif, sehingga dapat digunakan untuk melapisi logam untuk mencegah korosif. Bila dicampur dengan logam lain, membentuk logam campuran yang lebih bagus daripada logam murninya, mempunyai kepadatan melebihi logam lain. Kegiatan manusia seperti pertambangan, manufaktur dan pembakaran bahan bakar fosil telah mengakibatkan akumulasi timbal dan senyawanya di lingkungan, termasuk udara, air dan tanah. Timbal digunakan untuk produksi baterai, kosmetik, produk logam seperti amunisi, solder dan pipa, dan lainnya. Sumber utama paparan timbal adalah cat memimpin berbasis, bensin, kosmetik, mainan, debu rumah tangga, tanah yang terkontaminasi, emisi industri. Keracunan timbal yang disebabkan oleh pekerjaan dapat terjadi dalam industri baterai, cat, percetakan, pembuatan tembikar, dan proses peleburan timbal (Adhani & Husaini, 2017).

Menurut (Palar, 1973) berdasarkan sifat toksik dari Pb memberikan efek klinis, seperti: (1) Pada saluran cerna terjadi kolik usus disertai konstipasi berat

pada sistem hematopoitik menghambat aktivitas enzim α -aminolevulenat dehidratase (ALAD) dalam eritroblas sumsum tulang dan eritrosit, sehingga memperpendek umur sel darah merah, (2) Efek pada sistem syaraf (organ yang paling sensitif), keracunan Pb dapat mengakibatkan epilepsi, halusinasi, delirium, dan kerusakan otak besar, (3) Pada ginjal dan urinaria terjadinya kerusakan ginjal oleh adanya gagal ginjal, (4) Pada sistem reproduksi terjadi penurunan kemampuan reproduksi (5) Pada jantung pada anak-anak ditemukan abnormal fungsi jantung, dan (6) Pada sistem endokrin mengakibatkan kekurangan iodium.

4. Tembaga (Cu)

Tembaga merupakan salah satu unsur logam transisi yang berwarna coklat kemerahan dan merupakan konduktor panas dan listrik yang sangat baik (Sunardi, 2006). Logam berat Cu merupakan salah satu logam berat yang termasuk bahan beracun dan berbahaya. Namun merupakan logam yang banyak dimanfaatkan dalam industri, terutama dalam industri elektroplating, tekstil dan industri logam (alloy). Ion Cu (II) dapat pula terakumulasi di otak, jaringan kulit, hati, pankreas, dan miokardium. Keberadaan unsur tembaga di alam ditemukan dalam bentuk logam bebas, akan tetapi lebih banyak ditemukan dalam bentuk persenyawaan. Cu yang termasuk dalam kelompok logam esensial karena dalam kadar yang rendah dibutuhkan oleh organisme sebagai kofaktor enzim dalam proses metabolisme tubuh, sedangkan dalam kadar yang tinggi bersifat beracun (Fitriyah dkk., 2013) dalam (Adji Permatasari H, 2017; Tarekegn *et al.*, 2020).

Menurut Palar (2004), kadar normal Cu dalam air laut berkisar antara 0,002–0,005 ppm dan 0,002 ppm. Nilai Ambang Batas (NAB) Cu untuk kepentingan biota laut adalah 0,008 ppm. Pada konsentrasi 0,01 ppm fitoplankton

akan mati karena Cu menghambat aktivitas enzim dalam pembelahan sel fitoplankton. Konsentrasi Cu dalam kisaran 2,5-3,0 ppm dalam perairan akan membunuh ikan. Menurut Petrucci (1982), konsentrasi logam Cu yang diperbolehkan pada sedimen yaitu 35-90 ppm (Adji Permatasari H, 2017).

5. Kadmium (Cd)

Kadmium adalah produk sampingan dari produksi seng. Tanah dan batuan, termasuk batu bara dan mineral pupuk, mengandung beberapa jumlah kadmium. Kadmium memiliki banyak aplikasi, misalnya dalam baterai, pigmen, plastik dan coating logam dan secara luas digunakan dalam elektroplating. Kadmium dan senyawanya diklasifikasikan sebagai karsinogen bagi manusia oleh Badan Internasional untuk Penelitian Kanker. Kadmium dilepaskan ke lingkungan melalui kegiatan alam seperti letusan gunung berapi, pelapukan, transportasi sungai dan beberapa aktivitas manusia seperti pertambangan, peleburan, merokok tembakau, pembakaran limbah, dan pembuatan pupuk. Meskipun emisi kadmium telah terasa berkurang di negara-negara yang paling maju, itu adalah sumber tersisa ketakutan bagi para pekerja dan orang-orang tinggal yang di daerah tercemar. Kadmium dapat menyebabkan intoksikasi baik yang akut dan kronis. Kadmium sangat beracun ke ginjal dan terakumulasi dalam sel tubulus proksimal dalam konsentrasi yang lebih tinggi. Kadmium dapat menyebabkan mineralisasi tulang baik melalui kerusakan tulang atau gangguan fungsi ginjal. Studi pada manusia dan hewan telah menunjukkan bahwa osteoporosis (kerusakan tulang) adalah efek penting dari paparan kadmium bersama dengan gangguan dalam metabolisme kalsium, pembentukan batu ginjal dan hiperkalsiuria. Menghirup tingkat yang lebih tinggi kadmium dapat menyebabkan kerusakan parah pada paru-paru. Jika kadmium yang

tertelan dalam jumlah yang lebih tinggi, dapat menyebabkan iritasi lambung dan mengakibatkan muntah dan diare. Pada waktu pemaparan yang sangat lama pada konsentrasi yang lebih rendah, dapat menjadi disimpan di ginjal dan akhirnya menyebabkan penyakit ginjal, tulang rapuh dan kerusakan paru-paru. Kadmium dan senyawanya sangat larut dalam air dibandingkan dengan logam lain. Bioavailabilitas mereka sangat tinggi dan karena itu cenderung bioakumulasi. Paparan jangka panjang untuk kadmium dapat mengakibatkan perubahan morphopathological pada ginjal. Perokok lebih rentan untuk keracunan kadmium dibandingkan non-perokok. Tembakau adalah sumber utama penyerapan kadmium pada perokok seperti tembakau. Non-perokok terkena kadmium melalui makanan dan beberapa jalur lainnya. Namun kadmium penyerapan melalui jalur lain jauh lebih rendah (Adhani & Husaini, 2017).

2.2 Bioremediasi Logam Berat oleh Bakteri

2.2.1 Pengertian Bioremediasi

Allah SWT telah menciptakan makhluk hidup berbagai bentuk, warna, dan ukuran yang bermacam-macam di muka bumi, mulai dari yang terkecil sampai yang terbesar besar, baik yang bisa dilihat kasat mata maupun yang tidak terlihat dengan kasat mata. Hal ini merupakan kekuasaan, kebesaran dan kebenaran dari Allah SWT. Manusia sebagai makhluk yang telah berikan akal sehat oleh Allah SWT untuk berpikir dan merenungi ciptaan-Nya karena segala sesuatu yang diciptakan tidak ada yang sia-sia dan tentunya memiliki hikmah dan manfaat sehingga dapat diambil pelajaran, maka rasa keimanan bertambah kepada Allah SWT. Maha Suci firman-Nya dalam Al-Quran Surah Al-Baqarah ayat 26 sebagai berikut.

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

Artinya: *Sesungguhnya Allah tidak segan membuat perumpamaan seekor nyamuk atau yang lebih kecil dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, mereka tahu bahwa itu kebenaran dari Tuhan. Tetapi mereka yang kafir berkata, “Apa maksud Allah dengan perumpamaan ini?” Dengan (perumpamaan) itu banyak orang yang dibiarkan-Nya sesat, dan dengan itu banyak (pula) orang yang diberi-Nya petunjuk. Tetapi tidak ada yang Dia sesatkan dengan (perumpamaan) itu selain orang-orang fasik, (RI, Kementerian Agama, 2021)*

Allah SWT. memberikan perumpamaan kepada manusia untuk menjelaskan segala hakikat dengan bermacam makhluk hidup dan benda, baik kecil maupun besar. Orang-orang yang tidak beriman menganggap sepele perumpamaan dengan makhluk-makhluk kecil seperti lalat dan laba-laba ini. Allah tidak segan-segan untuk menggambarkan bagi hamba-hamba-Nya segala sesuatu yang di kehendaki-Nya meskipun dengan hal-hal yang sangat kecil. Allah dapat menjadikan nyamuk atau yang lebih rendah dari itu sebagai perumpamaan. Orang-orang yang beriman mengetahui maksud perumpamaan itu dan mengetahui pula bahwa hal itu adalah kebenaran dari Allah. Sedangkan orang-orang yang kafir menerimanya dengan sikap ingkar dengan mengatakan, “Apa yang dikehendaki Allah dengan perumpamaan ini?” Perumpamaan ini menjadi sebab kesesatan orang-orang yang tidak mencari dan menginginkan kebenaran, dan sebaliknya merupakan sebab datangnya petunjuk bagi orang-orang Mukmin yang mencari kebenaran. Maka, tidak akan tersesat kecuali orang-orang membangkang dan keluar dari jalan-Nya (Shibab, 2002).

Pada ayat dan tafsir tersebut bahwa Allah menciptakan seekor nyamuk yang mengisyaratkan bahwa adanya keberadaan makhluk hidup yang kecil yang

dianggap sepele dan tidak berguna. Adapun makhluk hidup yang ukuran lebih kecil dari nyamuk dan tidak bisa dengan kasat mata yaitu mikroorganisme. Menurut Murwani (2015) mikroorganisme adalah makhluk hidup yang berukuran sangat kecil, sehingga tidak dapat dilihat dengan menggunakan mata telanjang. Mikroba dapat ditemukan di tanah dan laut. Adapun mikroba yang dimaksud yaitu bakteri, yakni memiliki peran penting dalam kehidupan di dunia seperti keseimbangan makhluk hidup dan bahan kimiawi lingkungan dapat dijadikan sebagai bioremediasi.

Sejak tahun 1900an, mikroorganisme sudah digunakan orang untuk mengolah air pada saluran air, secara alami, teknologi bioremediasi telah digunakan sejak dahulu. Teknologi bioremediasi dengan menggunakan mikroorganisme telah dilakukan George M. Robinson tahun 1960an dengan membuat eksperimen dengan bejana kotor dan memakai berbagai macam campuran mikroba. Teknologi ini pada saat sekarang telah berkembang pada perawatan limbah buangan yang berbahaya (senyawa-senyawa kimia yang sulit terdegradasi), yang biasanya dihubungkan dengan kegiatan industri. Polutan yang berbahaya tersebut antara lain logam-logam berat, petroleum hidrokarbon, dan senyawa organik terhalogenasi seperti pestisida, dan herbisida. Aplikasi baru-baru ini teknologi bioremediasi menggunakan mikroorganisme untuk mengurangi polutan sedang diujicobakan dengan ilmu pengetahuan dan teknologi yang canggih melalui identifikasi jenis-jenis mikroorganisme yang baru dan bermanfaat dan kemampuan untuk meningkatkan bioremediasi yaitu teknologi genetik. Teknologi genetik molekuler sangat penting untuk mengidentifikasi gen-gen yang mengkode enzim yang terkait dengan proses bioremediasi. (Waluyo, 2018).

Bioremediasi adalah suatu strategi atau proses detoksifikasi polutan yang terdapat dalam lingkungan dengan bantuan mikroorganisme (bakteri, jamur, ragi, dan cyanobacteria) atau proses mikroba untuk menurunkan dan/atau mengubah polutan lingkungan menjadi bentuk yang tidak berbahaya atau kurang beracun. Saat bioremediasi terjadi, enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme memodifikasi polutan beracun dengan mengubah struktur kimia polutan tersebut. Peristiwa ini dinamakan biotransformasi. Proses biotransformasi pada banyak kasus berujung pada biodegradasi, dimana polutan beracun terdegradasi strukturnya menjadi tidak kompleks, dan akhirnya menjadi metabolit yang tidak berbahaya dan tidak beracun (Waluyo, 2018).

Bioremediasi dapat juga dikatakan sebagai proses degradasi biologis dari sampah organik pada kondisi terkontrol menjadi suatu bahan yang tidak berbahaya atau konsentrasinya di bawah batas yang ditentukan oleh Lembaga berwenang. Sedangkan definisi menurut *United States Environmental Protection Agency*, adalah suatu proses alami untuk membersihkan bahan-bahan kimia berbahaya. Ketika mikroba mendegradasi bahan berbahaya tersebut, akan dihasilkan air dan gas tidak berbahaya seperti CO₂ (Waluyo, 2018).

Bioremediasi merupakan pengembangan dari bidang bioteknologi lingkungan dengan memanfaatkan proses biologi dalam mengendalikan pencemaran dan cukup menarik. Secara langsung dapat terjadi secara alamiah di tempat biasa disebut *in situ*. Laju pertumbuhan dan perkembangan degradasi mikroba terhadap logam berat dapat bergantung dari beberapa faktor seperti aktivitas mikroba, nutrisi, derajat keasaman, dan faktor lingkungan. Teknologi bioremediasi ada 2 bentuk yaitu *ex situ* dan *in situ*. *Ex situ* adalah pengelolaan yang

meliputi pemindahan secara fisik bahan-bahan yang terkontaminasi ke suatu lokasi (tanah dan sedimen) untuk penanganan lebih lanjut contohnya penggunaan bioreaktor, pengolahan lahan pengkomposan. Sedangkan *in situ* adalah perlakuan yang langsung diterapkan pada bahan-bahan kontaminasi di lokasi tercemar. Dalam proses ini, mikroorganisme bersentuhan langsung dengan cemaran dan menggunakannya sebagai substrat untuk sumber energinya (Kumar, 2018 dan Waluyo, 2018).

Menurut De Fretes *et al.*, (2019) bioremediasi merupakan proses alami yang memanfaatkan keanekaragaman hayati untuk pembersihan ekosistem yang tercemar logam, minyak mentah, dan polutan lainnya. Mikroorganisme memiliki kemampuan untuk menghasilkan metabolit yang mampu mendegradasi polutan kompleks menjadi senyawa yang sederhana. Hal ini disebabkan karena mikroorganisme telah memiliki resistensi untuk bertahan terhadap racun logam berat yang ada di lingkungannya. Berbagai penelitian telah melaporkan mekanisme yang dikembangkan oleh mikroorganisme dalam mendegradasi logam berat antara lain serapan logam, penyerapan dan akumulasi endapan ekstraseluler, mineralisasi dan oksidasi atau reduksi enzimatis menjadi bentuk tidak beracun, serta penghilangan logam berat dari sel. Menurut (Andrea *et al.*, 2017) strain bakteri tertentu mampu mengikat logam berat atau mengubahnya menjadi bentuk yang kurang beracun.

Adapun beberapa penggunaan mikroorganisme sebagai agen bioremediasi yaitu *Enterococci* and *Bacillus acidiproducens* (Andrea *et al.*, 2017), *Staphylococcus epidermidis*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli* (Elizabeth *et al.*, 2017), *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus*

*thuringiensis*13, *Lysinibacillus*sp, *Bacillus cereus*, *Kocuriarosea*, *Microbacteriumoxydans*, *Serratiamarcescens*, dan *Achrobactrium sp* (Saranya *et al.*, 2019). *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila* dan *Stenotrophomonas*

Tabel 2.1 Bakteri Pengakumulasi Logam (Meenambigai *et al*, 2016)

No.	Logam	Mikroorganisme Pendegradasi	Referensi
1.	Cr	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Sacchromyces cerevisiae</i>	Fathima Benazir <i>et al</i> (2010)
2.	Cd	<i>Alcaligenes sp</i> , <i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Moraxella sp</i>	Springael <i>et al</i> (1993)
3.	Ni	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>P. licheniformis</i>	Holan and Volesky (1994)
4.	Ag	<i>Streptomyces noursei</i>	Muttaschka <i>et al</i> (1993)
5.	Au	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Kuyucak and Volesky (1988) Darnall <i>et al</i> (1988)
6.	Co	<i>Sacchromyces cerevisiae</i>	Brady and Duncan (1993)
7.	Cu	<i>Cardida tropicalis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i>	Muttaschka <i>et al</i> (1994) Beridge (1986)
8.	Fe	<i>Bacillus subtilis</i>	Beridge (1986)
9.	Hg	<i>Penicillum chrysogenum</i>	Nemec <i>et al</i> (1977)
10.	Mn	<i>Bacillus licheniformis</i>	Beridge (1986)
11.	Pb	<i>Penicillum chrysogenum</i>	Niu <i>et al</i> (1993)
12.	U	<i>Sacchromyces cerevisiae</i>	Volesky (1986)
13.	Th	<i>Sacchromyces cerevisiae</i>	Brierley <i>et al</i> (1986)
14	Zn	<i>Rhizopus orrhizus</i> , <i>Penicillum chrysogenum</i> , <i>Penicillum spinulosum</i>	Tobin <i>etl al</i> (1984) Niu <i>et al</i> (1993) Townesley <i>et al</i> (1986)

maltophilia (Saranya *et al.*, 2019), *Burkholderia sp.* J62 (Jiang *et al.*, 2008), *Bacillus sp.* dan *Pseudomonas aeruginosa* (De Lima e Silva *et al.*, 2012), *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas stutzeri* dan *Staphylococcus pasteurii*.

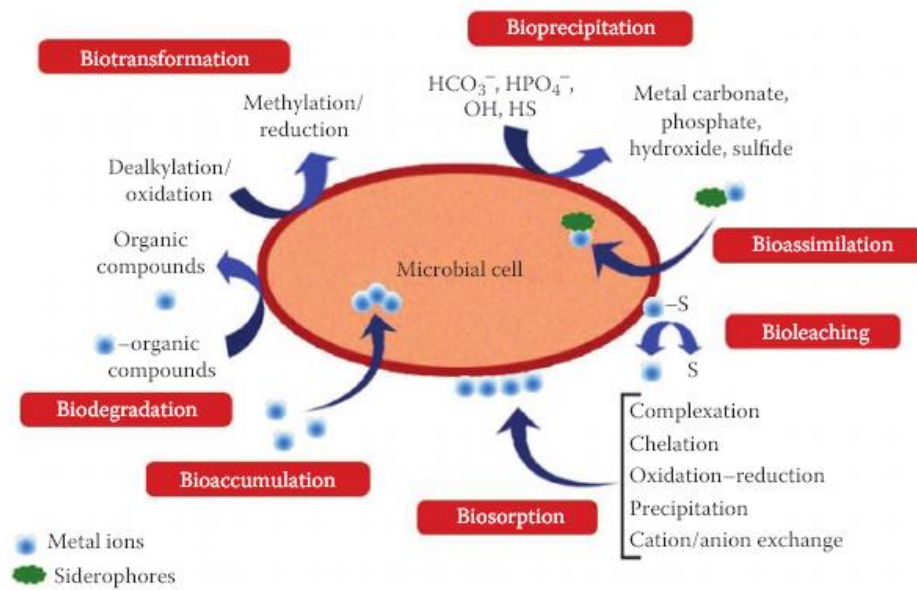
2.2.2 Mekanisme Bioremediasi oleh Bakteri

Bioremediasi terutama menggunakan mikroorganisme (bakteri, jamur, ragi, dan cyanobacteria) atau proses mikroba untuk menurunkan dan/atau mengubah polutan lingkungan menjadi bentuk yang tidak berbahaya atau kurang beracun. Mikroorganisme menggunakan zat berbahaya ini sebagai satu-satunya sumber C (karbon), N (nitrogen), dan (P) fosfor untuk proses degradasi; dengan demikian, zat

ini bertindak sebagai substrat pertumbuhan. Mikroorganisme telah mengembangkan mekanisme detoksifikasi yang berbeda seperti biosorpsi, bioakumulasi, bioleaching, dan biotransformasi untuk kelangsungan hidup mereka di habitat yang terkontaminasi logam berat. Bahan-bahan ini logam kemudian bergerak masuk dan keluar sel melalui difusi dan transpor aktif. Penghapusan ion logam dilakukan melalui mekanisme yang digunakan untuk memperoleh energi dari reaksi logam-redoks untuk menangani logam beracun melalui proses enzimatik dan non enzimatik. Akumulasi logam telah mendapat banyak perhatian selama dua dekade terakhir karena potensi penggunaan mikroorganisme untuk menghilangkan logam berat dari media yang terkontaminasi. Mikroorganisme menggunakan logam berat sebagai penerima elektron terminal atau mereduksinya melalui mekanisme detoksifikasi dari lingkungan yang tercemar (Kumar, 2018).

Logam berat adalah unsur dengan sifat logam (stabilitas sebagai kation, spesifisitas ligan dan konduktivitas). Kontaminan logam berat yang paling umum adalah Pb^{2+} , Cr^{2+}/Cr^{3+} , Cd^{2+} , Ni^{2+}/Ni^{4+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , dan Hg^{2+} (Bishop, 2002). Logam berat tidak dapat diuraikan oleh proses kimia dan biologi; mereka hanya dapat berubah dari satu keadaan oksidasi ke keadaan oksidasi lainnya sehingga mereka menjadi larut dalam air, diendapkan, dan kurang beracun. Oleh karena itu, remediasi lingkungan (yaitu tanah, sedimen, dan air) yang terkontaminasi logam berat dan logam-logam dapat dicapai melalui perubahan keadaan oksidasi yang dikodekan secara biologis. Penggunaan mikroorganisme untuk meremediasi situs yang terkontaminasi logam berat adalah alat yang berkelanjutan untuk mengembalikan keadaan alami dari situs yang tercemar yang hemat biaya. Bioremediasi sebagai metode perawatan menggunakan

mikroorganisme hidup untuk mengubah polutan beracun menjadi bentuk yang tidak berbahaya atau kurang beracun dengan sedikit masukan energi, bahan kimia, dan waktu. Umumnya, mikroba menggunakan logam berat sebagai akseptor elektron terminal dengan mengubah keadaan fisik dan kimianya atau dengan mereduksi logam berat dari lingkungan yang terkontaminasi. Dengan demikian, strategi bioremediasi logam berat tergantung pada kemampuan metabolisme aktif dan toleransi mikroorganisme. Mikroorganisme ada berada bebas di lingkungan yang tercemar logam berat dan dapat dengan mudah mengubah logam berat menjadi bentuk yang tidak beracun melalui biosorpsi, biomineralisasi, bioakumulasi, bioleaching, dan biotransformasi. Mikroorganisme juga memobilisasi logam berat dari lokasi yang tercemar melalui mekanisme chelation, leaching, transformasi redoks, dan metilasi. Sistem pertahanan yang berbeda dalam mikroorganisme seperti kompartementalisasi, pembentukan kompleks, eksklusi, dan sintesis protein pengikat dan peptida mengurangi tekanan logam. Bioremediasi juga dapat melibatkan proses aerobik atau anaerobik. Proses aerobik sering melibatkan pengenalan atom oksigen ke dalam reaksi yang dimediasi oleh monooksigenase, dioksigenase, hidroksilase, dehalogenase oksidatif, atau atom oksigen reaktif secara kimiawi yang dihasilkan oleh ligninase atau peroksidase. Proses anaerobik melibatkan reaksi aktivasi initial yang diikuti oleh katabolisme oksidatif yang dimediasi oleh akseptor elektron anoksik (Kumar, 2018). Mekanisme utama bioremediasi dan detoksifikasi logam berat oleh mikroorganisme diilustrasikan pada gambar 2.2.



Gambar 2.2 Mekanisme bioremediasi logam berat mikroba dari lokasi yang terkontaminasi

2.1 Identifikasi Molekuler Bakteri Bioremediasi

2.1.1 Pengertian DNA

DNA (*Deoxyribonucleic Acid*) merupakan sejenis asam amino nukleat yang tergolong biomolekul utama penyusun berat kering setiap organisme. Di dalam sel, DNA umumnya terletak di dalam inti sel. Secara garis besar, peran DNA di dalam sebuah sel adalah sebagai materi genetik, yaitu DNA menyimpan cetak biru bagi segala aktivitas sel. Ini berlaku umum bagi setiap organisme. DNA merupakan polimer yang terdiri dari tiga komponen utama yaitu gugus fosfat, gula deoxyribosa dan basa nitrogen. Sebuah unit monomer DNA yang terdiri dari ketiga komponen tersebut dinamakan nukleotida, sehingga DNA tergolong sebagai polinukleotida. Rantai DNA memiliki lebar 22-24 Å, sementara panjang satu unit nukleotida 33 Å. Walaupun unit monomer ini sangatlah kecil, DNA dapat memiliki jutaan nukleotida yang terangkai seperti rantai. Struktur untai komplementer DNA menunjukkan pasangan basa (adenin dengan timin dan guanin dengan sitosin) yang membentuk

DNA beruntai ganda. Rangka utama untai DNA terdiri dari gugus fosfat dan gula yang berselang seling. Gula pada DNA adalah gula pentosa (berkarbon lima) yaitu 2-deoksiribosa. Dua gugus gula terhubung dengan fosfat melalui ikatan fosfodiester antara atom karbon ketiga pada cincin satu gula dan atom karbon kelima pada cincin satu gula dan atom karbon kelima pada gula lainnya (Mustami, 2013). DNA berfungsi untuk menyimpan informasi genetik secara lengkap yang diperlukan untuk mencirikan struktur semua protein dan RNA tiap-tiap spesies organisme, untuk membuat program pada saat yang tepat untuk menempatkan biosintesis sel dan komponen jaringan secara teratur dan untuk menentukan kekhususan organisme tertentu (Lehninger, 1994).

2.1.2 Tinjauan Replikasi DNA

Bahan genetik yang ada pada setiap jasad makhluk hidup akan mengalami perbanyakan yang merupakan proses yang sangat penting dalam proses pertumbuhan sel. Proses perbanyakan bahan genetik tersebut dikenal sebagai replikasi DNA. Secara umum replikasi bahan genetik merupakan proses pengkopian rangkaian molekul bahan genetik (DNA atau RNA) sehingga dihasilkan molekul anakan yang sangat identik (Yuwono, 2005).

Model replikasi DNA yang diketahui saat ini adalah model replikasi DNA semikonservatif yang dibuktikan secara eksperimental oleh Mathew Meselson dan Franklin Stahl pada tahun 1958 (Yuwono, 2005). Menurut Bambang, (2008) sebelum itu sekitar tahun 1950an dikenal tiga pola replikasi DNA yaitu sebagai berikut:

- 1) Replikasi terjadi secara konservatif. Menurut pola ini DNA pita ganda baru dibentuk di samping pita ganda DNA lama. Caranya pita ganda DNA lama

memisah, kemudian masing-masing pita membentuk pasangan baru mengurai melepas dari pita lama dan pita lama kembali ke pasangannya sedang pita baru berpasangan dengan pita baru juga. Berdasarkan pola ini berarti akan ada DNA yang semuanya lama dan ada DNA yang semua merupakan hasil sintesis baru dari bahan yang baru pula.

- 2) Replikasi secara semikonservatif. Menurut pola ini pita DNA hasil replikasi akan memiliki satu pita lama dan satu pita baru, lebih mudahnya adalah pita ganda DNA membelah menjadi dua pita dan masing-masing pita tersebut membentuk pita DNA baru sebagai pasangannya. Jadi setiap pita ganda DNA baru akan tersusun dari satu pita DNA lama dan satu pita DNA baru.
- 3) Replikasi secara dispersif. Menurut pola pita DNA akan terpotong-potong, bukan hanya terpisah satu sama lain, kemudian masing-masing potongan akan dilengkapi dengan segmen hasil sintesis baru sehingga terbentuklah pita ganda DNA baru yang merupakan campuran segmen DNA lama dan segmen DNA hasil sintesis baru.

Ketiga pola di atas semuanya menggunakan DNA lama sebagai template atau cetakan untuk mensintesis DNA baru. Dengan menggunakan DNA lama sebagai cetakan untuk mensintesis DNA baru akan sama dengan DNA lama (Bambang, 2008).

Proses replikasi dengan denaturasi yang terjadi pada saat awal replikasi DNA adalah proses enzimatik. Denaturasi awal terjadi pada bagian DNA yang dikenal sebagai ori (*origin of replication*) atau titik awal replikasi. Ikatan hidrogen antara A-T dan C-G akan terputus dan diikuti dengan pembukaan untaian DNA. Untaian DNA membuka membentuk struktur yang disebut garpu replikasi

(*replication fork*). Garpu replikasi akan bergerak sehingga molekul DNA induk akan membuka secara bertahap. Masing-masing untai DNA induk yang sudah terpisah satu sama lain berfungsi sebagai cetakan untuk penempelan nukleotida-nukleotida yang akan menyusun DNA baru. Basa nukleotida A akan dipasangkan dengan T yang ada pada cetakannya, sedangkan basa nukleotida C dipasangkan dengan basa nukleotida G. proses polimerisasi nukleotida terjadi pada kedua untai DNA cetakan sehingga pada akhir satu kali putaran replikasi DNA akan dihasilkan dua molekul DNA yang baru yang identik (Yuwono, 2005).

2.1.3 Amplifikasi Gen 16S-rRNA

rRNA (ribosomal RNA) merupakan salah satu jenis molekul dari tiga jenis molekul RNA hasil transkripsi (tRNA, mRNA dan rRNA). rRNA dan protein ribosomal membentuk suatu kompleks menjadi partikel ribonukleoprotein yang disebut ribosom. Ribosom inilah yang berperan dalam sintesis protein (Gaffar, 2007 dalam Arham, 2015).

Ribosom organisme prokariotik merupakan organ sel berukuran 70S dan terdiri dari 2 subunit besar dan kecil berukuran 30S dan 50S, dimana huruf S menyatakan konstanta *Svedberg* yaitu satuan koefisien sentrifugasi. Subunit 30S mengandung rRNA berukuran 16S dan protein sebanyak 21 buah. Sedangkan subunit 50S mengandung rRNA berukuran 5S dan 23S serta protein sebanyak 34 buah (Wulandari, 2011).

Diantaranya ketiganya, 16S rRNA merupakan rRNA yang paling sering digunakan untuk mengidentifikasi bakteri, karena panjang basanya ideal yaitu 1540 nukleotida sehingga informasi genetik yang dimilikinya cukup banyak dan lebih mudah diolah (Madigan *et al*, 1997 dalam Arham, 2015). Molekul 5S rRNA

memiliki urutan basa terlalu pendek yaitu 120 nukleotida, sehingga tidak ideal dari segi analisis statistika, sementara itu molekul 23S rRNA memiliki struktur sekunder dan tersier yang cukup panjang yaitu sekitar 2900 nukleotida, sehingga sulit untuk dianalisis (Pangastuti, 2006).

Molekul rRNA sangat khas karena disusun oleh daerah-daerah konservasi yang lebih tinggi dan lebih secara evolusioner. Beberapa segmen RNA berevolusi sangat lambat sehingga filogeni dari taksa yang berdekatan dapat dikonstruksi kembali. Bagian lain cukup bervariasi sehingga dapat dipakai untuk menggolongkan spesies ke dalam genus. Banyaknya posisi pada molekul 16S rRNA dan 23S rRNA yang berevolusi secara bebas menyediakan data untuk menduga hubungan filogenetik sekelompok mikroba (Drancourt *et al*, 2000).

Identifikasi menggunakan molekul yang dikode 16S rRNA dikarenakan beberapa alasan yaitu: (1) bersifat universal pada kelompok organisme prokariotik; (2) urutan nukleotidanya bersifat konservatif dan variatif; (3) jumlahnya melimpah dalam sel; (4) memenuhi ukuran untuk perhitungan statistika (tidak terlalu panjang dan tidak terlalu pendek); (5) ketersediaan informasi (data bank/database di GenBank) (Madigan *et al*, 2008). Molekul 16S rRNA memiliki beberapa daerah yang memiliki urutan basa yang relatif konservatif dan beberapa daerah urutan basanya variatif. Perbandingan urutan basa yang konservatif berguna untuk mengonstruksikan pohon filogenetik universal karena mengalami perubahan relatif lambat dan mencerminkan kronologi evolusi bumi. Sebaliknya, urutan basa yang variatif dapat digunakan untuk melacak keragaman dan menempatkan galur-galur dalam satu spesies (Pangastuti, 2006).

Kunci untuk mengerti keragaman mikroba adalah sistem klasifikasi yang dapat diandalkan. Secara tradisional, bakteri diklasifikasikan terutama berdasarkan sifat-sifat fenotipik. Akan tetapi hasilnya tidak selalu dapat diandalkan secara filogeni. Metode molekuler terutama klasifikasi dan identifikasi berbasis filogenetik, menggunakan parameter yang tidak bergantung pada kondisi pertumbuhan media yang digunakan. Pendekatan yang umum dipakai saat ini adalah analisis sekuen gen 16S rRNA (Case *et al*, 2007).

Identifikasi bakteri dengan 16S rRNA dilakukan berdasarkan perbandingan urutan basa yang konservatif. Jika urutan basa memiliki persamaan yang tinggi maka strain dapat dimasukkan dalam satu spesies yang sama. Hasil analisis BLAST terhadap gen 16S rRNA yang mempunyai homologi urutan kurang dari 98% menunjukkan bahwa spesies yang dibandingkan merupakan spesies berbeda, homologi antara 93-95% menunjukkan bahwa spesies yang dibandingkan berada pada genus yang berbeda dan homologi antara 89-93% menunjukkan spesies yang dibandingkan berada pada famili yang berbeda. Data urutan basa dari berbagai spesies mikroba telah dikumpulkan dalam sebuah database yang dapat diakses. Kumpulan data spesies tersebut memuat data klasifikasi, diagnosa dilakukan analisis berdasarkan persamaan urutan basa menggunakan jarak matrik, metode yang sering digunakan adalah *Multiple Sequence Alignment (MSA)*, sebuah metode yang akan mengelompokkan suatu strain berdasarkan derajat kesamaan urutan basa antar spesies (Wulandari, 2011).

Didasarkan pada prinsip amplifikasi gen 16S rRNA dengan teknik PCR menggunakan DNA template yang diisolasi dari lingkungan dapat dibuat Pustaka klon gen tersebut. Sekuen gen 16S rRNA selanjutnya dapat digunakan untuk

menduga sifat-sifat organisme yang belum dapat dikulturkan; mengidentifikasi model untuk kultivasi (dari kerabat dekat); sintesis pelacak oligonukleotida untuk tujuan identifikasi; pemisahan morfologi; fisik; deteksi pertumbuhan spesifik dalam kultur campuran, memantau distribusinya di alam dan mengevaluasi laju pertumbuhan relatif in situ; dan survei keragaman hayati dengan cepat dan komprehensif. Karena kemudahan dan kecepatannya, saat ini teknik PCR digunakan secara luas sebagai metode pilihan untuk mengamplifikasi fragmen DNA spesifik. Terdapat beberapa primer universal yang umum digunakan untuk mengamplifikasi gen 16S rRNA bakteri, diantaranya 23F dan 24F serta 1392R dan 1492R (penomoran primer mengikuti konsensus sekuen 16S rRNA *E. coli*). Marchesi *et al*, (1998) mendesain dan mengevaluasi primer 63F dan 1387R untuk amplifikasi gen 16S rRNA dengan ukuran sekitar 1300 pasang basa. Kedua primer ini berhasil mengamplifikasi gen 16S rRNA dari spesies yang secara teoritis menunjukkan derajat mismatch pada ujung 5' lebih tinggi apabila dibandingkan dengan pasangan 27F-1392R. keberhasilan tersebut juga menunjukkan konsistensi untuk mengamplifikasi gen 16S rRNA dari template DNA yang diisolasi dari organisme yang tergolong dalam *Coryneform*, *Micrococcus* (Gram positif, High G+C).

Identifikasi mikroorganisme melalui metode molekuler teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) karena prosesnya lebih cepat, efisien dan hasilnya lebih akurat untuk menentukan spesies suatu mikroorganisme. Dalam proses identifikasi molekuler mikroorganisme, ada 3 proses utama yang paling dasar yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi, elektroforesis serta tahap yang paling penting yaitu sekuensing.

1) Ekstraksi

Pada tahap ekstraksi terjadi pemisahan benang-benang DNA dengan komponen sel yang lain. Isolasi atau ekstraksi DNA diperoleh dengan cara merusak atau memecahkan dinding sel sehingga DNA akan keluar dari sel. Pada metode boiling, pemanasan tinggi selama beberapa menit akan menyebabkan peningkatan permeabilitas dinding sel yang berakibat pada masuknya cairan dan materi lain di sekitar sel dan keluarnya materi-materi dari dalam sel. Suhu tinggi juga bermanfaat untuk inaktivasi enzim, terutama DN-ase yang dapat merusak DNA. Suhu yang digunakan dan lamanya pemanasan tergantung pada sampel yang digunakan (Radji, 2011).

Proses ekstraksi DNA yang dilakukan mengacu pada pedoman instruksi manual oleh generaid menggunakan presto TM mini gDNA Bacteria Kit. Dalam proses ini ada beberapa proses penting dalam ekstraksi yaitu preparasi sampel (*sample preparation*), lisis sel (*cell lysis*), pengikatan DNA (*DNA binding*), pencucian (*wash*) dan elusi (*elution*) (Radji, 2011).

Kit Komersial PrestoTM Mini gDNA Bacteria Kit menggunakan prinsip mini column atau filtrasi DNA. Pertama dinding sel dihancurkan, untuk bakteri gram positif menggunakan gram (+) buffer yang telah ditambahkan lysozyme sedangkan untuk bakteri gram negatif menggunakan gram (-) buffer dan proteinase K. sel dilisis menggunakan *lysis buffer*. DNA diendapkan dengan *ethanol absolute*, difilter, dan dicuci dengan washing buffer (*buffer W1* dan *buffer wash*). Terakhir DNA dilarutkan dalam *elution buffer*. Ekstraksi DNA dengan mini column merupakan metode ekstraksi yang paling umum dilakukan karena hasil yang didapatkan sangat baik dalam waktu yang tidak lama dan biaya yang lebih murah.

Bahan yang digunakan dalam ekstraksi DNA bakteri memiliki fungsi yang berbeda-beda. Gram (+) buffer (*Geneid*) yang telah ditambahkan lyzosome berfungsi khusus untuk menghancurkan dinding sel bakteri gram positif, penambahan buffer bertujuan untuk menjaga keadaan pH tetap stabil sehingga DNA tidak rusak selama pengerjaan. Proteinase K yang berfungsi menghancurkan komponen sel (terutama protein) dan gram (-) buffer (*Geneid*) fungsinya khusus untuk menghancurkan dinding sel bakteri gram negatif. *GB Buffer* (*Geneid*) berfungsi untuk melisiskan sel bakteri. Etanol absolute digunakan untuk mengendapkan atau pemekatan DNA. *Wash Buffer* digunakan untuk membersihkan DNA dari pengotor lain. Marker DNA yang terdapat pada *Gel Elektrophoresis* berfungsi untuk mengetahui ukuran DNA hasil amplifikasi dan sebagai penanda posisi molekul DNA yang bermigrasi untuk menentukan perkiraan ukuran basa basanya. Loading dye berfungsi sebagai pemberat agar tidak keluar dari sumuran (*well*). Etidium Bromida (EtBr) sebagai pewarna DNA. *2x KAPA2G Fast Ready Mix PCR Kit* merupakan master mix PCR komerial yang didalamnya terkandung *Taq* DNA Polymerase, PCR buffer, MgCl₂, dNTP, dan ddH₂O. master mix PCR komersial ini berfungsi sebagai komponen atau campuran DNA template yang akan diamplifikasi menggunakan mesin PCR. Primer Forward berfungsi untuk menginisiasi sintesis untai DNA dari ujung 5'-----3' sedangkan Primer Reverse berfungsi untuk menginisiasi sintesis untai DNA dari ujung 3'-----5'(Radji, 2011).

2) Polimerase Chain Reaction (PCR)

PCR pertama kali dikembangkan oleh Kary Mullis pada tahun 1985 seorang peneliti dari CETUS Corporation. Mullis mendapat hadiah Nobel pada

tahun 1993 untuk pengembangannya terhadap PCR (Novel, 2010). Reaksi polimer berantai atau PCR adalah suatu proses perbanyak DNA secara in vitro enzimatik dengan pengontrolan suhu (Weising *et al*, 2005) sedangkan menurut (Yuwono, 2006) PCR adalah suatu metode enzimatik untuk melipatgandakan secara eksponensial suatu sekuen nukleotida tertentu atau DNA dengan cara in vitro. PCR juga merupakan suatu reaksi in vitro untuk menggandakan jumlah molekul DNA pada target tertentu dengan cara mensintesis DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA target dengan bantuan enzim polimerase dan oligonukleotida sebagai primer dalam suatu termocycler. Primer yang berada sebelum daerah target disebut primer forward dan yang berada setelah daerah target disebut primer reverse. Primer umumnya mempunyai panjang 9 sampai 25 basa dan menentukan situs dimulainya replikasi DNA (Stansfield *et al*, 2006). Teknik PCR digunakan untuk memperbanyak sekuen DNA tertentu dengan waktu relatif singkat. Dengan PCR, molekul DNA dapat diperbanyak sampai jutaan kopi. Oleh karena itu teknik ini bisa disebut amplifikasi DNA (Muladno, 2002).

PCR adalah teknik cepat untuk mengamplifikasikan fragmen DNA spesifik secara in vitro dengan menggunakan sepasang primer untai tunggal pendek (primer *forward* dan *reverse*). Sejumlah kecil fragmen DNA (*Deoxyribonucleic Acid*) yang diinginkan dapat diamplifikasi secara berulang-ulang sampai jutaan kali dalam beberapa jam menggunakan teknik ini. PCR merupakan metode yang sensitif, selektif, dan cepat dalam menggandakan DNA target yang diinginkan (Murray *et al*, 2003), sehingga dari satu pasang molekul DNA dapat diperbanyak menjadi jutaan kali lipat setelah 30-40 siklus PCR (Campbell *et al*, 2002). Dalam prosesnya PCR dapat secara cepat mengubah temperatur yang dibutuhkan untuk siklus

berulang. Beberapa komponen penting yang dibutuhkan dalam proses PCR yaitu DNA target (DNA cetakan yang akan diamplifikasi), sepasang primer oligonukleotida (primer *forward* dan *reverse*), enzim Taq DNA polymerase yang tahan panas, *deoxynucleoside triphosphate* (dNTP) serta larutan penyangga (buffer) (Muladno, 2002).

Tujuan dari PCR adalah untuk membuat sejumlah besar duplikasi suatu gen. hal ini diperlukan agar diperoleh jumlah DNA cetakan awal yang cukup untuk sekuensing DNA ataupun untuk memperoleh material genetik yang diperlukan dalam proses rekayasa genetika. Tahapan pengerjaan PCR secara umum terdiri dari isolasi DNA/RNA, pengecekan integritas isolat DNA/RNA secara spektrofotometri atau elektroforesis, pencampuran komponen fraksi PCR, pemrograman mesin PCR pada kondisi optimum, amplifikasi reaksi dan deteksi/evaluasi hasil reaksi (Sari, 2006). Cara kerja PCR dimulai dari pengikatan dua oligonukleotida (primer) yang telah diketahui komposisinya ke suatu sekuens target yang diinginkan. Kemudian, DNA polimerase akan memperpanjang oligonukleotida tersebut. Setiap reaksi akan diulang setelah tahap denaturasi sehingga terjadilah amplifikasi (penguatan) secara eksponensial (Stansfield, 2006).

Polimerase Chain Reaction (PCR) merupakan suatu proses sintesis enzimatis untuk mengamplifikasi fragmen DNA secara *in vitro* teknik PCR dapat meningkatkan jumlah fragmen DNA hingga mencapai 10^6 - 10^7 kali dalam waktu singkat. Pada setiap n siklus PCR, akan diperoleh sebanyak 2^n kali DNA target. Keberhasilan PCR sangat tergantung pada kemampuannya untuk hanya mengamplifikasi DNA target dan tidak mengamplifikasi DNA non target. Proses PCR untuk memperbanyak DNA terdiri dari serangkaian siklus suhu yang berulang,

dimana masing-masing siklus terdiri dari tiga tahap (i) tahap denaturasi DNA cetakan pada suhu 94-96 °C, dimana pada tahap ini terjadi pemisahan DNA heliks ganda menjadi 2 untai tunggal DNA. (ii) tahap penempelan (annealing) oligonukleotida primer pada suhu 45-60 °C, dengan untai tunggal DNA cetakan pada ujung 3'. Primer adalah oligonukleotida untai tunggal yang urutan nukleotidanya dirancang komplementer dengan urutan DNA cetakan pada daerah ujung 3'. Primer menentukan bagian fragmen DNA yang akan diamplifikasi. (iii) tahap elongasi, yaitu pemanjangan primer menjadi suatu untai DNA baru, yang komplementer terhadap masing-masing DNA cetakan untai tunggal oleh enzim DNA polymerase pada suhu 72 °C. ketiga tahap siklus tersebut diulang sesuai dengan jumlah siklus amplifikasi. Pada siklus pertama dua untai tunggal DNA cetakan akan disalin menjadi 2 DNA untai ganda. Pada siklus kedua, 2 DNA cetakan untai ganda masing-masing akan bertindak sebagai cetakan sehingga pada siklus kedua akan dihasilkan 4 DNA untai ganda. Pada siklus berikutnya akan dihasilkan jumlah DNA secara eksponensial, dimana pada siklus ketiga DNA akan disalin menjadi 8 kali, siklus ke 10 menjadi 1.024 kali, siklus 30 menjadi 1.073.741.824 dan seterusnya. Pada akhir siklus, DNA cetakan akan digunakan secara eksponensial sehingga dihasilkan DNA dalam jumlah yang berlipat ganda hanya dalam waktu yang relatif singkat sekitar 3-4 jam (Radji, 2011).

3) Elektroforesis

Elektroforesis merupakan suatu teknik pemisahan molekul seluler berdasarkan atas ukurannya, dengan menggunakan medan listrik yang dialirkan pada suatu medium yang mengandung sampel yang akan dipisahkan. Teknik ini dapat digunakan dengan memanfaatkan muatan listrik yang ada pada

makromolekul, misalnya DNA yang bermuatan negatif. Jika molekul bermuatan negatif dilewatkan melalui suatu medium, misalnya gel agarosa, kemudian dialiri arus listrik yang dialirkan pada satu kutub ke kutub yang berlawanan muatannya, maka molekul tersebut akan bergerak dari kutub negatif ke kutub positif. Kecepatan gerak molekul tersebut tergantung pada rasio muatan terhadap massanya, serta tergantung pula pada bentuk molekulnya (Yuwono, 2005).

Teknik elektroforesis dapat untuk analisis DNA, RNA maupun protein. Elektroforesis DNA dilakukan misalnya untuk menganalisis fragmen-fragmen DNA hasil pemotongan dengan enzim restriksi. Fragmen molekul DNA yang telah dipotong-potong dapat ditentukan ukurannya dengan cara membuat gel agarosa, yaitu suatu bahan semi padat berupa polisakarida yang diekstraksi dari rumput laut. Gel agarosa dibuat dengan melarutkannya dalam suatu buffer. Agar dapat larut dengan baik, pelarutnya dibantu dengan pemanasan, misalnya menggunakan microwave oven. Dalam keadaan panas, gel akan berupa cairan sehingga mudah dituang ke atas suatu lempeng. Sebelum mendingin dan memadat, pada ujung gel tersebut dibuat lubang-lubang dengan menggunakan lembaran tipis yang menyerupai sisir yang ditancapkan pada salah satu ujung gel yang masih cair. Dengan demikian pada waktu gel memadat sisirnya diambil terbentuklah lubang-lubang kecil untuk memasukkan sampel molekul DNA. Gel agarosa yang sudah terbentuk kemudian dimasukkan ke dalam suatu tangki yang berisi buffer yang sama dengan yang digunakan untuk membuat gel. Buffer dapat dibuat misalnya dengan tris-asetat-EDTA (TAE) atau tris-borat-EDTA (TBE) (Yuwono, 2005).

Setelah DNA dimasukkan ke dalam lubang sampel, arus listrik dialirkan. Kutub yang sejajar dengan lubang sampel DNA berupa kutub negatif, sedangkan

kutub yang lainnya positif, oleh karena DNA bermuatan negatif maka molekul-molekul DNA akan bergerak ke arah positif. Setelah beberapa waktu gel kemudian direndam dalam larutan yang mengandung etidium bromida. Etidium bromida akan menyisip ke dalam DNA. Penggunaan etidium bromida dimaksudkan untuk membantu visualisasi karena etidium bromida akan memendarkan sinar ultraviolet. Jika gel disinari dengan ultraviolet dari bawah, maka akan tampak citra berupa pita-pita pada gel. Pita-pita tersebut merupakan molekul-molekul DNA yang bergerak sepanjang gel setelah dielektroforesis. Molekul RNA dapat dianalisis dengan prinsip yang sama, yaitu menggunakan gel agarosa, namun dengan menggunakan buffer yang berbeda yaitu yang mengandung formaldehid (Yuwono, 2005).

4) Sekuensing DNA

Teknik sekuensing DNA (*DNA Sequencing*) adalah cara untuk menentukan urutan basa-basa nukleotida suatu fragmen DNA. Teknik ini merupakan salah satu teknik yang sangat penting dalam bidang biologi molekular, yang dapat dimanfaatkan untuk menentukan urutan basa nukleotida suatu gen ataupun sekuen genom total suatu sel atau organisme. Teknik pengurutan basa DNA terdiri dari dua macam cara yang dikembangkan hampir secara bersamaan yaitu cara degradasi kimiawi oleh A. Maxam dan W. Gilbert di Amerika dan cara terminasi rantai oleh F. Sangar dan A.R. Coulson di Inggris (Radji, 2011).

a) Cara degradasi kimiawi

Molekul DNA dipotong terlebih dahulu secara parsial dengan piperidin. Pengaturan lama inkubasi atau konsentrasi piperidin yang digunakan dapat menghasilkan potongan fragmen DNA dalam berbagai ukuran. Selanjutnya basa DNA dimodifikasi sedemikian rupa, dengan menggunakan senyawa kimia tertentu.

Dimetilsulfat digunakan untuk metilasi basa G, asam format untuk menghidrolisis basa A dan G sedangkan hidrazin digunakan untuk menghidrolisis basa C dan T. akan tetapi dengan penambahan larutan 1,5 M NaCl, hidrazin hanya dapat bereaksi dengan baik untuk memecah sitosin (C). dengan demikian akan dihasilkan empat jenis fragmen DNA yang memiliki ukuran berbeda dengan masing-masing memiliki ujung G, ujung C, ujung A dan ujung T. Fragmen-fragmen DNA yang dihasilkan dielektroforesis dengan gel poliakrilamida. Berdasarkan pola migrasi pada gel elektroforesis dapat ditentukan urutan basa-basa DNA dari molekul DNA yang akan ditentukan urutan basa-basanya (Radji, 2011).

b) Cara terminasi rantai

Teknik Sangar-Coulson pada dasarnya memanfaatkan sifat enzim DNA polymerase yaitu fragmen klenow, yang memiliki kemampuan mensintesis DNA dengan adanya dNTP, dan ketidakmampuannya untuk membedakan deoksinukleotida trifosfat (dNTP), dengan dideoksinukleotida trifosfat (ddNTP). Molekul dNTP, tidak memiliki gugus hidroksil (OH), pada atom C nomor 2 pada cincin gula pentosa, sedangkan molekul ddNTP, tidak memiliki 2 gugus OH pada posisi atom C nomor 2 dan nomor 3 pada cincin gula pentosa (Radji, 2011).

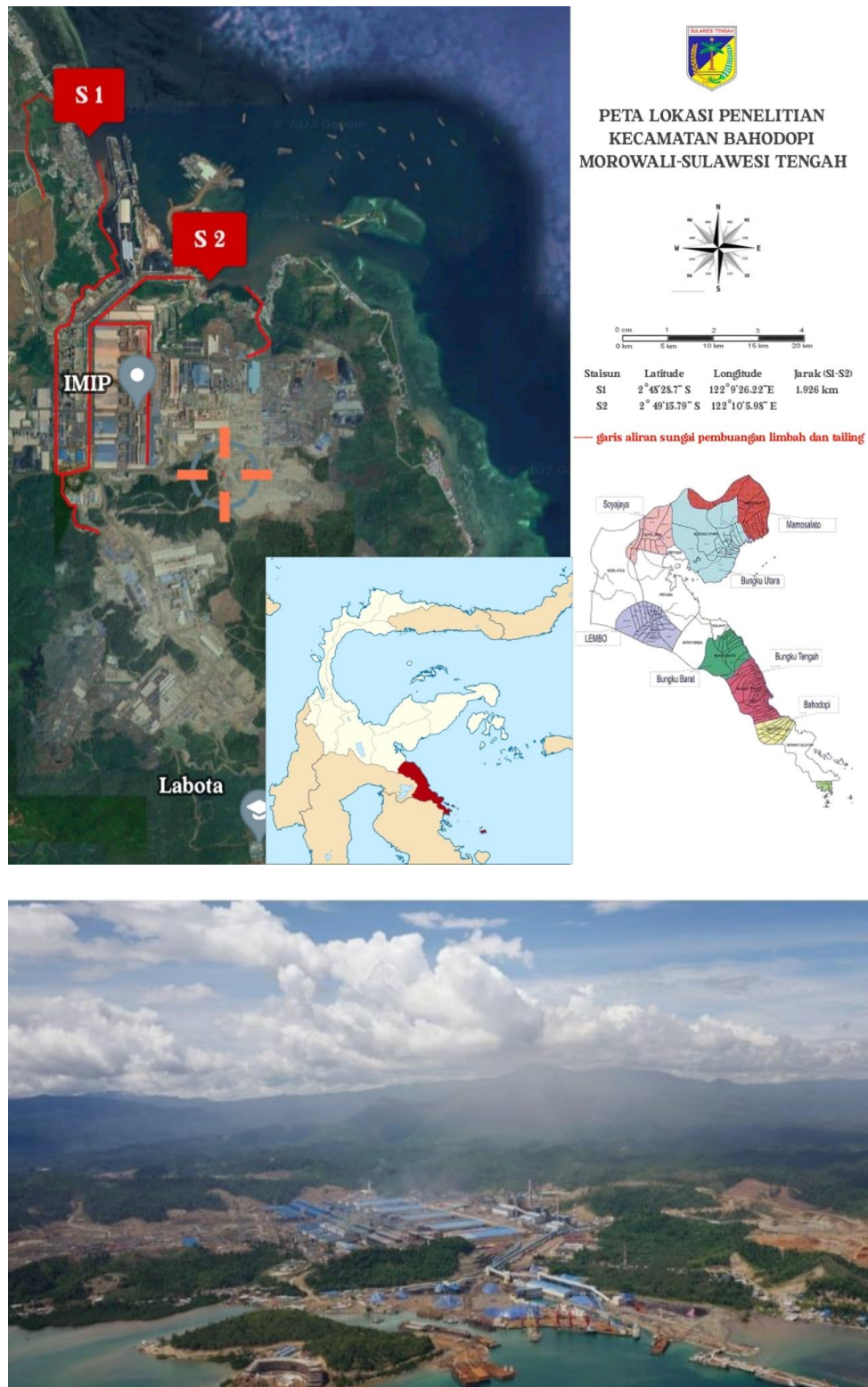
Teknik sekuensing DNA menggunakan teknik dideoksinukleotida dilakukan pada 4 tabung reaksi yang berbeda, dimana pada setiap tabung reaksi berisi campuran reagen yang terdiri dari cetakan DNA untai tunggal yang akan disekuens, primer oligonukleotida, DNA polymerase, campuran dNTP dan larutan buffer. DNA cetakan yang akan disekuens adalah DNA untai tunggal sehingga biasanya diklon terlebih dahulu dalam vector M13. Sedangkan molekul ddNTP yang dilabel dengan senyawa radioaktif atau non radioaktif, hanya ditambahkan

pada campuran reaksi yang sesuai yaitu, untuk tabung A hanya ditambahkan ddATP, untuk tabung C hanya ditambahkan ddCTP, untuk tabung G hanya ditambahkan ddGTP sedangkan untuk tabung T hanya ditambahkan ddTTP. Pada proses pemanjangan untai DNA, selain menggunakan dNTP, secara acak juga menggunakan ddNTP, maka jika ddNTP terikat, polimerisasi lebih lanjut basa-basa DNA tidak terjadi atau terhenti, pada ujung molekul DNA yang memiliki ujung ddNTP. Mesin DNA sekuensing otomatis yang dilengkapi dengan perangkat lunak pengolah data menampilkan warna spesifik dari masing-masing keempat basa DNA, yang sekaligus merupakan urutan sekuen DNA (Radji, 2011)

2.2 Lokasi Penelitian Kawasan Industri IMIP

Lokasi penelitian terletak di pesisir kawasan industri di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah. Kawasan industri adalah kawasan industri PT. Indonesia Morowali Industrial Park (IMIP), dimana kawasan tersebut memiliki potensi sumber daya nikel yang cukup besar sehingga punya prospek untuk mengembangkan industri berbasis nikel. Untuk menunjang pengolahan lebih lanjut dari nikel tersebut, diperlukan sarana dan prasarana industri sehingga produk-produk turunan dari industri pengolahan industri tersebut dapat memiliki daya saing. Salah satu Langkah dalam meningkatkan daya saing dan daya Tarik investasi adalah dengan menyediakan lokasi industri yang cukup memadai yaitu berupa kawasan industri. Pengembangan kawasan industri berdasarkan potensi sumber daya alam yang dimiliki daerah merupakan kebijakan pembangunan industri terutama untuk pemerataan dan penyebaran industri di luar Jawa. Adapun izin telah diperoleh yaitu izin prinsip 263/1/IP-PB/PMA/2015, izin lokasi dari keputusan bupati Morowali No

188.4.45/KEP.0305/ADPUM/2014, dan izin lingkungan dari keputusan Gubernur No 660/575/BLHD-GST/2015.

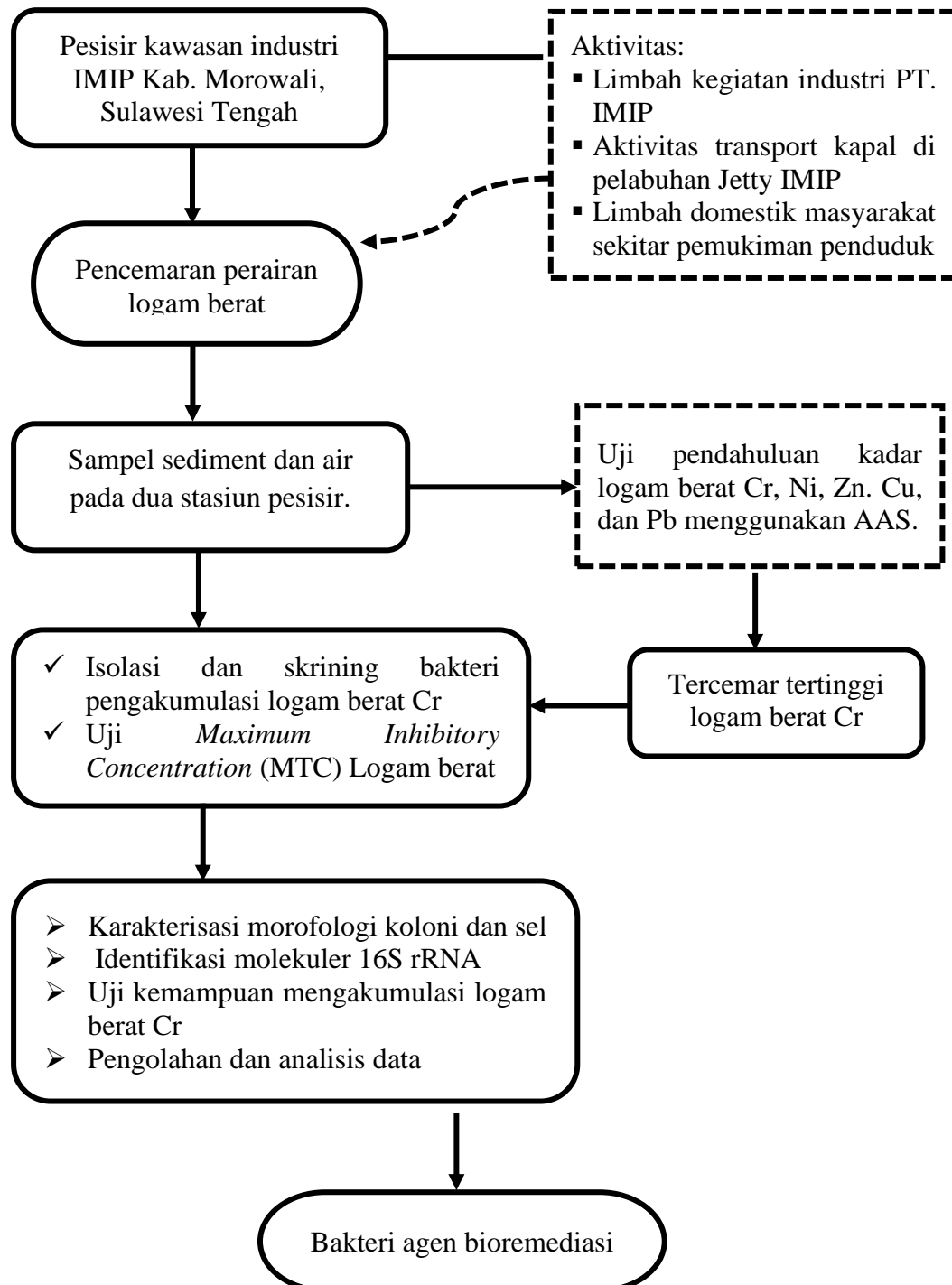


Gambar 2.3 Peta lokasi penelitian dan hamparan kawasan industri IMIP

Misi industri IMIP dalam menjaga operasi secara berkelanjutan (*sustainable*) dan mengembangkan kawasan industri yaitu berkomitmen menjalankan manajemen secara profesional, Menerapkan standar yang berlaku bagi sebuah kawasan industri, Berkomitmen melakukan peningkatan/perbaikan secara berkelanjutan, Memfasilitasi pengembangan usaha masyarakat lokal bekerja sama dengan industri-industri yang ada di kawasan industri dan pemerintah, dan Pemenuhan terhadap peraturan dan perundang-undang yang berlaku. Sedangkan nilai yang dianut dan dijadikan pedoman dalam berperilaku bagi kawasan IMIP di rumuskan menjadi 8 butir yaitu manajemen profesional, mengutamakan tenant, tunduk pada hukum dan peraturan, menjadi kompetitif, melebihi dari harapan, kondisi kerja yang inovatif, menjaga hubungan baik dengan masyarakat sekitar, dan pemenuhan nilai-nilai perusahaan (IMIP, 2021).

IMIP adalah kawasan industri berbasis pengolahan nikel dengan rantai industri terpanjang di dunia dan memiliki produk utama berupa nikel, stainless steel dan carbon steel dengan menggandeng investor dari China, IMIP dibangun 2013. Perusahaan Shanghai Decent Investment (Group) Co., Ltd. Bekerja sama dengan PT Bintang Delapan Investama mendirikan PT Sulawesi Mining Investment (SMI) di Indonesia pada tahun 2009. Keduanya mulai melakukan pengembangan terhadap tambang nikel seluas hamper 47.000 hektare di kabupaten Morowali, Sulawesi Tengah. Kehadiran IMIP mampu mengubah peta produsen nikel olahan di Indonesia hanya dalam kurun waktu 4 tahun. Sejak 2018, IMIP menyalip PT Vale Indonesia Tbk (INCO) dan PT Aneka Tambang Tbk (Antam), yang menguasai produksi nikel olahan di tanah air. Pada tahun 2014, produksi nikel masih dikuasai Vale dengan porsi 77%. Disusul Antam dengan 19% dan perusahaan lainnya sebanyak 3%. Namun, peta industri hilir nikel hingga produk setengah jadi (*intermediate product*) itu telah berubah dengan drastis. Pada 2018, IMIP sudah menguasai 50% dari produksi hilir nikel di Indonesia. Secara spesifik, di PT. IMIP terdapat total 16 perusahaan yang mempekerjakan 25.447 tenaga kerja Indonesia, dan 3.121 tenaga kerja asing. Sementara tenaga kerja tak langsung yang terserap dalam industri pendukung seperti supplier, kontraktor, dan sebagainya, sekitar 53.500 orang. Sampai akhir 2018, proyeksi kebutuhan tenaga kerja lokal yang dibutuhkan kurang lebih sekitar 11.500 orang (Mahyuddin, 2021).

Kerangka Konsep Penelitian



BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif dengan pendekatan eksploratif yang menggambarkan tentang keberadaan bakteri pengakumulasi logam berat Cr sebagai bioremediasi di pesisir kawasan industri IMIP di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Februari-September 2022. Penentuan lokasi pengambilan berdasarkan teknik *purposive sampling* yaitu sampel sedimen dan air di dua stasiun pesisir kawasan industri terletak di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah tabel 3.1. Stasiun 1, lokasi ini berdekatan dengan aktivitas bongkar muat kapal di Jetty, limbah tailing perusahaan mengalir ke sungai bermuara ke pesisir, dan dekat pemukiman warga. Stasiun 2, lokasi berada pertemuan pesisir dengan aliran sungai limbah pembuangan PLTU perusahaan, dekat dermaga Jetty tempat bongkar muat kapal, dan dekat pemukiman warga. Pengujian sampel dilakukan di Laboratorium MIPA Universitas Hasanuddin Makassar dan Laboratorium Biologi Molekuler Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin Makassar.

Tabel 3.1 Stasiun lokasi penelitian berdasarkan GPS (*Global Positioning System*)

Perusahaan	Stasiun	Koordinat	Jarak S1-S2 (Km)
PT. IMIP 2°49'18.07" S 122°9'30.11" E	S1	2°48'28.7" S, 122°9'26.22" E	1.926
	S2	2°49'15.79" S, 122°10'5.98" E	

3.3 Preparasi Alat Dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi (1) Peralatan di lokasi pengambilan sampel: modifikasi *core sampler* PCV, alat Do, salinitas, pH Meter, termometer, botol sampel steril, wadah steril, kamera, coolbox, sendok, ember, dan penggaris. (2) Alat analisis kadar logam sampel: *Laminar Air Flow* (LAF), (*Pyrex*) gelas kimia, pipet ukur dan pipet tetes, labu takar, lemari asam, *hot plate and stirrer*, corong, *bulp* pipet, timbangan analitik (*Pioneer*), botol larutan sampel, krus porselin, tanur tungku, AAS (AA-7000 *Shimadzu*), oven universal (*Memmert*), spektrofotometri UV-Vis (*Shimadzu UV 1800*), dan timbangan analitik (*Pioneer*), *cool box*, pisau bedah, botol semprot, cawan dan alat tulis. (3) Peralatan uji mikrobiologi dan molekuler: botol sampel, *Shaker Incubator*, *Autoclaf* (*Tomy SX-500*), oven (*Memmert*), *Vortex*, *incubator* dan *incubator shaker* (*Memmert*), *waterbath*, sentrifuge (*Hettich Zentrifugen*) tabung reaksi, cawan petri, jarum ose, pipet tetes, pipet ukur, corong, kaca preparat, labu erlenmeyer, *hot plate* dan *stirrer*, lampu spiritus, rak tabung, gelas ukur, tabung reaksi, microtube, mikropipet, mikroskop, *colony counter*, sentrifuge (*Bio rad*), DNA *extractor* (*Bio rad*) dan PCR (*ABI*), UV- Transulaminator (*Bio rad*), komputer, dan elektroforesis (*Bio rad*).

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan penelitian ini meliputi (1) Bahan analisis kadar logam sampel: aquabidest, asam nitrat (HNO_3), asam perklorat (HClO_4), H_2SO_4 pekat (65%), *waterone*, larutan induk K_2CrO_4 , kertas saring whatman. (2) Bahan uji mikrobiologi dan molekuler: Glukosa (0,5%), NA (*Nutrient Agar*) (*Oxoid*), LB (*Luria Bertani*) (*Oxoid*), pewarnaan Gram (*Crystal violet*, *Lugol*, *Etil Alkohol*

Safranin, dan Aquadest), Alkohol 95%, Aluminium foil, sepasang primer universal yang digunakan untuk semua jenis bakteri (*Marcogane*) yaitu forward primer universal primer 27F 5'–AGAGTTTGATCCTGGCTCTCAG–3' dan 1492R 5'–GGTTACCTTGTTACGACTT–3' (Abidin *et al.*, 2020; Gupta *et al.*, 2012; Jiang *et al.*, 2008), template DNA, *KAPA Master mix* PCR, *Nucleus free water*, gel agarose, Tris borat EDT, (TBE) 10x, marker 100 bp, ethidium bromide, dan sarung tangan.

3.4 Metode Pengumpulan Data

3.4.1 Observasi

Observasi merupakan suatu proses yang kompleks, suatu proses yang tersusun dari berbagai proses biologis. Observasi digunakan sebagai pendukung dan sebagai ketetapan dalam pemilihan instrument penelitian sehingga didapatkan hasil yang valid. Sehubungan dengan itu penelitian melakukan observasi di lokasi yang telah ditetapkan yaitu lingkungan kawasan industri PT. IMIP kab. Morowali. Sekaligus peneliti menentukan titik/stasiun pengambilan sampel dengan teknik *purposive sampling*, yakni teknik pengambilan sampel pada titik yang ditetapkan oleh peneliti dan dianggap mewakili populasi yang telah ditemukan.

3.4.2 Dokumentasi

Dokumentasi merupakan teknik pengumpulan data yang bisa berbentuk tulisan, gambar atau karya-karya monumental dari seseorang. Dokumen yang berbentuk tulisan, misalnya buku-buku, jurnal, dan makalah yang diangkat dari hasil penelitian atau hasil uji laboratorium. Sementara dokumen yang berbentuk gambar, misalnya, foto atau gambar yang diperoleh dari hasil penelusuran di lapangan atau hasil penelusuran di laboratorium dengan menggunakan alat bantu elektronik seperti kamera.

3.4.3 Pengukuran dan Pengujian

Pengukuran dan pengujian pada penelitian ini dapat dibandingkan dengan acuan standar baku yang berlaku pada peraturan pemerintah UU kementerian lingkungan hidup dan berdasarkan standar internasional.

3.5 Tahap Persiapan dan Pengambilan Sampel

Pada tahap ini, penelitian melakukan observasi terhadap lokasi untuk menentukan titik atau stasiun pengambilan sampel dan waktu pengambilan sampel, kemudian selanjutnya dilakukan uji laboratorium.

Pada tahap pengambilan sampel air dan sedimen yang di ambil dari 2 stasiun dengan cara sampel *purposive sampling* diambil di bibir pantai pada saat air laut surut. Sampel sedimen diambil menggunakan modifikasi *PVC Core Sampler* dengan kedalaman alat 0-5 cm dari lapisan permukaan (Decker, 2014), kemudian disimpan dalam kantong steril Ziplock atau botol steril. Sampel air laut diambil 0-20 cm di bawah permukaan, lalu memasukkan dalam botol steril (Decker, 2013) pada titik yang sama. Setiap penggunaan alat pengambilan sampel dicuci dengan detergen, dibilas dan dikeringkan sebelum digunakan untuk meminimalkan kontaminasi. Semua sampel masukkan dalam *cool box* dalam kondisi dingin es 4°C. Setelah sampel terkumpul melakukan pengukuran kadar fisik air laut. Langkah selanjutnya melakukan tahapan dokumentasi lokasi pengambilan sampel penelitian agar lebih kredibel atau dapat dipercaya dengan dukungan foto atau gambar, kemudian membawa sampel ke laboratorium untuk dianalisis lebih lanjut (Islam *et al.*, 2020; Karadede-Akin & Erhan, 2007; Mallongi *et al.*, 2015; Opaluwa *et al.*, 2012; Singare *et al.*, 2012; dan Vu *et al.*, 2017).

3.6 Uji Analisis Kadar Logam Berat Cemar Pesisir Kawasan Industri

Pada tahap ini untuk mengetahui konsentrasi logam berat tercemar tertinggi dari jenis logam berat Ni, Zn, Cu, Cr, dan Pb dalam menentukan diuji lanjut pada sampel.

3.6.1 Preparasi dan Analisis Sampel

Pengukuran kadar air sedimen dengan cara sampel sedimen basah dikeringkan dengan dan di anginkan selam 2 hari. Sampel yang telah kering dihalus dengan menggunakan mortar. Cawan petri dikeringkan ke dalam oven, kemudian cawan petri kosong ditimbang (W_0). Sampel sedimen ditimbang sebanyak ± 5 gram ke dalam cawan petri yang telah dikeringkan (W_1). Sampel dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C sebanyak 2 gram, lalu didinginkan ke dalam desikator. Kemudian semua ditimbang bobot cawan + sampel setelah pemanasan (W_2).

Preparasi cawan porselin ditimbang kosong (W_0) menggunakan neraca analitik, kemudian ditimbang 1gram NaHCO_3 ke dalam cawan porselin, lalu ditambahkan sampel sedimen 1gram dan tambahkan Kembali NaHCO_3 2 gram. Cawan petri yang berisi sampel dan NaHCO_3 dimasukkan ke dalam tanur suhu 850°C selama 5 jam (proses peleburan). Setelah di tanur didinginkan dengan desikator. Setelah dingin masing-masing cawan porselin ditambahkan 5 mL HNO_3 37%. Hasil leburan dipindahkan ke dalam gelas kimia 50 mL hingga tidak ada lagi residu yang tersisa di dalam cawan porselin (penambahan HNO_3 37% disesuaikan hingga tidak ada lagi residu yang tersisa di cawan porselin, sebelumnya penggunaan HNO_3 37% sebanyak 15 mL). Larutan analis dipanaskan hingga berkurang setengah larutannya (proses destruksi), pemanasan menggunakan *hot plate*. Setelah itu ditambahkan akuades sekitar 10 mL, kemudian disaring ke dalam labu ukur 50

mL kertas saring whatman no. 42, lalu diimpitkan hingga tanda batas labu menggunakan akuades dan dihomogenkan. Filtrat uji siap diukur dengan menggunakan AAS dengan cara sampel yang sudah dipreparasi, dimasukkan ke dalam kuvet dan dilakukan proses injeksi menggunakan AAS type AA-7000 Shimadzu, jika sampel terukur dan melewati batas standar maka diperlukan proses pengenceran sehingga diperoleh faktor pengenceran yang masuk dalam perhitungan. (Defew *et al.*, 2005; Gupta *et al.*, 2012; Guzman *et al.*, 2016; Islam *et al.*, 2020; Mallongi *et al.*, 2015; Opaluwa *et al.*, 2012; Sekabira *et al.*, 2010 & Singare *et al.*, 2012).

Sampel air laut dalam botol steril di pipet 10 mL dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer, lalu ditambahkan akuades 90 mL, kemudian ditambahkan larutan HNO₃ sebanyak 5 mL dengan menggunakan pipet ukur. Selanjutnya sampel dipanaskan dengan menggunakan hot plate sekitar 40 menit sampai sampel mengalami pengurangan volume sekitar 2 mL. selanjutnya sampel didinginkan dan dimasukkan ke dalam labu takar dengan menggunakan kertas saring whatman no.42 hal ini dilakukan agar tidak ada sedimen yang ikut pada sampel tersebut. Tahap terakhir didestruksi yaitu diimpit dan selanjutnya dianalisis pada AAS (Akkajit *et al.*, 2018; Islam *et al.*, 2020; Opaluwa *et al.*, 2012; Saimu *et al.*, 2015; Saranya *et al.*, 2019 & Sekabira *et al.*, 2010).

3.6.2 Pembuatan Larutan standar

Larutan multielemen (Ni, Zn, Cu, Cr, dan Pb) 1000 ppm (larutan induk) diencerkan menjadi 100 ppm dengan cara masing-masing diambil 5 mL larutan induk logam berat ke dalam labu takar 50 mL, lalu menambahkan akuades (H₂O) sampai tanda batas, kemudian mengocok dan menghomogenkan (larutan baku).

Larutan standar pada konsentrasi yaitu 0,5 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 5 ppm, dan 8 ppm, dan 100 ppm dengan cara ambil larutan baku 0,25 mL (0,5 ppm), 0,5 mL (1 ppm), 1 mL (2 ppm), 2 mL (4 ppm) dan 4 mL (8 ppm) lalu pindahkan ke masing-masing labu takar ukuran 50 mL sesuai dengan jumlah kurva standar akan dibuat, kemudian masing di tambahkan akuades sampai tanda batas labu takar, masing-masing ditambahkan HNO₃ 0,1 M hingga pH menjadi 2-3, lalu diimpitkan dengan akuades sampai batas, lalu homogenkan. Kemudian di analisis ASS.

3.6.3 Pembacaan AAS

Dalam pembacaan pada AAS, larutan sampel, standar dan blanko disiapkan. Tahap awal dalam proses pembacaan adalah perangkat AAS dihidupkan, diatur posisi optimum untuk pengujian logam (Ni, Zn, Cu, Cd, dan Pb) dengan mengatur posisi lampu katoda logam sesuai dengan uji dan kedudukan sel absorban dan panjang gelombang untuk uji. Selanjutnya larutan standar dihubungkan dengan selang kecil yang bermuara pada sebuah tabung di dalam sistem AAS, besarnya absorban yang diserap akan langsung dibaca pada layar monitor. Setelah larutan standar kerja dibaca, maka akan terbentuk kurva standar absorban (Y) konsentrasi logam (ug/l) (X), sehingga terbentuk kurva linier seperti terlihat pada lampiran hasil pembacaan AAS. Selanjutnya pembacaan blanko dan sampel seperti tahap pada pembacaan larutan standar, secara rinci tahap pembacaan pada AAS. Begitupun dengan logam lainnya (Akkajit *et al.*, 2018; Islam *et al.*, 2020; Muttaqin, 2017; Opaluwa *et al.*, 2012; Rajeev *et al.*, 2021 & Sekabira *et al.*, 2010).

3.7 Isolasi dan Seleksi Bakteri Tahan Logam Berat Cr

3.7.1 Isolasi Bakteri Tahan Logam Berat

Sampel yang diisolasi yaitu sampel air dan sedimen yang tercemar dan memiliki konsentrasi logam berat tertinggi yaitu Cr dari dua stasiun. Sepuluh gram disuspensikan dalam larutan glukosa 0,5% 90 ml. Semua sampel air dan sedimen dari stasiun 1 dan 2 diambil 1 mL atau 1gram kemudian diencerkan dengan menggunakan akuades steril ($10^{-1} - 10^{-3}$). Pada pengenceran 10^{-3} diambil 1 mL dan ditumbuhkan pada media NB (*Nutrient Borth*) yang diperkaya dengan 100 mg/L logam K_2CrO_4 . Lalu di inkubasi pada *incubator shaker* 48 jam dengan kecepatan 150 rpm. Setelah terjadi pertumbuhan dan akumulasi logam, masing-masing kultur diambil 1 mL lalu diencerkan dengan menggunakan akuades ($10^{-1} - 10^{-3}$), kemudian masing-masing setiap pengenceran diambil 1 mL dan dituang ke dalam cawan petri yang berisi media padat NA (*Nutrient agar*) + 100 mg/L logam K_2CrO_4 , lalu diinkubasi pada suhu $37^{\circ}C$ selama 24 jam. Koloni individu bakteri yang tumbuh menunjukkan bentuk dan warna yang bervariasi dipilih, dipetik, dan dimurnikan pada berikutnya media NA. Isolat bakteri murni dipertahankan pada nutrient agar pada suhu $4^{\circ}C$ dan di kultur ulang setiap 4 minggu. Sebagai kontrol digunakan media yang tidak mengandung logam berat untuk mengoreksi tidak tampaknya koloni disebabkan oleh tidak tahannya terhadap logam berat atau koloni tidak terambil (Abidin *et al.*, 2020; Elizabeth *et al.*, 2017; Guzman *et al.*, 2016; & Marzan *et al.*, 2017).

3.7.2 Seleksi Bakteri Tahan Logam Berat berdasarkan Uji *Maximum Tolerance Concentration* (MTC)

Konsentrasi maksimum yang dapat ditoleransi adalah konsentrasi logam berat tertinggi yang memungkinkan pertumbuhan setelah 48 jam. Koloni bakteri

yang diisolasi yang awalnya tumbuh pada NA yang dilengkapi dengan logam berat K_2CrO_4 terpapar pada peningkatan konsentrasi logam berat (200, 400, 600, 800, 1000 and 1200, 1500, 2000, 3000, 4000, 5000 mg/L). Pengujian toleransi mikroorganisme berakhir ketika penghambatan pertumbuhan lengkap diamati pada agar nutrisi dengan suplementasi logam (Elizabeth *et al.*, 2017; Guzman *et al.*, 2016; & Marzan *et al.*, 2017).

3.8 Karakterisasi Morfologi Bakteri Tahan Logam Berat Cr

3.8.1 Karakterisasi morfologi koloni bakteri

Identifikasi bakteri dilakukan dengan mengamati langsung ciri-ciri morfologi, meliputi: ukuran, bentuk, warna, elevasi, tepian dan permukaan pada bakteri yang tumbuh pada media padat NA+100 mg/L K_2CrO_4 , kemudian menghitung jumlah koloni yang tumbuh dengan menggunakan *colony counter*.

3.8.2 Karakterisasi morfologi sel bakteri pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan dengan preparat ulas ditetesi larutan Kristal violet sebanyak 2-3 tetes dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir. Gram's Iodine Mordant (Emerck) ditetaskan sebanyak 2-3 tetes di atas permukaan preparat lalu didiamkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya preparat ditetesi etil alkohol 95% setetes demi setetes sampai kristal violet tercuci. Kemudian dicuci dengan air mengalir kembali. Berikutnya preparat ditetesi safranin selama 45 detik dan dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan dan diamati dengan mikroskop (Abidin *et al.*, 2020; Guzman *et al.*, 2016; & Marzan *et al.*, 2017).

3.9 Identifikasi Molekuler Bakteri Tahan Logam Berat Cr menggunakan marka 16S rRNA

Bakteri yang diidentifikasi dengan pendekatan molekuler yaitu bakteri yang memiliki aktivitas tinggi tahan terhadap logam Cr. Analisis dilakukan berdasarkan protokol tempat uji molekuler (Abidin *et al.*, 2020; Gupta *et al.*, 2012; Guzman *et al.*, 2016; Jiang *et al.*, 2008; Marzan *et al.*, 2017 & Rajeev *et al.*, 2021)

3.9.1 Isolasi DNA Bakteri

Isolasi genom bakteri dilakukan dengan metode *boiling* (Dashti *et al.*, 2009). Sebanyak 2-3 ose koloni bakteri dimasukkan ke dalam tabung appendorf 1.5 mL yang berisi 100 μ L 1/10 *Nucleus free water*. Suspense di vortex sampai homogen. Proses *boiling* dilakukan di dalam penangas air pada suhu 95-100 $^{\circ}$ C, selama 30 menit. Suspensi selanjutnya disentrifuge dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit hingga terpisah supernatant dan *pellet*. Supernatant dipindahkan ke dalam tabung ependorf baru dan di simpan suhu -20 $^{\circ}$ C sampai akan digunakan sebagai template DNA.

3.9.2 Amplifikasi PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

PCR merupakan suatu proses sintesis enzimatik untuk melipatgandakan suatu sekuens nukleotida tertentu secara *in vitro* (di dalam tabung PCR). Prosesnya meliputi 3 tahap yaitu denaturasi, annealing dan ekstention. Prosedur ini dikerjakan pada sampel DNA yang telah diisolasi. “PCR mix” dimasukkan ke dalam tabung PCR:

Tabel 3.2 Komposisi PCR mix (Dashti *et al.*, 2009, Abidin *et al.*, 2020, & Marzan *et al.*, 2017)

Reaksi	(μ L)
<i>KAPA Master mix PCR</i>	25
<i>63F (Forward primer)</i>	1
<i>1387R (Reverse primer)</i>	1
<i>Nucleus free water</i>	18
DNA template	5
Total PCR mix	50

Total PCR mix 45 μ L + 5 μ L sampel DNA, jadi setiap sampel 50 μ L. Kemudian dimasukkan dalam mesin PCR. Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan mesin PCR (DNA *thermal cycler*). Untuk amplifikasi PCR, tahap awal pre-denaturasi pada suhu 94°C selama 2 menit, selanjutnya denaturasi suhu 94°C selama 1 menit, annealing pada suhu 58°C selama 45 detik, ekstensi 72°C selama 90 detik sebanyak 35 siklus dilanjutkan dengan ekstensi akhir suhu 72°C selama 5 menit dan final hold pada suhu 4°C.

3.9.3 Elektroforesis

Proses elektroforesis diawali dengan pembuatan gel agarose. Pembuatan gel agarose dilakukan dengan membuat agaras 2% dengan melarutkan 2 gram agarose dalam 100 mL TBE. Kemudian memanaskannya sampai mendidih dan larut dengan menggunakan *hot plate and stirrer*. Selanjutnya ditambahkan 1 μ L ethidium bromida (2 μ g/mL) dan memasukkan ke dalam pencetak gel yang telah dipasang sisir. Setelah agarosa memadat (membutuhkan waktu sekitar 30 menit) selanjutnya dimasukkan ke dalam tank elektroforesis yang berisi larutan TBE 0,5%. Kemudian memasukkan DNA sampel hasil amplifikasi sebanyak 5 μ L, kemudian untuk mengetahui ukuran produk amplifikasi PCR maka dimasukkan marker 100

bp pada sumur pertama dan diikuti DNA sampel hasil amplifikasi pada sumur kedua dan seterusnya. Selanjutnya elektroda dihubungkan dengan power supply kemudian menyalakan selama 60 menit dengan tegangan 100 volt. Setelah itu, alat elektroforesis dimatikan kemudian gel diambil. Selanjutnya gel dipindahkan ke dalam alat *gel doc* kemudian hasilnya diamati pada komputer.

3.9.4 Sekuensing

Sampel hasil PCR dan primer forward 63F dikirim ke 1st BASE Malaysia untuk di sekuensing bertujuan untuk menentukan dan mengetahui urutan basa-basa nukleotida pada fragmen DNA. Setelah di sekuensing berupa sekuen nukleotida sepanjang ± 1.300 bp. Nukleotida tersebut dimasukkan dalam program BLAST secara online pada website (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) untuk dicocokkan dengan data spesies pada Gen bank. keidentikan yang digunakan pada range 80-100 %. Sekuen Gene Bank yang paling mirip; dicirikan dengan nilai *Max Score* dan *Total Score* sama, *Query Coverage* mendekati 100%, *E-value* mendekati 0, dan *Max Ident* mendekati 100%.

3.10 Uji Kemampuan Bakteri Mengakumulasi Logam Berat Cr

Isolat tahan logam yang diperoleh dalam agar nutrisi yang dilengkapi dengan logam K_2CrO_4 diinokulasi dalam LB cair yang dilengkapi dengan 100 mg/L logam berat yang diinkubasi pada 37°C selama 24 jam pada inkubator shaker (150 rpm). Pertumbuhan diamati sebagai fungsi biomassa dengan mengukur absorbansi pada 600 nm menggunakan spektrofotometer. Pertumbuhan isolat pada LB tanpa suplementasi logam (kontrol) dan dengan suplementasi logam (uji) dilakukan dan dibandingkan dengan secara terpisah kerapatan optik pada 600 nm (OD_{600nm}) ke waktu dalam interval 0, 24, 48 dan 72 jam inkubasi. Kemudian dengan waktu yang

sama mengukur konsentrasi logam berat pada pertumbuhannya terhadap aktivitas enzim reduktase Cr dengan cara analisis AAS. Filtrat mikrobiologi dipipet masing-masing sebanyak 25 mL ke dalam gelas kimia, Ditambahkan 5 mL HNO₃ 37% ke dalam masing-masing gelas kimia, Dipanaskan gelas kimia yang berisi sampel hingga berkurang setengah larutannya (proses destruksi), pemanasan menggunakan *hotplate*, Setelah itu ditambahkan akuades sekitar 10 mL, Kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring Whatmann No.42 ke dalam labu ukur 50 mL, Lalu di impitkan hingga tanda batas labu menggunakan akuades dan dihomogenkan. Sampel yang sudah dipreparasi, dimasukkan ke dalam kuvet, Dan dilakukan proses injeksi menggunakan alat AAS type AA-7000 Shimadzu, jika sampel terukur dan melewati batas standar maka diperlukan proses pengenceran sehingga diperoleh faktor pengenceran yang masuk ke dalam perhitungan (Elizabeth *et al*, 2017; Guzman *et al*, 2016; Marzan *et al*, 2017 & Tariq *et al*, 2019).

3.11 Teknik Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan dan analisis data menggunakan analisis menurut Marzan *et al*, (2017) untuk pengukuran kadar logam Ni, Cr, Zn, Cu. Dan Pb dengan menggunakan metode AAS yang dilakukan di Laboratorium. Kadar logam pada sampel diperoleh dengan menggunakan rumus perhitungan berikut:

$$C = \frac{c \times V}{A}$$

Keterangan:

C: Kadar logam dalam sampel ($\mu\text{g}/\text{gr}$)

c: Konsentrasi larutan sampel (truevalue)

V: Volume penetapan/pengencer (mL)

a: Berat sampel basah (gram)

Analisis resiko bahaya lingkungan: Potensi risiko lingkungan menggunakan skrining kuantitatif *Hazard Quotient* (HQ) ditentukan. Di sini, perkiraan ekotoksisitas (dosis) terhadap respons paparan dibandingkan untuk memperkirakan potensi risiko lingkungan. Konsentrasi logam di lokasi latar belakang sekitar area pantai pesisir hilir dari perhatian area ditentukan. Rasio paparan yang diperkirakan terhadap konsentrasi efek yang dianggap mewakili konsentrasi lingkungan yang aman atau patokan penyaringan ditunjukkan dalam formulasi berikut:

$$HQ = EEC / \text{patokan skrining}$$

dimana, diperkirakan EEC (maksimum) konsentrasi kontaminan lingkungan di situs, berapa banyak kontaminan logam di permukaan air dan sedimen (misalnya, kontaminan mg / kg sedimen). Screening benchmark umumnya adalah tingkat efek tanpa-efek (NOAEL), jika: HQ <0.1 tidak ada bahaya, HQ 0.1-1.0 bahaya rendah, HQ 1.1-10 bahaya sedang dan HQ > 10 bahaya tinggi 8-10.

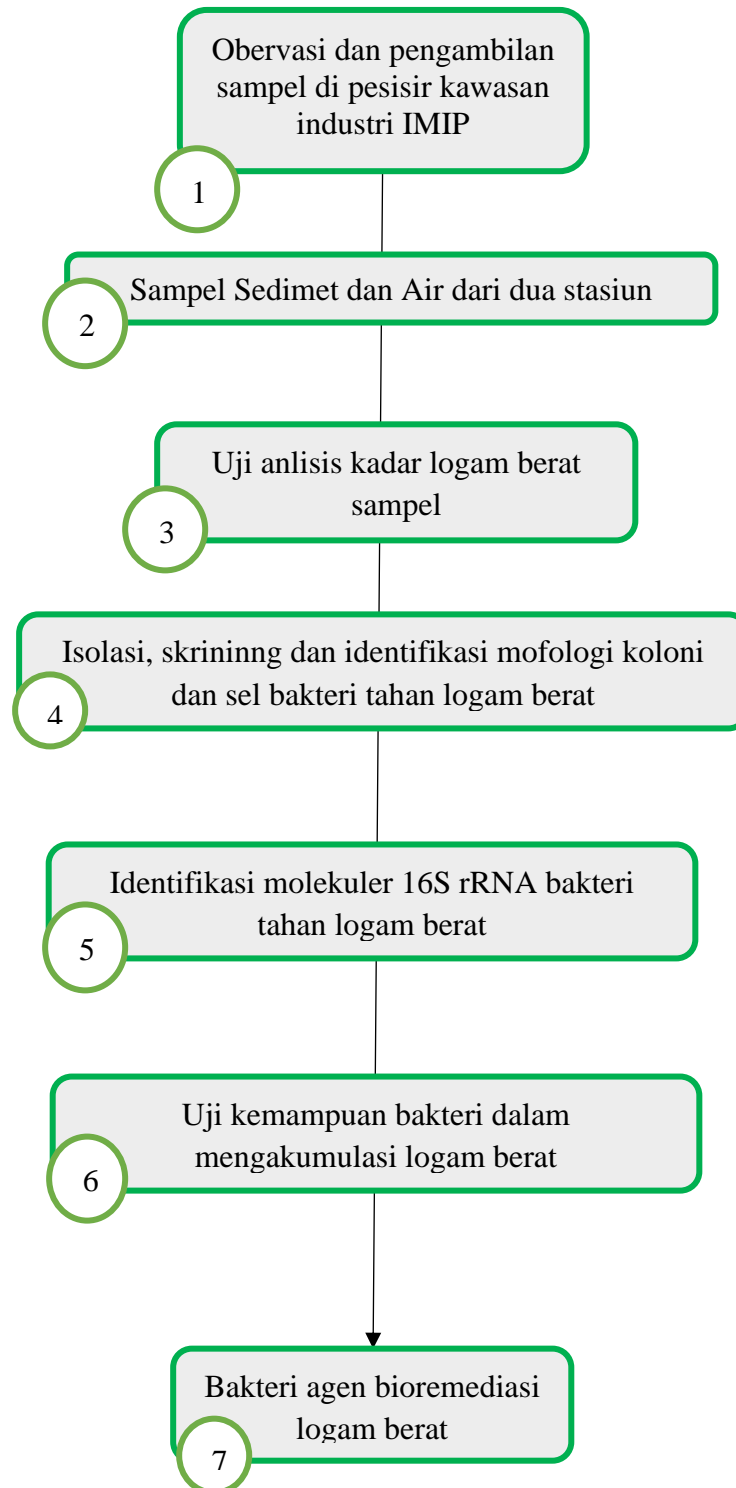
Pada pengukuran konsentrasi pada aktivitas enzim isolat bakteri tahan logam yaitu ekstrak reduksi logam berat total ini dianalisis dengan Spektrofotometer Serapan Atom (Shimadzu AA-7000, Jepang) dan hasilnya dibandingkan dengan kontrol untuk menghitung kapasitas degradasi logam berat (%) sebagai berikut (Marzan *et al*, 2017):

$$= \frac{\text{Konsentrasi logam berat digunakan}}{\text{Konsentrasi logam ditambahkan LB ppm}} \times 100\%$$

Analisis data dilakukan dengan menggunakan program Microsoft Excel 2010. Sedangkan analisis bioinformatika yaitu data hasil sekuensing dianalisis keberadaan dan keanekaragaman bakteri yang tahan logam berat dengan

mensejajarkan sekuens DNA yang dihasilkan menggunakan program *Clustal W*. Selanjutnya dilakukan konstruksi pohon filogenetik dengan metode *Neighbor-Joining* menggunakan program MEGA 7 (Guzman *et al.*, 2016; Rajeev *et al.*, 2021 & Wang *et al.*, 2021).

Kerangka Operasional



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisis Cemar Logam Berat Pesisir Kawasan Industri

Kondisi pesisir kawasan industri di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Selatan dengan berdasarkan pengamatan fisik dan kimia perairan yang didapatkan di lokasi pengambilan sampel dari dua stasiun (S), meliputi: pH, suhu, salinitas, dan kekeruhan dengan membanding standar baku mutu perairan Kementrian Lingkungan Hidup No.51/2004 dapat dilihat tabel 4.1. Nilai derajat keasaman (pH) air yaitu S1= 7,56 dan S2= 7,09 termasuk dalam kategori aman untuk pertumbuhan biota perairan berdasarkan standar baku mutu dengan interval 7,0-8,5. Menurut Xiao *et al.*, (2017) umumnya pH optimum untuk pertumbuhan bakteri adalah antara 6,5 dan 7,5 karena jika air bersifat sangat asam atau basa, konsentrasi mikroorganisme berkurang, kemudian mikroorganisme tidak dapat mentolerir tingkat pH diatas 9,5 atau lebih rendah dari 4,0. Suhu air yang teramati di lokasi pengambilan sampel berkisar 26,7°C - 29,9°C masih memenuhi standar baku mutu air laut untuk biota yaitu 28-30 °C. Salinitas pada lokasi pengambilan sampel berkisar 22% - 30% yang menunjukkan adanya sumber air tawar yang menurunkan salinitas sesuai dengan kriteria salinitas standar baku mutu yaitu 33-34%. Sedangkan kekeruhan air menunjukkan perbedaan warna yaitu S1= keruh coklat kemerah dan S2= jernih.

Kondisi fisik dan kimia sangat mempengaruhi kadar logam berat di perairan, selain itu faktor buangan limbah dari industri perusahaan sekitarnya menjadi faktor penentu. Menurut Nurhamiddin & Ibrahim, (2018) tingkat pencemaran di perairan dapat diketahui melalui kandungan pencemar dalam air dan sedimen. Kedua media ini saling berinteraksi melalui proses fisika, kimia, dan

biologi. Menurut Singare *et al.*, (2012) logam berat paling umum polutan di perairan dan biota adanya sumber alami ekologi atau pengaruh antropogenik. Akumulasi dan distribusi logam berat dapat meningkat di tanah, air dan lingkungan karena terjadi pengendapan dan sedimentasi sehingga mempengaruhi organisme akuatik. Menurut Akkajit *et al.*, (2018) distribusi logam dalam air dan sedimen tergantung dari jumlah faktor pH dan konsentrasi logam, logam berat yang masuk ke pantai laut dapat langsung terlarut dalam air atau teradsorpsi ke sedimen. Adapun hasil pengamatan analisis kadar logam berat pada sampel sedimen dan air di dua stasiun pesisir kawasan industri IMIP pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Konsentrasi logam berat pesisir dengan indeks pencemaran berdasarkan (ANZECC & ARMCANZ, 2000; IADC/CEDA, 1997) dan (KMNLH No. 51 Thn, 2004)

Parameter	Analisis Sampel				Baku Mutu	
	Stasiun 1		Stasiun 2		S (mg/kg)	A (mg/L)
	S (mg/kg)	A (mg/L)	S (mg/kg)	A (mg/L)		
Ni	407,31	tt	205,04	0,13	15,9	0,075
Cr	2150,44	0,11	250,46	0,11	52,3	0,002
Zn	48,36	tt	142,63	tt	124	0,095
Cu	4,95	tt	3,415	tt	18,7	0,050
Pb	4,045	tt	2,425	tt	30,2	0,005
pH	-	7,56	-	7,09	-	7-8,5
Suhu °C	-	26,7	-	29,9	-	28-30
Salinitas %	-	33	-	34	-	33-34

Keterangan : Tidak Terdeteksi (tt)
Sedimen (S)
Air (A)

Berdasarkan hasil analisis kadar logam berat tabel 4.1 bahwa terdapat perbedaan nilai konsentrasi dengan berdasarkan indeks pencemaran pada sedimen

dan air di dua stasiun yang dilakukan dua kali pengulangan. Hasil menunjukkan kondisi pesisir kawasan industri dikategorikan telah tercemar logam berat tertinggi yaitu Cr kemudian Ni pada sampel sedimen. Pencemaran logam tersebut terjadi karena pengaruh aktivitas perkapalan di Jetty/pelabuhan, limbah tailing dari perusahaan, dan limbah air buangan perusahaan yang bermuara ke laut. Hal ini juga berdasarkan laporan yang sama pada penelitian sebelumnya Saimu *et al.*, (2015) dan Rastina *et al.*, (2020) bahwa kondisi perairan Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah telah tercemar logam berat karena aliran limbah perusahaan tambang yang dialirkan ke sungai bermuara ke laut.

Penelitian yang sama yang melaporkan pencemaran logam berat Cr tertinggi pada sedimen yaitu Gutierrez *et al.*, (2010) telah melaporkan analisis sedimen dari kolam San German menunjukkan adanya logam berat Cr, As, Se, Cd pada konsentrasi masing-masing 409, 8, 3, 3 mg/kg berat kering. Logam berat Cr menunjukkan konsentrasi tertinggi pada sedimen dengan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) jika dibandingkan dengan logam lainnya. Banyak dan sedikitnya konsentrasi logam berat tergantung dari aktivitas antropogenik menurut Pratiwi (2020) secara alami logam berat dapat ditemukan dalam jumlah sedikit namun jika aktivitas manusia dan pertambangan berkembang pesat dapat menyebabkan polutan tinggi, tingkat konsentrasi logam berat dalam perairan terbagi menjadi berat, sedang, dan non-polusi. Golongan polusi berat dikategorikan memiliki konsentrasi logam berat yang tinggi, polusi sedang memiliki konsentrasi logam berat dalam air berada batas nilai ambang batas (batas marginal), sedangkan non-polusi memiliki kandungan logam berat rendah dan bahkan tidak terdeteksi.

Menurut Opaluwa *et al.*, (2012) dan Zarezadeh *et al.*, (2017) bahwa ekosistem pesisir dan laut sangat berpotensi pada resiko lingkungan karena konsentrasi logam berat yang tinggi berada dalam sedimen. Logam berat yang masuk ke lingkungan perairan dapat terakumulasi dalam sedimen melalui antropogenik sehingga logam berat yang tidak larut akan terikat dengan lumpur, pencemaran logam berat di perairan sangat berpotensi untuk membahayakan lingkungan terutama biota laut dan kesehatan manusia dengan melalui rantai makanan. Adapun resiko bahaya lingkungan di lokasi penelitian stasiun 1 dan 2 pada sampel sedimen (S) dan air (A) pesisir kawasan industri IMIP yaitu tabel 4.2

Tabel 4.2 Potensi resiko lingkungan (HQ)

Parameter	Potensi Resiko Lingkungan				<i>Hazard Quotient (HQ)</i>			
	Stasiun 1		Stasiun 2		Stasiun 1		Stasiun 2	
	S	A	S	A	S	A	S	A
Ni	25.6	-	12.89	1.73	Tinggi	tidak	Tinggi	Sedang
Cr	41.1	55	4.7	55	Tinggi	Tinggi	Sedang	Tinggi
Zn	0.38	-	1.1	-	Rendah	tidak	Sedang	tidak
Cu	0.26	-	0.18	-	Rendah	tidak	Rendah	tidak
Pb	0.13	-	0.08	-	Rendah	tidak	Rendah	tidak

Berdasarkan potensi resiko lingkungan setiap stasiun bahwa terdapat perbedaan resiko dari berbagai jenis logam. Tabel tersebut menunjukkan bahwa yang memiliki tingkat resiko bahaya tinggi bagi lingkungan di semua yaitu sampel sedimen logam Cr, kemudian diikuti dengan logam berat Ni pada sampel sedimen stasiun 1 dikategorikan bahaya tinggi dan stasiun 2 kategori sedang. Sedangkan pada sampel air yang di kategorikan bahaya tinggi yaitu logam Cr stasiun 1 dan 2, namun logam Zn, Cu, dan Pb di semua stasiun 1 dan 2 baik sedimen maupun air laut dikategorikan bahaya sedang, rendah, dan tidak bahaya.

Logam berat merupakan salah satu jenis polutan yang beracun dapat menyebabkan kematian dan non-kematian seperti gangguan pertumbuhan, perilaku dan karakteristik morfologi dalam ekosistem perairan. Logam berat dapat masuk ke tubuh organisme perairan melalui insang, permukaan tubuh, saluran pencernaan, otot dan hati. Logam berat tersebut terakumulasi dalam tubuh organisme perairan sehingga terjadi penyerapan (absorpsi). Penyerapan logam melalui pencernaan yaitu lambung, selain itu utama terjadi penyerapan logam melalui udara yaitu paru-paru untuk hewan darat dan insang untuk hewan air. Logam berat yang terserap yang diakumulasi akan didistribusikan dengan cepat ke seluruh tubuh. Tingkat distribusi ke masing-masing organ terkait dengan aliran darah, membran sel, dan afinitas komponen organ terhadap logam, kemungkinan akan membahayakan manusia jika mengonsumsi organisme perairan yang mengandung logam berat maka secara tidak langsung manusia terjadi akumulasi logam sehingga memberikan dampak negatif bagi kesehatan seperti radang tenggorokan, nyeri kepala, dermatitis, alergi, anemia, gagal ginjal, pneumonia, dan sindrom ((Pratiwi, 2020).

Berdasarkan data analisis cemaran logam berat pesisir kawasan industri IMIP di Desa Fatufia, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah yang menjadi pencemar logam berat tertinggi adalah logam berat Cr dengan memiliki potensi bahaya yang tinggi pada lingkungan, kemudian dilakukan uji lanjut untuk isolasi dan identifikasi bakteri sebagai pengakumulasi logam berat krom.

4.2 Isolasi dan Seleksi Bakteri Tahan Logam Cr

4.2.1 Isolasi Bakteri Tahan Logam

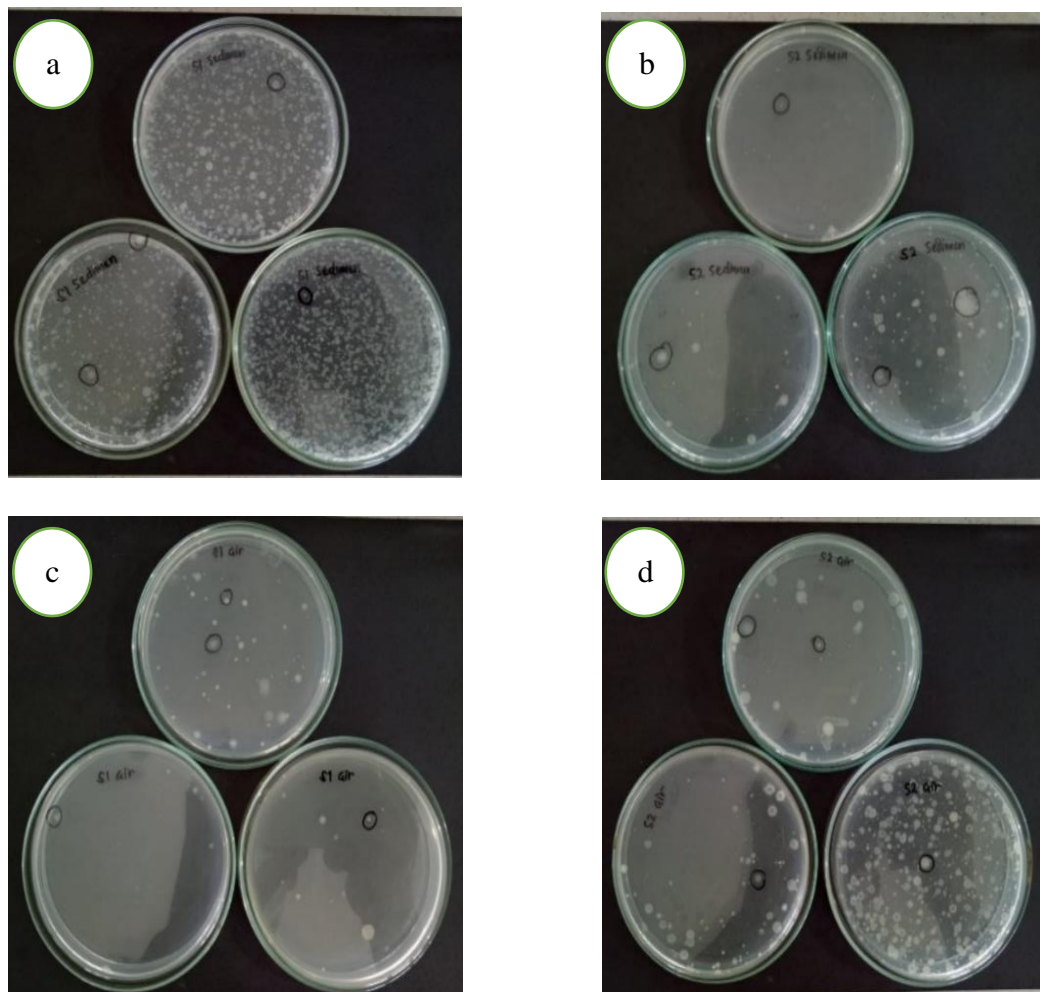
Isolasi dan skrining bakteri yang diambil dari sampel sedimen dan air pada dua stasiun (S1 dan S2) pesisir kawasan industri IMIP, jadi total sampel yang

digunakan adalah 4 yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan dari beragam bakteri dalam mengakumulasi logam berat Cr sehingga didapatkan bakteri potensial yang tahan terhadap logam berat Cr. Menurut Jufri (2020) bahwa teknik isolasi bertujuan untuk memisahkan bakteri dari lingkungan alaminya sehingga didapatkan isolat murni yang tidak bercampur dengan bakteri lain. Semua sampel diambil (sedimen 1 gram dan air 1 mL) ditumbuhkan pada media cair NB (*Nutrient Borth*) yang diperkaya dengan logam Cr 100 mg/L (K_2CrO_4) bertujuan sebagai menginduksi bahwa bakteri yang tumbuh adalah bakteri yang tahan logam Cr. Jadi, total stok kultur cair 4. Isolat kultur cair dilakukan pengenceran bertujuan untuk mengurangi kepadatan atau konsentrasi populasi bakteri pada sampel sehingga memudahkan isolat murni secara terpisah, pengenceran yang diambil adalah pengenceran 10^{-3} yang kemudian ditumbuhkan dan dimurnikan pada media padat NA (*Nutrient Agar*) pH 7 yang mengandung logam Cr dengan masing-masing sampel dilakukan 3 kali ulangan selama diinkubasi selama 48 jam dengan suhu $37^{\circ}C$, kemudian semua ulang dari 4 sampel diambil dan dipilih 4 isolat bakteri yang mewakili populasi sampel jadi total isolat murni yang didapatkan adalah 16 isolat bakteri seperti gambar 4.1 dan gambar 4.2.

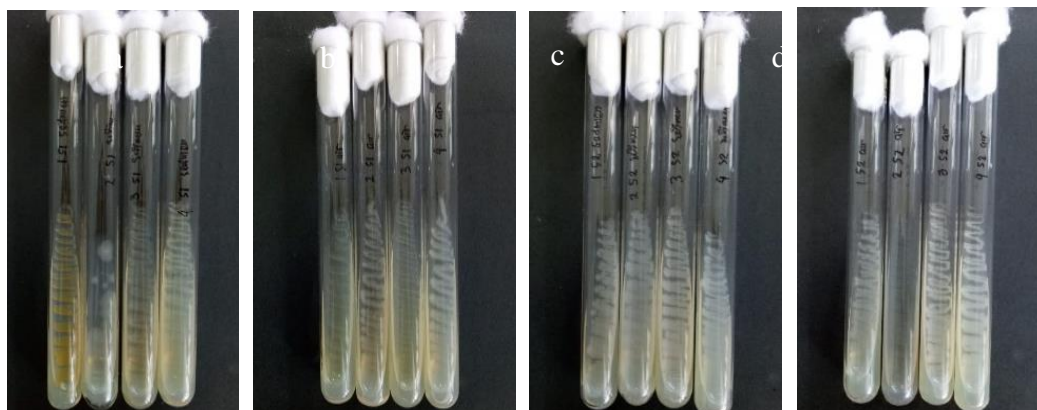
Penggunaan media cair dan padat tujuan untuk pertumbuhan bakteri menurut Gottschal & Prins, (2000), Teixeira & Merquior, (2014), dan Walter *et al.*, (2010) tujuan media cair digunakan untuk pertumbuhan dan metabolisme bakteri secara homogen. Media padat secara umum digunakan untuk kultur bakteri dan memiliki tingkat keberhasilan tinggi untuk isolasi bakteri sehingga memudahkan untuk diamati morfologi, bentuk, sifat-sifat bakteri karena bakteri dapat tumbuh terpisah dan sel-sel menyebar sedangkan media selektif untuk

mendukung pertumbuhan hanya beberapa bakteri dengan memasukkan substrat tertentu seperti penambahan logam Cr pada media untuk mendeteksi bakteri yang terpilih.

Cara untuk mendapatkan kultur murni isolat bakteri dengan menggunakan teknik penggoresan media padat. Menurut Rahadi *et al.*, (2019) teknik *streak plate* yang bertujuan untuk mengevaluasi kemurnian kultur bakteri, meneliti keragaman spesies dalam sampel, memisahkan spesies dari kultur campuran sehingga biakan murni dapat dibuat, dan mempelajari karakteristik koloni. Paling umum teknik ini dilakukan untuk mendapatkan koloni terisolasi.



Gambar 4.1 Isolasi bakteri tahan terhadap logam Cr. (a) sedimen S1, (b) sedimen S2, (c) air S1, dan (d) air S2



Gambar 4.2 Isolat murni bakteri resistan terhadap Cr. (a) sedimen S1, (b) air S1, (c) sedimen S2, dan (d) air S2

Berdasarkan hasil isolasi bakteri tahan logam gambar 4.1 menunjukkan adanya perbedaan jumlah dan kelimpahan bakteri pada kedua stasiun. Stasiun 1 sampel sedimen yang memiliki jumlah bakteri paling banyak yang dikategorikan terlalu banyak untuk dihitung (TBUD) dibandingkan dengan jumlah bakteri sedimen stasiun 2 (432 koloni) hal ini dipengaruhi pada tekstur sedimen yang berbeda Stasiun 1 memiliki tekstur sedimen yang halus, gambut dan berwarna coklat. sedangkan Stasiun 2 memiliki tekstur yang kasar berpasir, padat/berbatu dan warna hitam. Pada sampel air stasiun 1 memiliki jumlah bakteri lebih banyak (359 koloni) dibandingkan dengan jumlah bakteri air stasiun 1 (86 koloni) karena dipengaruhi kekeruhan air stasiun memiliki warna keruh coklat, sedangkan stasiun 2 memiliki warna air yang jernih. Menurut Fahrudin *et al*, (2020) sedimen merupakan sumber nutrisi bagi bakteri karena dipengaruhi oleh zat-zat organik dan anorganik yang mengendap selain itu pengaruh erosi pada permukaan air mengalir yang membentuk sedimen sehingga membawa bakteri.

Senyawa krom sangat banyak terdapat dalam sedimen dan air dari limbah industri. Menurut Adhani & Husaini, (2017) pencemaran krom berasal dari buangan industri-industri pelapisan krom, pabrik tekstil, pabrik cat, penyamakan

kulit, pabrik tinta dan penyulingan minyak bumi. Menurut Xiao *et al.*, (2017) logam krom adalah salah satu dari tujuh belas bahan kimia dengan bahaya tertinggi bagi kesehatan manusia menurut Badan perlindungan lingkungan Amerika Serikat (USEPA). Menurut *World Health Organisation* (WHO), konsentrasi maksimum kromium dalam air minum tidak boleh lebih dari 0,05 mg/L karena tingkat kelarutan tinggi dalam air, hal ini bersifat beracun dan karsinogenik. Menurut Marzan *et al.*, (2017) toksisitas dan mobilitas Cr^{6+} yang lebih tinggi dibandingkan dengan Cr^{3+} membuatnya menjadi perhatian serius. Menurut Guzman *et al.*, (2016) semua bakteri yang dipilih tidak ada resistensi terhadap dua atau lebih logam dan memiliki mekanisme toleransi tahan logam berbeda-beda karena bakteri memiliki resistensi yang bervariasi karena mungkin termasuk kompleksasi, pengikatan dengan selubung sel, reduksi logam, dan penghabisan logam.

Berdasarkan hasil isolasi dan skrining bakteri tahan logam berat Cr dari 4 sampel didapatkan 4 isolat / sampel yang mewakili populasi sehingga total isolat murni adalah 16 isolat bakteri yang akan di uji lanjut pada uji toleransi.

4.2.2 Bakteri Tahan Logam Cr berdasarkan *Maximum Tolerance Concentration* (MTC)

Secara umum bakteri endemik dalam lingkungan terkontaminasi mampu beradaptasi dan terjadi metabolisme pada senyawa tersebut sehingga menunjukkan berbagai toleransi, resistensi dan kemampuan detoksifikasi. kombinasi toleransi tinggi dan ketahanan dengan kemampuan mendegradasi Cr(VI) ke Cr(III) adalah salah satu parameter terpenting untuk dipertimbangkan dalam studi untuk skrining mikroorganisme dengan potensi bioremediasi (Xiao *et al.*, 2017).

Tahap ini semua 16 isolat bakteri diuji *Maximum tolerance concentration* (MTC) untuk mengetahui batas maksimum kemampuan pertumbuhan bakteri dalam bertahan terhadap konsentrasi logam Cr terus ditingkatkan pada media NA dengan pH 7 selama waktu inkubasi 48 jam dengan suhu 37⁰C sehingga didapatkan hasil pada tabel 4.5 yaitu;

Tabel 4.3 Uji *Maximum Tolerance Concentration* (MTC)

Konsentrasi K ₂ CrO ₄ (mg/L)	Kode Isolat Stasiun 1								Kode Isolat Stasiun 2							
	Sampel Sedimen				Sampel Air Laut				Sampel Sedimen				Sampel Sedimen			
	S1 .1	S1 .2	S1 .3	S1 .4	A1 .1	A1 .2	A1 .3	A1 .4	S2 .1	S2 .2	S2 .3	S2 .4	A2 .1	A2 .2	A2 .3	A2 .4
200	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
400	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
600	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
800	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1200	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1500	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2000	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
3000	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+
4000	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+
5000	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : (+) Bakteri tumbuh

(-) Bakteri tidak tumbuh

Berdasarkan tabel tersebut dapat dilihat bahwa jumlah 16 isolat bakteri memiliki pertumbuhan dan kemampuan berbeda-beda untuk bertahan dalam mengakumulasi logam berat Cr (K₂CrO₄) dengan indikator (+) bakteri tumbuh dan (-) bakteri tidak tumbuh. Semua bakteri masih tumbuh dan bertahan pada konsentrasi 200-1200 mg/L, ketika konsentrasi Cr ditambah 1500–5000 mg/L bahwa pertumbuhan dan aktivitas reduksi isolat bakteri mulai menurun dan bahkan

tidak tumbuh, namun hanya isolat sedimen stasiun 1 kode S1.1, S1.2 dan S1.4 masih dapat tumbuh dan bertahan pada konsentrasi 5000 mg/L sehingga bakteri tersebut adalah bakteri berpotensi sebagai agen bioremediasi logam berat Cr. Menurut Guzman *et al.*, (2016) bahwa mikroorganisme yang berbeda menunjukkan respons yang bervariasi terhadap logam. Menurut Xiao *et al.*, (2017) bahwa jika konsentrasi logam Cr lebih sedikit dapat berkurang tingkat toksisitas Cr dan pengurangan jumlah sel, kemudian reduktase logam Cr bergantung konsentrasi krom karena konsentrasi tinggi dapat menurunkan aktivitas bakteri.

Penelitian yang serupa dalam pengujian toleransi bakteri tahan terhadap logam Cr yaitu menurut Kafilzadeh & Saberifard, (2016) melaporkan pertumbuhan bakteri sangat terhambat karena toksisitas Cr(VI) pada konsentrasi yang lebih tinggi dengan pengujian Cr(VI) konsentrasi 400, 600, 800, dan 1000 mg/L, setelah 48 jam, kemudian regangan kode isolat FY1 berkurang logam Cr berturut-turut 332 mg/L (83,0%), 356 mg/L (59,3%), 277 mg/L (34,6%), dan 215 mg/L (21,5%), sedangkan regangan isolat WZ2 berkurang 293 mg/L (73,3%), 296 mg/L (49,3%), 237 mg/L (29,6%), dan 199 mg/L (19,9%) dari Cr(VI) masing-masing. Penelitian yang melaporkan bakteri tahan logam berat dengan konsentrasi tinggi yaitu menurut Kabir *et al.*, (2018) beberapa bakteri resistan krom yang dapat bertahan atau mengurangi Cr (VI) pada konsentrasi 1500–2500 mg/L $K_2Cr_2O_7$. Menurut Hoq, (2011) mendapatkan dua isolat IFR-2 dan IFR-3 menunjukkan tingkat toleransi tertinggi, tumbuh dengan baik dengan adanya 2000 mg/l Cr (VI).

Berdasarkan hasil uji MTC bakteri tahan logam Cr dari 16 isolat terpilih bahwa 2 isolat yang dipilih dan mewakili bakteri toleran terhadap konsentrasi

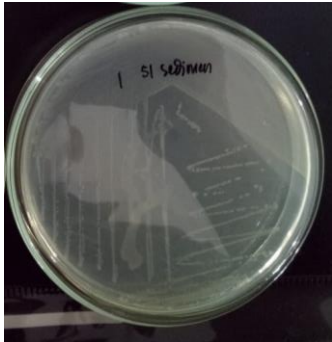
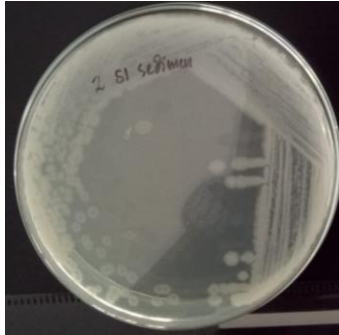
logam berat tertinggi yaitu isolat bakteri kode S1.1 dan S1.2 dari sampel sedimen stasiun 1 dengan tingkat toleransi logam berat Cr 5000 mg/L.

4.3 Karakterisasi Morfologi Bakteri Tahan Logam Berat Cr

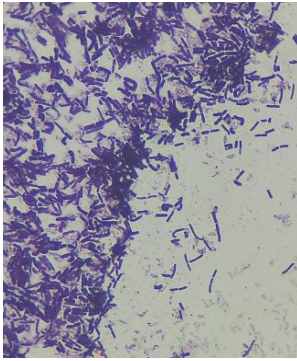
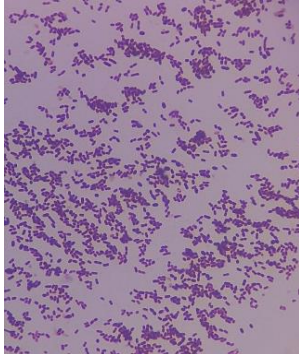
Karakterisasi morfologi bakteri dilakukan berdasarkan hasil uji MTC yang didapatkan yaitu bakteri isolat S1.1 dan isolat S1.2 karena memiliki tingkat toleransi logam berat Cr tertinggi 5000 mg/L. secara umum identifikasi mikroorganisme dilakukan dengan mengamati ciri-ciri morfologi yang meliputi: ukuran, bentuk, warna, elevasi, tepian dan permukaan. Identifikasi mikroorganisme yang didasarkan pada morfologi tidak mampu memberikan informasi filogenik suatu mikroorganisme namun pengamatan morfologi sel tetap diperlukan sebagai tahap awal identifikasi lebih lanjut. Menurut (Rahadi *et al.*, 2019) identifikasi morfologi dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi morfologi makroskopis merupakan proses identifikasi yang bisa dilakukan secara langsung sedangkan identifikasi morfologi mikroskopis memerlukan mikroskop. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan dari masing-masing isolat yang ditemukan serta juga dapat digunakan sebagai dasar untuk proses identifikasi genus maupun spesies bakteri dengan uji lanjut (uji biokimia maupun uji molekuler). Pengamatan makroskopis dilakukan secara langsung menggunakan metode Benson. Karakteristik makroskopis diketahui dengan cara mengidentifikasi morfologi koloni bakteri seperti bentuk, bentuk tepian, warna, elevasi, dan sifat koloni apabila diamati di bawah cahaya (mengkilap atau suram).

Adapun hasil identifikasi morfologi bakteri yang didapatkan dengan cara mengidentifikasi bentuk bakteri yang ditemukan dan pewarnaan gram yaitu sebagai berikut:

a. Karakterisasi Morfologi koloni bakteri

Morfologi	Kode Isolat	
	S1.1	S1.2
Koloni		
Warna	Kuning	Putih
Bentuk	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>
Tepi	<i>Entire</i>	<i>Undulate</i>
Elevasi	<i>Flate</i>	<i>Flate</i>
Gambar		

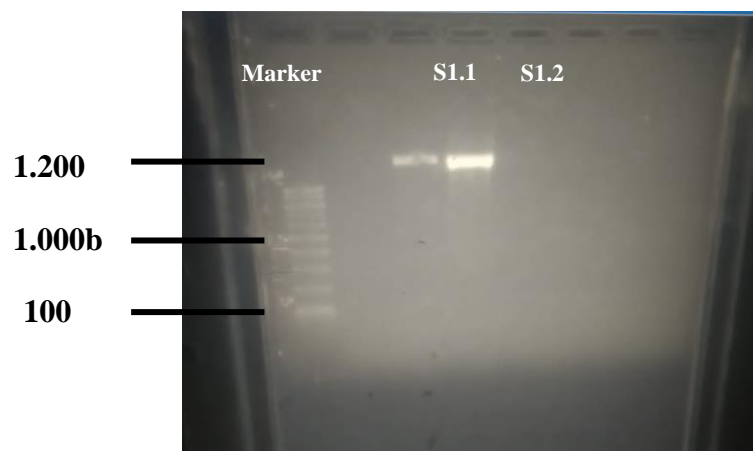
b. Karakterisasi Morfologi sel pewarnaan gram

Morfologi Sel	Kode Isolat	
	S1.1	S1.2
Bentuk Sel	<i>Basil (batang)</i>	<i>Basil (batang)</i>
Sifat Sel	Positif	Positif
Gambar		

4.4 Identifikasi Molekuler Bakteri Tahan Logam Berat Cr Menggunakan Marka 16S rRNA

Setelah dilakukan identifikasi morfologi bakteri secara fenotif yang merupakan identifikasi tahap awal, namun identifikasi ini masih dianggap lemah karena masih banyak kesamaan dan masih dapat diduga pada tingkat kelas dalam klasifikasi bakteri, maka perlu dilakukan uji molekuler untuk mengetahui jenis bakteri secara genetik/genotif pada kedua bakteri isolat S1.1 dan isolat S1.2. kedua isolat tersebut dilakukan identifikasi molekuler dan di determinasi dengan menggunakan primer universal yaitu forward primer 63F dan reverse primer 1387R untuk sekuen 16S rRNA. Gen 16S rRNA dianalisis secara lengkap di 1st BASE *sequencing* Int Malaysia. Analisis *cluste* pada sekuen tersebut dilakukan dengan program BLAST (*Basic Local Aligment Search Tool*) dari NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) secara online pada website (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Adapun hasil elektroforesis dari produk amplifikasi gen 16S dilakukan dengan menggunakan mesin PCR (*DNA Thermal Cyclcer*) ke dua isolat bakteri yaitu.



Gambar 4.3 Hasil elektroforesis dari produk amplifikasi gen 16S rRNA isolat S1.1 dan S1.2 ukuran ± 1200 bp

Hasil PCR dan elektroforesi kedua fragmen DNA dikirim ke PT. Genetika Science Indonesia yang kemudian dikirim ke 1st BASE sequencing INT di Malaysia untuk pemetaan pasang basa yang berhasil diamplifikasi, sehingga didapatkan hasil sekuensing yaitu:

Isolat S1.1

```

ANGACGGAACCTTCGGAGGGAAGGCAGTGAATGAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAAGGAAC
CTGCCTCAAGGATTGGGATAACTCCGAGAAATCGGAGCTAATACCGGATAGTTCATCGGACCGCATGGT
CCGTTGATGAAAGGCGCTTCGGCGTCACCTTGAGATGGCCTTGGGTGACATTAGCTAGTTGGTGGGGTA
ACGGCCACCAAGGCGACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACAC
GGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAAC
GCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTAAGGGAAGAACACGTACGAGAGGG
AATGCTCGTACCTTGACGGTACCTTACGAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA
CGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGCCTTTTAAAGTCTGATG
TGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGAGGGCCATTGGAACTGGAAGCCTTGAGTACAGAAGAGAAGAGT
GGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTTT
GGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCGGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCAC
GCCGTAAACGATGAGTGCTAGGTGTTGGGGGTTTCCGCCCTCAGTGCTGAAGCTAACGCATTAAGCA
CTCCGCCTGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGACAAGCGGTG
GAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGGAAGAACCTTACCAACTCTTGACATCCCATTGACCGCTTGA
GAGATCAAGTTTTCCCTTCGGGGACAATGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGA
GATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCCTTAGTTGCCAGCATTGAGTTGGGCACTCTA
GGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGAATT
GGGCTACCACGTGCTACATGGACGGTAAAAGGGCACCGAAACCC

```

Isolat S1.2

```

AAGTTGAGAGCTTGCTCTCAAGAAGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCATAA
GACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGTAATACCGGATAACATTTTGAAGTGCATGGTTTCGAAATTGA
AAGGCGGCTTCGGCTGTCACTTATGGATGGACCCGCGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCA
CCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGA
CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTG
AGTGATGAAGGCTTTTCGGGTCGTAATACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGG
CACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTG
GCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCC
CACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGAAAAGTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCC
ATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTCTGGTCTGTAA
CTGACACTGAGGCGGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTACATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAAC
GATCAGTGCT

```

Gambar 4.4 Hasil sekuensing urutan basa nukleotida kedua isolat bakteri terpilih

Hasil sekuensing yang diperoleh dari Malaysia selanjutnya dianalisis pada Gen Bank menggunakan analisis BLAST. Analisis BLAST dilakukan dengan tujuan untuk membandingkan hasil yang diperoleh dengan hasil sekuen DNA dari seluruh dunia yang didepositkan pada database Gen Bank. Analisis BLAST dilakukan secara online pada website NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Hasil analisis BLAST dari kedua isolat tahan logam seperti pada gambar di bawah ini.

deskripsi									
Ringkasan Grafis									
Penjajaran									
Taksonomi									
Urutan menghasilkan keberpilihan yang signifikan									
Unduh									
Pilih kolom									
Menunjukkan 100									
Isolat Bakteri S1.1									
GenBank									
grafis									
Jarak pohon hasil									
Penampil MSA									
Pilih Semua									
Na/N urutan dipilih									
Keterangan									
Nama ilmiah									
Skor Maks									
Skor total									
Sampul Kueri									
nilai E									
Per. identitas									
acc. Len									
Pencapaian									
<input checked="" type="checkbox"/>	Exiguobacterium indicum strain SHHR3-1 16S gen RNA ribosom, urutan p...	Exiguobac...	2194	2194	99%	0,0	99,50%	1461	KT216605.1
<input type="checkbox"/>	Exiguobacterium indicum strain IHB B.10090 16S gen RNA ribosom, uruta...	Exiguobac...	2191	2191	99%	0,0	99,42%	1519	KR233792.1
<input type="checkbox"/>	Exiguobacterium sp. regangan gen RNA ribosomal PS-23 16S, sekuens p...	Exiguobac...	2189	2189	99%	0,0	99,42%	1445	MK165152.1
<input type="checkbox"/>	Exiguobacterium sp. regangan gen RNA ribosomal PS-9 16S, sekuens par...	Exiguobac...	2189	2189	99%	0,0	99,42%	1429	MK165138.1
<input type="checkbox"/>	Exiguobacterium sp. strain IAE88 16S gen RNA ribosom, urutan parsial	Exiguobac...	2189	2189	99%	0,0	99,42%	1432	MK415037.1
<input type="checkbox"/>	Exiguobacterium sp. strain IAE18 16S gen RNA ribosom, urutan parsial	Exiguobac...	2189	2189	99%	0,0	99,42%	1435	MK414878.1
<input type="checkbox"/>	Exiguobacterium indicum strain PgBE19 16S gen RNA ribosom, urutan pa...	Exiguobac...	2189	2189	99%	0,0	99,42%	1529	MH144242.1
<input type="checkbox"/>	Exiguobacterium indicum strain K1 16S gen RNA ribosom, urutan parsial	Exiguobac...	2189	2189	99%	0,0	99,42%	1537	KY928088.1
<input type="checkbox"/>	Exiguobacterium sp. strain UPMCB-A0011 16S gen RNA ribosom, urutan ...	Exiguobac...	2189	2189	99%	0,0	99,42%	1394	KY784613.1

Descriptions		Graphic Summary	Alignments	Taxonomy				
Sequences producing significant alignments								
Download Select columns Show 10								
<input checked="" type="checkbox"/> select all 10 sequences selected Isolat Bakteri S1.2								
GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer								
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain L2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus thuringiensis	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1424	OP554706.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain W65 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus thuringiensis	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1443	OP537151.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain L1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus thuringiensis	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1369	OP493234.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus mobilis strain A84 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus mobilis	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1456	OP435779.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain HX0024 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp. (in: Bacteria)	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1454	OP268562.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain FX0030 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp. (in: Bacteria)	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1451	OP268525.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain BT-39 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp. (in: Bacteria)	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1406	OP247625.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain SWUSTb-79 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp. (in: Bacteria)	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1456	OP236693.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain VA34 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp. (in: Bacteria)	1397	1397	99%	0.0	99.74%	976	OP209939.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain V105 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp. (in: Bacteria)	1397	1397	99%	0.0	99.74%	909	OP209902.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus toyonensis strain SK-28 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus toyonensis	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1503	OL839979.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus toyonensis strain SK-12 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus toyonensis	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1503	OL839963.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain DEG11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus thuringiensis	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1544	OL830710.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus toyonensis strain PL317 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus toyonensis	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1442	OL824915.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus toyonensis strain OL303 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus toyonensis	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1433	OL824888.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus nitratireducens strain M1-10 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus nitratireducens	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1330	OL774671.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis serovar israelensis strain Bti-Pk 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus thuringiensis serov...	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1460	OL721864.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain SWA CA P1.19 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp. (in: Bacteria)	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1102	OL662954.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus toyonensis strain SA87 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus toyonensis	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1252	MZ540012.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus sp. (in: Bacteria) strain IM10-5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp. (in: Bacteria)	1397	1397	99%	0.0	99.74%	970	OL634885.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus cereus strain ATCC_14893 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus cereus	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1504	OK652568.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain SF_R 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus thuringiensis	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1448	OK054549.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain E3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus thuringiensis	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1437	OK054496.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus toyonensis strain 1/4R2A-Z-4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus toyonensis	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1443	OK035369.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain 1/4R2A-P-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus thuringiensis	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1373	OK035364.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus toyonensis strain 1/2R2A-Z-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus toyonensis	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1425	OK035360.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus thuringiensis strain GEB22 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus thuringiensis	1393	1393	99%	0.0	99.61%	1507	ON303633.1

Gambar 4.5 Hasil Analisis BLAST Bakteri Isolat S1.1 dan Isolat S1.2

Download GenBank Graphics Next Prev

Exiguobacterium indicum strain SHHR3-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Sequence ID: [KT216605.1](#) Length: 1461 Number of Matches: 1

Range 1: 50 to 1257 GenBank Graphics Next Match Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
2194 bits(1188)	0.0	1202/1208(99%)	3/1208(0%)	Plus/Plus
Query 3		GACGGAACCTTCGGAGGGAAGGCAGTGGAAATGAGCGCGGACGGGTGAGTAACACGTAA		62
Sbjct 50		GACGGAACCTTCGGAGGGAAGGCAGTGGAAATGAGCGCGGACGGGTGAGTAACACGTAA		109
Query 63		GGAACTTCCTCAAGGATTGGGATAACTCCGAGAAATCGGAGCTAATACCGGATAGTTCA		122
Sbjct 110		GGAACTTCCTCAAGGATTGGGATAACTCCGAGAAATCGGAGCTAATACCGGATAGTTCA		169
Query 123		TCGGACCGCATGGTCCGTTGATGAAAGGCGCTTCGGCGTACCTTGAGATGGCCTTGCGG		182
Sbjct 170		TCGGACCGCATGGTCCGTTGATGAAAGGCGCTTCGGCGTACCTTGAGATGGCCTTGCGG		229
Query 183		TGCATTAGCTAGTTGGTGGGTAACGGCCACCAAGGCGACGATGCATAGCCGACCTGAG		242
Sbjct 230		TGCATTAGCTAGTTGGTGGGTAACGGCCACCAAGGCGACGATGCATAGCCGACCTGAG		289
Query 243		AGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTA		302
Sbjct 290		AGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTA		349
Query 303		GGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGAACGCCGCTGAGTGATGAAGGTT		362
Sbjct 350		GGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGAACGCCGCTGAGTGATGAAGGTT		409
Query 363		TTCGGATCGTAAAACCTGTGTTAAGGGAAGAACACGTACGAGAGGGAATGCTCGTACCT		422
Sbjct 410		TTCGGATCGTAAAACCTGTGTTAAGGGAAGAACACGTACGAGAGGGAATGCTCGTACCT		469
Query 423		TGACGGTACCTTACGAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTA		482
Sbjct 470		TGACGGTACCTTACGAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTA		529
Query 483		GGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGCGGCTTTTAAAGTC		542
Sbjct 530		GGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGCGGCTTTTAAAGTC		589
Query 543		TGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGAGGGCCATTGGAAACTGGAAGGCTTGAGTAC		602
Sbjct 590		TGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGAGGGCCATTGGAAACTGGAAGGCTTGAGTAC		649
Query 603		AGAAGAGAAGAGTGGAATCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACAC		662
Sbjct 650		AGAAGAGAAGAGTGGAATCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACAC		709
Query 663		CAGTGGCGAAGGCGACTCTTTGGTCTGTAACGTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGAGC		722
Sbjct 710		CAGTGGCGAAGGCGACTCTTTGGTCTGTAACGTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGAGC		769
Query 723		AAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAGGTGTTGGGGG		782
Sbjct 770		AAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAGGTGTTGGGGG		829
Query 783		GTTTCCGCCCTCAGTGTGAAGTAACGCATTAAGCACTCCGCCGTTGGGAGTACGGCCG		842
Sbjct 830		GTTTCCGCCCTCAGTGTGAAGTAACGCATTAAGCACTCCGCCGTTGGGAGTACGGCCG		889
Query 843		CAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTA		902
Sbjct 890		CAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTA		949
Query 903		ATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAACTCTTGACATCCCATTGACCGCTTGAGAGAT		962
Sbjct 950		ATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAACTCTTGACATCCCATTGACCGCTTGAGAGAT		1009
Query 963		CAAGTTTTCCCTTCGGGACAATGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTG		1022
Sbjct 1010		CAAGTTTTCCCTTCGGGACAATGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTG		1069
Query 1023		GTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCCTTAGTTGCCAGCATT		1082
Sbjct 1070		GTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCCTTAGTTGCCAGCATT		1129
Query 1083		AGTTGGGCACTCTAGGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAA		1142
Sbjct 1130		AGTTGGGCACTCTAGGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAA		1189
Query 1143		ATCATCATGCCCTTATGAATTGGGCTAC - CACGTGCTACA - TGGACGGTA - AAAGGGCA		1199
Sbjct 1190		ATCATCATGCCCTTATGAGTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAAAGGGCA		1249
Query 1200		CCGAAACC 1207		
Sbjct 1250		GCGAGACC 1257		

Gambar 4.6 Perbandingan urutan nukleotida bakteri isolat S1.1 (Query) dengan bakteri Exiguobacterium indicum strain SHHR3-1 (Subject)

Act

Download ▾ GenBank Graphics

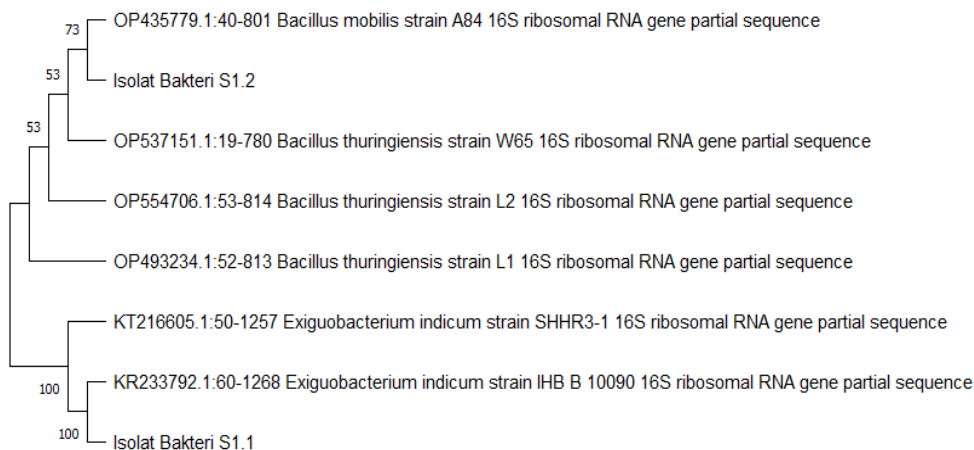
Bacillus thuringiensis strain L2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Sequence ID: [OP554706.1](#) Length: 1424 Number of Matches: 1

Range 1: 53 to 814 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1397 bits(756)	0.0	760/762(99%)	0/762(0%)	Plus/Plus
Query 4	TTGAGAGCTTGC TCT CAAGAAGTTAGCGGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTTGC	63		
Sbjct 53	TTGAGAGCTTGC TCT CAAGAAGTTAGCGGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTTGC	112		
Query 64	CCATAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATAACATTTTGAAGTGC	123		
Sbjct 113	CCATAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATAACATTTTGAAGTGC	172		
Query 124	ATGGTTCGAAATGAAAGGCGGCTTCGGCTGTCACTTATGGATGGACCCGCGTCGCATTA	183		
Sbjct 173	ATGGTTCGAAATGAAAGGCGGCTTCGGCTGTCACTTATGGATGGACCCGCGTCGCATTA	232		
Query 184	GCTAGTTGGTGAGGTAAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGA	243		
Sbjct 233	GCTAGTTGGTGAGGTAAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGA	292		
Query 244	TCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATC	303		
Sbjct 293	TCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATC	352		
Query 304	TTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCGCGTGGTGTGATGAAGGCTTTCGGGT	363		
Sbjct 353	TTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCGCGTGGTGTGATGAAGGCTTTCGGGT	412		
Query 364	CGTAAAACCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGG	423		
Sbjct 413	CGTAAAACCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGG	472		
Query 424	TACCTAACCGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGC	483		
Sbjct 473	TACCTAACCGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGC	532		
Query 484	AAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAGTCTGATGT	543		
Sbjct 533	AAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAGTCTGATGT	592		
Query 544	GAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGA	603		
Sbjct 593	GAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGA	652		
Query 604	GGAAAGTGGAAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAAGTGG	663		
Sbjct 653	GGAAAGTGGAAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAAGTGG	712		
Query 664	CGAAGGCGACTTCTGGTCTGTAACCTGACACTGAGGCGCGAAAGCGTGGGAGCAAAACAG	723		
Sbjct 713	CGAAGGCGACTTCTGGTCTGTAACCTGACACTGAGGCGCGAAAGCGTGGGAGCAAAACAG	772		
Query 724	GATTACATACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAACCGATCAGTGCT	765		
Sbjct 773	GATTAGATACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAACCGATCAGTGCT	814		

Gambar 4.7 Perbandingan urutan nukleotida isolat bakteri S1.2 (Query) dengan bakteri *Bacillus thuringiensis* strain L2 (Subject)

Setelah semua spesies isolat terpilih bakteri pengakumulasi logam berat Cr teridentifikasi semua selanjutnya dilakukan analisis pohon filogenetik yang bertujuan untuk mengonstruksi dengan tepat hubungan antara organisme dan mengestimasi perbedaan yang terjadi dari satu nenek moyang kepada keturunannya. Adapun hasil analisis pohon filogenetik spesies isolat-isolat bakteri pengakumulasi logam berat kromium.



Gambar 4.8 Pohon filogenik kelompok bakteri pengkumulasi logam berat menggunakan metode *Neighbor-Joining, Bootstrap from 1000* berdasarkan hasil analisis 16S-rRNA

Identifikasi bakteri pengakumulasi dapat dilakukan berdasarkan sifat fenotipik yang didasarkan pada hasil pengamatan morfologi koloni, pengamatan mikroskopis (pewarnaan gram), Namun demikian, identifikasi bakteri berdasarkan karakter fenotif maupun pewarnaan gram telah diketahui memiliki kelemahan, yaitu sering terjadi perbedaan dalam pembacaan hasil identifikasi. Selain itu karakter fenotif yang sama belum tentu menunjukkan bakteri yang sama juga. Begitu juga karakter biokimia yang merupakan karakter yang dapat berubah oleh adanya stress akibat pengaruh lingkungan (tidak statis) sehingga dapat menyebabkan evolusi (Gupta *et al.*, 2012). Oleh karena itu, dilakukan identifikasi secara molekuler agar diperoleh hasil yang lebih spesifik yaitu dengan melihat urutan basa nukleotidanya setiap spesies. Metode identifikasi bakteri yang banyak direkomendasikan adalah analisa genotif dengan menggunakan metode molekular antara lain melalui sekuensing gen mengkode 16S-rRNA dengan teknik PCR (*Polymerase chain reaction*).

Dalam proses identifikasi molekuler mikroorganisme terdapat 4 proses utama yang paling dasar yaitu isolasi DNA, PCR, dan elektroforesis serta tahap paling penting yaitu sekuensing. Tahap isolasi DNA merupakan proses yang bertujuan untuk memisahkan DNA dari komponen-komponen sel lainnya, sehingga diperoleh DNA murni. Isolasi/ekstraksi DNA diperoleh dengan cara merusak atau memecahkan dinding sel sehingga DNA akan keluar dari dalam sel. Pada tahap ekstraksi terjadi pemisahan benang-benang DNA dengan komponen sel yang lain. Proses isolasi DNA yang dilakukan memacu pada pedoman instruksi manual oleh metode *boiling* (Dashti *et al.*, 2009) yakni cara lebih mudah, murah dan cepat menggunakan prinsip pemanasan tinggi selama beberapa menit akan menyebabkan peningkatan permeabilitas dinding sel yang berakibat pada masuknya cairan dan materi lain di sekitar sel dan keluarnya materi-materi dari dalam sel. Suhu tinggi juga bermanfaat untuk inaktivasi enzim, terutama DN-ase yang dapat merusak DNA. Penelitian ini menggunakan waktu pemanasan 30 menit 15 menit karena Pemanasan dengan suhu terlalu tinggi atau waktu terlalu lama dikhawatirkan akan merusak DNA target dan akan memperlama proses ekstraksi.

Tahap selanjutnya adalah proses PCR yang bertujuan untuk melipat gandakan suatu pita DNA secara in-vitro. Dalam pengerjaannya terdapat reaksi berantai yaitu denaturasi, annealing dan elongasi. Proses PCR ini dilakukan sebanyak 35 siklus selama ± 2 jam. Adapun bahan-bahan yang digunakan yaitu KAPA Master Mix, primer forward (63F), primer reverse (1387R), *nucleus free water*, serta DNA sampel yang telah diekstraksi. KAPA Master mix PCR komersial ini berfungsi sebagai komponen atau campuran DNA template yang akan diamplifikasi menggunakan mesin PCR, kemudian sebagai kofaktor yang berfungsi

menstimulasi aktivitas DNA polimerase. Primer Forward berfungsi untuk menginisiasi sintesis untai DNA dari ujung 5' ----- 3' sedangkan Primer Reverse berfungsi untuk Menginisiasi sintesis untai DNA dari ujung 3' ----- 5'. Fungsi DNA template di dalam proses PCR adalah sebagai cetakan untuk pembentukan molekul DNA baru yang sama. dan *nucleus free water* berfungsi sebagai pelarut DNA.

Tahap selanjutnya yaitu elektroforesis DNA yang merupakan suatu teknik pemisahan molekul seluler berdasarkan atas ukurannya, dengan menggunakan medan listrik yang dialirkan pada suatu medium yang mengandung sampel yang akan dipisahkan (Yuwono, 2005). Hasil dari proses ekstraksi dan PCR dapat dilihat dengan cara elektroforesis yaitu dengan melihat ketebalan pita DNA sampel tersebut. Dari elektroforesis tersebut dapat dilihat panjang *base pair* (bp) setiap sampel dengan menggunakan bantuan marker (penanda). Tahap elektroforesis dilakukan selama 40 menit 100volt pada gel agarosa dengan konsentrasi 2%. Adapun bahan yang digunakan dalam proses elektroforesis yaitu agarose, TBE, marker 100bp, dan Ethidium bromide. Agarose sebagai reseptor titik dari senyawa-senyawa yang akan dipisahkan dan menyediakan jalur bagi migrasi komponen. TBE berfungsi sebagai konduktor arus yaitu jembatan konduksi di antara dua elektroda, sehingga memungkinkan terjadinya aliran medan listrik dan menstabilkan pH. Marker DNA yang terdapat dalam gel elektroforesis berfungsi untuk mengetahui ukuran DNA hasil amplifikasi dan sebagai penanda posisi molekul DNA yang bermigrasi untuk menentukan perkiraan ukuran basa-basanya. Etidium bromida sebagai pewarna DNA.

Dari hasil elektroforesis kedua sampel yaitu kode isolat S1.1 dan S1.2 diketahui pita yang tersperasi dan sejajar dengan marka sekitar ± 1200 bp. Hal ini mengindikasikan bahwa fragmen gen yang teramplifikasi pada isolat adalah dengan ukuran ± 1200 bp. Selanjutnya, hasil dikirim ke PT. Genetika Science Indonesia yang kemudian akan dikirim ke 1st BASE sequencing INT di Malaysia untuk pemetaan pasang basa yang berhasil diamplifikasi. Hasil yang diperoleh dari Malaysia selanjutnya dianalisis pada Gen Bank menggunakan analisis BLAST. Analisis BLAST dilakukan dengan tujuan untuk membandingkan hasil yang diperoleh dengan hasil sekuen DNA dari seluruh dunia yang didepositkan pada database Gen Bank. Analisis hasil BLAST tersebut memberikan informasi mengenai bakteri apa yang mempunyai kesamaan dengan urutan DNA sampel sehingga dapat digunakan untuk identifikasi bakteri. Analisis BLAST dilakukan secara online pada website (*National Center for Biotechnology Information, 2022*): (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Ciri-ciri sekuen dari gen bank yang paling mirip dengan sekuen DNA yang diperoleh yaitu, nilai Max Score dan Total Score sama, Query Coverage mendekati 100%, E-value mendekati 0, dan Identities mendekati 100%. Dari keempat parameter tersebut, nilai Query Coverage yang paling penting karena menunjukkan persentase database yang tertutupi oleh Query. Apabila nilai E-Value semakin mendekati nol, hasilnya akan lebih terpercaya dan bila nilainya 1, maka tidak boleh digunakan (Gupta *et al.*, 2012 dan Sogandi, 2018).

Informasi dari hasil BLAST tersebut berupa *Max Score* dan *Total Score*, *Query Coverage*, *E-value* dan *Identities*. *Max Score* dan *Total Score* adalah jumlah keselarasan semua segmen dari urutan database yang cocok dengan urutan nukleotida. Nilai skor menunjukkan keakuratan nilai penjajaran sekuens berupa

nukleotida yang tidak diketahui dengan sekuens nukleotida yang terdapat di dalam Gen Bank. Semakin tinggi nilai skor yang diperoleh maka semakin tinggi tingkat homologi kedua sekuens. *Query coverage* adalah persentase dari panjang nukleotida yang selaras dengan database yang terdapat pada BLAST. Nilai *E-value* merupakan nilai dugaan yang memberikan ukuran statistik yang signifikan terhadap kedua sekuens. Nilai *E-value* yang semakin tinggi menunjukkan tingkat homologi antara sekuens semakin rendah, sedangkan nilai *E-value* yang semakin rendah menunjukkan tingkat homologi antar sekuens semakin tinggi. Nilai *E-value* bernilai 0 (nol) menunjukkan bahwa kedua sekuens tersebut identik. *Identities* adalah nilai tertinggi dari persentase identitas atau kecocokan antara sekuens query dengan sekuens database yang tersejajarkan (Gupta *et al.*, 2012 dan Sogandi, 2018).

Hasil analisis BLAST dari keempat isolat bakteri pengakumulasi logam berat Cr seperti pada gambar 4.5, menunjukkan bahwa spesies dari koloni bakteri isolat S1.1 memiliki kemiripan tertinggi yaitu *Exiguobacterium indicum* strain SHHR3-1 16S dengan nilai *maximum score* 2194, *total score* 2194, *query coverage* 99% dan *identities* 99,50% dengan nomor aksesori KT216605.1. Bakteri isolat S1. merupakan memiliki kemiripan kesamaan banyak jenis bakteri dengan nilai tertinggi yang sama yaitu 99 jenis sekuens BLAST dengan nilai *maximum score* 1397, *total score* 1397, *query coverage* 99% dan *identities* 99.74% yang meliputi diantaranya yaitu *Bacillus mobilis* strain A84 (OP268562.1), *Bacillus thuringiensis* strain L2, L1, W65 (OP554706.1, OP537151.1, OP493234.1), *Bacillus* sp. (in *bacteria*) strain HX0024, Fx0030, BT-39, SWUSTb-79, VA34, V105 (OP435779.1, , OP268525.1, OP247625.1, OP236693.1, OP209939.1, dan OP209902.1), *Bacillus toyonensis* strain D455 (OP115603.1), *Bacillus liceniformis*

strain CHGP12 (ON385932.1), *Firmicutes bacterium* strain HVC17C1 (ON329594.1), *Bacillus cereus* strain CDHWZ7 (CP095767.1), *Bacillus nitratireducens* strain N4/150 (CP093844.1), dan *Uncultured bacterium* clone OUT 131 (OL862721.1).

Setelah kedua isolat tersebut teridentifikasi melalui analisis BLAST selanjutnya dilakukan analisis pohon filogenetik yang bertujuan untuk mengonstruksi dengan tepat hubungan antara organisme dan mengestimasi perbedaan yang terjadi dari satu nenek moyang kepada keturunannya. Analisis pohon filogenetik dilakukan melalui dua tahap dengan menggunakan program Clustal W yang dikombinasikan dengan program MEGA 11 (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*). Tahap pertama menggunakan program Clustal W untuk mensejajarkan sekuen kedua isolat bakteri pengakumulasi logam berat Cr dengan isolat-isolat dari Gen Bank yang memiliki sekuens mirip dengan isolat-isolat yang telah disekuensing. Kemudian program MEGA 10 akan membuat pohon filogenetiknya dengan metode pendekatan “Neighbour Joining”, bootstrap 1000x, dan metode p-distance. Pohon filogenetik ini dibentuk menggunakan metode *Neighbor-Joining* yang termasuk dalam metode jarak dengan prinsip pengelompokkan taksa berdasarkan nilai jarak evolusioner pasangan-pasangan operasional taksonomi unit dimana setiap percabangan yang terdapat dalam pohon filogenetik berevolusi pada kecepatan yang tidak sama (Gupta *et al.*, 2012 dan Sogandi, 2018).

Pohon filogenik mengelompokkan isolat-isolat yang diteliti menjadi kelompok kecil dan kelompok besar. Pengelompokan kecil merupakan pengelompokan yang didasarkan pada spesies-spesies bakteri yang diteliti dengan

spesies bakteri yang mirip dengan bakteri yang diteliti yang terdapat dalam Gen Bank. Kelompok kecil terdiri atas 2 isolat bakteri pengakumulasi logam berat yang terdiri atas isolat bakteri S1.1 memiliki kemiripan spesies bakteri *Exiguobacterium indicum* strain SHHR3-1 dan IHB-B10090 16S ribosomal RNA *gene partial sequence* dengan tingkat kekerabatan nilai 100% dan isolat bakteri S1.2 memiliki tingkat kekerabatan *Bacillus mobilis* strain A84 16S ribosomal RNA *gene partial sequence* dengan nilai bootstrap 73%. Pengelompokan dalam kelompok besar didasarkan pada kelompok famili bakteri tersebut. Berdasarkan kelompok besar terdiri atas 1 kluster yaitu kluster dari famili Bacillaceae. Dalam pembentukan kluster ini tidak ada kecenderungan pengelompokan isolat-isolat berdasarkan varietas tanaman inangnya ataupun organ tanaman inangnya. Kluster-kluster yang terbentuk tersebut menunjukkan kekhususan pada sifat gram dan juga identitas bakteri lainnya. Kedekatan antara bakteri-bakteri terjadi karena adanya kemiripan urutan basa nukleotida isolat-isolat bakteri pengakumulasi logam berat. Selain itu pengelompokan kluster-kluster tersebut diperjelas dengan adanya hasil pewarnaan gram sel bakteri semua bakteri termasuk dalam gram positif dan bentuk basil. Urutan 16S rRNA diperoleh untuk isolat menjadi sasaran megaBLAST. Strain dengan kemiripan yang rendah dengan kerabat dekatnya dianggap termasuk spesies atau genera baru. Strain menunjukkan identitas urutan 22-16% untuk strain yang berbeda dari Isolat S1.1 dan Isolat S1.2. Menurut Gupta *et al.*, (2012) bahwa Bakteri toleran logam berat yang diisolasi diidentifikasi berdasarkan kerabat bakteri terdekatnya menggunakan phy-analisis logenetika. Urutan 16S rRNA diperoleh untuk isolat menjadi sasaran megaBLAST. Strain dengan kemiripan yang rendah dengan kerabat dekatnya dianggap termasuk spesies atau genera baru. Strain

menunjukkan identitas urutan 92-99% untuk strain yang berbeda dari *Exiguobacterium indicum* dan *Bacillus mobilis*.

Adapun deskripsi spesies kedua bakteri yang telah disequensing dengan analisis BLAT NCBI dan analisis filogenetik, berdasarkan referensi tentang bakteri *Exiguobacterium indicum* dan *Bacillus mobilis* bahwa bakteri tersebut spesifik dalam mengakumulasi logam Cr, yaitu:

1. *Exiguobacterium indicum*

Menurut Mohapatra *et al.*, (2017) bahwa bakteri tahan kromium heksavalen (1500 mg/L) MW1 diisolasi dari air pelabuhan Paradip, India dan dievaluasi potensi reduksi Cr (VI). Isolat tersebut diidentifikasi sebagai *Exiguobacterium indicum* dengan metode biokimia dan sekuens gen 16S rRNA. Reduksi Cr (VI) dari regangan dievaluasi dan dioptimalkan dengan konsentrasi Cr (VI) yang bervariasi (100–1000 mg/L), pH (5,0–9,0), suhu (30–40°C) dan kecepatan rotasi (100– 150 rpm) dalam dua media minimal yang berbeda (M9 dan Asetat). Di bawah kondisi yang dioptimalkan, setelah 192 jam inkubasi, hampir 92%, 50% dan 46% pengurangan dalam media minimal M9 dan 91%, 47% dan 40% pengurangan dalam media minimal asetat diamati untuk 100, 500 dan 1000 mg/L Cr (VI), masing-masing. Selanjutnya, asosiasi sel bakteri dengan produk tereduksi dipastikan dengan spektrometer inframerah transformasi Fourier, UV-Vis-DRS dan analisis mikroskop elektron pemindaian emisi-energi-energi-dispersif. Studi di atas menunjukkan bahwa kemampuan reduksi yang lebih tinggi dari bakteri laut *E. indicum* MW1 akan sesuai untuk reduksi Cr(VI) dari limbah salin (Mohapatra *et al.*, 2017). Menurut (Okeke, 2008) Polusi permukaan terestrial dan sistem perairan oleh kromium heksavalen, Cr(VI), merupakan masalah kesehatan masyarakat di

seluruh dunia. Isolat bakteri resistan krom yang diidentifikasi sebagai *Exiguobacterium* sp. Sekuensing gen GS1 oleh 16S rRNA menunjukkan tingkat penghilangan Cr(VI) yang tinggi dari air. *Exiguobacterium* sp. GS1 99% identik dengan *Exiguobacterium acetylicum*. Isolat secara signifikan menghilangkan Cr(VI) pada konsentrasi tinggi dan rendah (1-200 mg/L) dalam waktu 12 jam. Pertumbuhan *Exiguobacterium* sp. GS1 pada 1-75 mg/L Cr(VI) dalam 12 jam. Pada konsentrasi awal 8.000 mg/L. *Exiguobacterium* sp. GS1 menampilkan bioremoval cepat Cr(VI) dengan lebih dari 50% bioremoval dalam 3 jam dan 91% bioremoval dalam 8 jam. Analisis kinetik laju bioremoval Cr(VI) menunjukkan orde nol dalam 8 jam. *Exiguobacterium* sp. GS1 tumbuh dan secara signifikan mengurangi Cr(VI) dalam kultur yang mengandung garam 1-9% yang menunjukkan toleransi garam yang tinggi. Demikian pula isolat secara substansial mereduksi Cr(VI) pada kisaran suhu yang luas (18-45 derajat C) dan pH awal (6,0-9,0). T (opt) dan pH awal (opt) masing-masing adalah 35-40 derajat C dan 7-8. *Exiguobacterium* sp. GS1 menunjukkan potensi besar untuk bioremediasi Cr(VI) di lingkungan kompleks yang beragam.

Adapun klasifikasi dari bakteri *Exiguobacterium indicum* yaitu:

Kingdom : Bacteria
Phylum : Bacillota
Class : Bacilli
Ordo : Caryophanales
Family : Bacillaceae
Spesies : *Exiguobacterium indicum* (Anonim, 2022)

2. *Bacillus mobilis*

Menurut Gupta *et al.*, (2012) bahwa melakukan evaluasi secara *in vitro* persentase reduksi Cr(VI) dan pengaruh tiga konsentrasi (25, 60, dan 100 mg/L Cr(VI)) terhadap pertumbuhan isolat bakteri E4M3 *Bacillus amyloliquefaciens* [MK561611], E4M15 *Bacillus thuringiensis* [MK561610], dan *Paenibacillus* sp. [MK561612]. Analisis statistik menentukan bahwa 59% dari variasi pertumbuhan dikaitkan dengan interaksi bakteri dan konsentrasi ($P < 0,05$; $2 = 0,59$). Demikian juga, perbedaan yang signifikan secara statistik diamati antara bakteri mengenai persentase reduksi Cr (VI) ($P < 0,05$; $2 = 0,98$). Ketiga bakteri bahwa *Bacillus thuringiensis* yang memiliki tingkat reduktase Cr yang tinggi dan sebagai kandidat bioremediasi dengan memperoleh persentase reduksi Cr (VI) sebesar 96,7%, 80,9%, dan 93,1% untuk konsentrasi 25, 60, dan 100 mg/L dengan waktu reduktase 84 jam.

Menurut Upadhyay *et al.*, (2017) bahwa bakteri diisolasi dari tanah tambang batu bara yang terkontaminasi dan selanjutnya disaring untuk berbagai aktivitas pemacu pertumbuhan tanaman (PGP), India. Isolat telah diidentifikasi dengan sekuensing 16S rRNA yaitu *Bacillus subtilis* MNU16 memiliki ketahanan logam, 900 mg/L Cr. Selain itu, pola resistensi *B. subtilis* MNU16 terhadap perlakuan Cr (VI) (dari 50 hingga 300 mg/L) dievaluasi. Kemampuan reduksi kromium pada 50 mg/L Cr (VI) menyoroti bahwa bakteri *B. subtilis* MNU16 mereduksi 75% Cr (VI) menjadi 13,23 mg/L dalam waktu 72 jam. Lokalisasi endapan padat elektron diamati pada gambar TEM *B. subtilis* MNU16 yang mungkin disebabkan oleh reduksi Cr (VI) menjadi Cr (III). Data mikroskop fluoresensi dan flow cytometry sehubungan dengan perlakuan Cr (VI) (50–300

mg/L) menunjukkan pola yang sama dan dengan jelas mengungkapkan efek kurang toksik dari kromium heksavalen hingga 200 mg/L konsentrasi Cr (VI). Namun, efek toksisitas lebih jelas pada 300 mg/L Cr (VI). Oleh karena itu, penelitian ini menunjukkan bahwa potensi pertumbuhan tanaman dan kemanjuran resistensi *B. subtilis* MNU16 akan sangat membantu dalam mengembangkan pendekatan bioremediasi yang efektif untuk tanah yang terkontaminasi Cr (VI). Menurut (Trihadiningrum, 2014) bahwa *Bacillus cereus* dikenal sebagai bakteri kosmopolitan dengan ketahanan yang tinggi terhadap polutan. Hasil menunjukkan kedua strain *B. cereus* dapat hidup pada kultur yang mengandung kromium, tembaga, dan kadmium dengan konsentrasi yang berbeda. Toleransi tertinggi bakteri diamati pada kultur yang mengandung kromium, di mana efisiensi bioremoval kromium tertinggi 51,8% dilakukan oleh ATCC 9632 strain pada konsentrasi krom 102,4 mg/L, dalam kisaran konsentrasi bervariasi hingga 360 mg/L. Sedangkan efisiensi bioremoval tembaga tertinggi 100% dicapai pada kultur *B. cereus* ATCC 1178 dan ATCC 9632 pada konsentrasi tembaga 2 mg/L pada rentang konsentrasi yang diuji hingga 10 mg/L. Efisiensi bioremoval kadmium tertinggi sebesar 77% dicapai oleh strain ATCC 9632 pada konsentrasi 15 mg/L pada rentang konsentrasi hingga 25 mg/L.

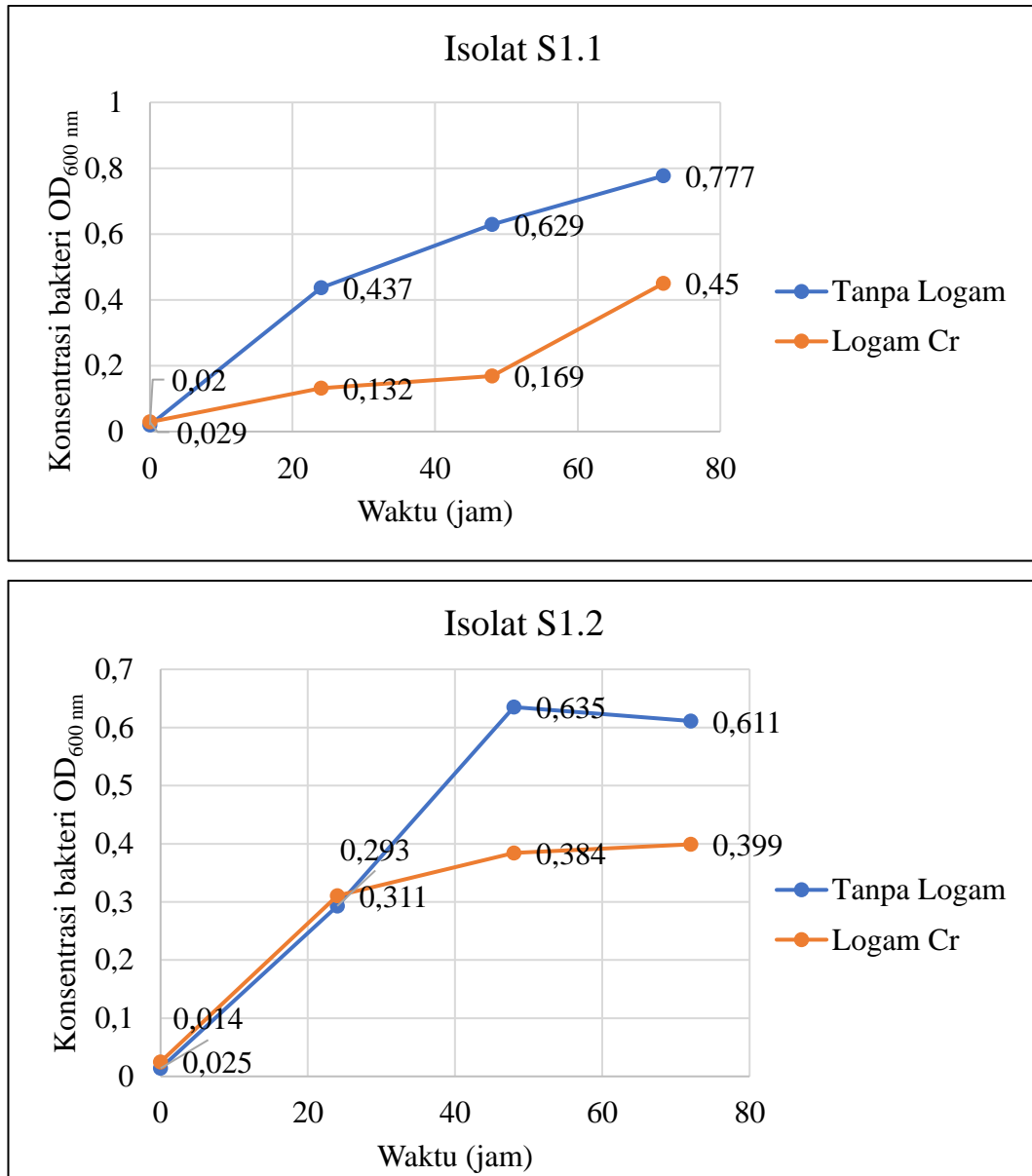
Adapun klasifikasi dari bakteri *Bacillus mobilis* yaitu:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Bacillota
Class	: Bacilli
Ordo	: Caryophanales
Family	: Bacillaceae
Spesies	: <i>Bacillus mobilis</i> (Christie & Setlow, 2020)

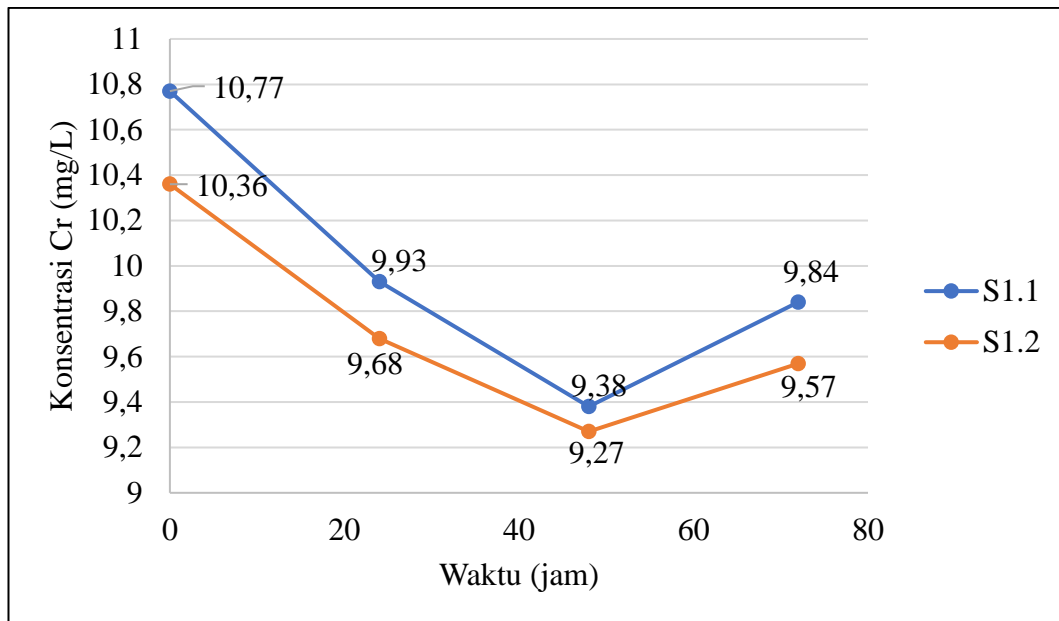
4.5 Kemampuan Bakteri Mengakumulasi Logam Berat Krom (Cr)

Berdasarkan uji MTC dan identifikasi bakteri kedua isolat bakteri kode isolat S1.1 dan S1.2 yang dilakukan uji kemampuan dalam mengakumulasi logam Cr dengan mengukur pertumbuhan *optical density* (OD_{600}) menggunakan spektrofotometri Uv-Vis pada media cair NB + 100 mg/L logam Cr (K_2CrO_4) pH 7 dengan suhu inkubasi $37^{\circ}C$ selama waktu yang ditentukan pengukuran 0, 24, 48, dan 72 jam, dengan waktu pengukuran pertumbuhan yang sama juga dilakukan pengukuran aktivitas bakteri dalam mengakumulasi logam Cr menggunakan AAS. Tahap ini dilakukan berdasarkan dari tujuan penelitian untuk mendapatkan bakteri potensial sebagai agen bioremediasi dengan melihat kemampuan bakteri mengakumulasi cemaran logam berat Cr sehingga didapatkan hasil grafis seperti gambar 4.9.

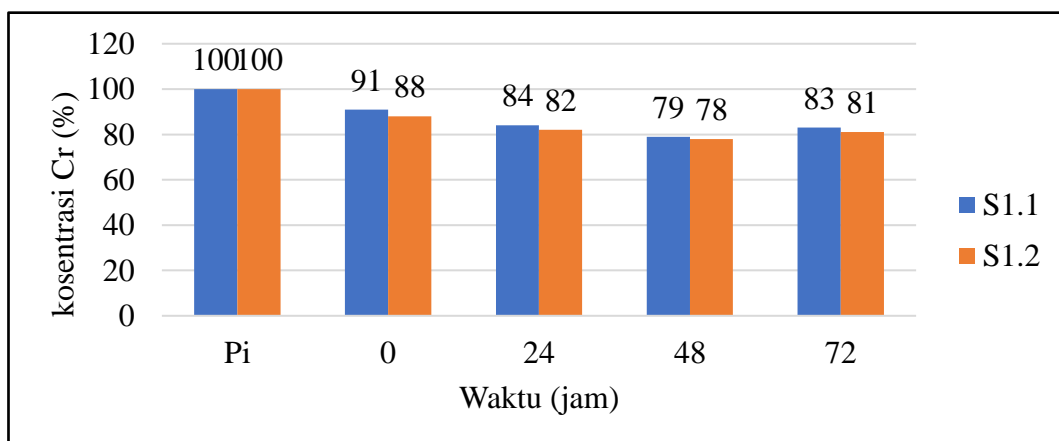
Menurut Gupta *et al.*, (2012) mikroorganisme memiliki kapasitas dalam mengakumulasi sehingga dapat dimanfaatkan untuk menghilangkan, mengonsentrasikan dan memulihkan logam dari tailing tambang dan limbah industri seperti logam Cr disebut. Teknik bioremediasi yakni menunjukkan potensi kemampuannya untuk mendegradasi dan mendetoksifikasi kontaminan tertentu. Menurut (Xiao *et al.*, 2017) Reduksi krom (VI) tidak sepenuhnya berhubungan sampai tingkat toleransinya, maka pemilihan strain bakteri untuk tujuan remediasi didasarkan pada pengurangan Cr (VI) kemampuan tingkat toleransi yang tinggi.



Gambar 4.9 Kurva pertumbuhan bakteri (0, 24, 48, 72 jam)



Gambar 4.10 Aktivitas bakteri mengakumulasi logam Cr (0, 24, 48, dan 72 jam)



Gambar 4.11 Persentase penurunan konsentrasi logam Cr oleh bakteri

Berdasarkan gambar tersebut bahwa kedua isolat memiliki perbedaan karakter dalam kurva pertumbuhan dan aktivitas mengakumulasi logam Cr dengan konsentrasi 100 mg/L K_2CrO_4 pada media NB dengan suhu inkubasi $37^{\circ}C$ selama waktu pengujian tersebut.

Pengukuran kurva pertumbuhan dilakukan dengan melihat perbandingan bakteri yang ditumbuhkan pada media tambah logam dan media tanpa logam. kurva pertumbuhan pada kedua isolat bakteri menunjukkan adanya perbedaan jumlah

konsentrasi karena pengaruh adanya tambahan logam. Nilai konsentrasi OD₆₀₀ nm isolat S1.1 pada media tambah logam dan tanpa logam memiliki nilai OD terus meningkat dari waktu pengujian yang mencapai fase eksponensial pada jam 72 (0,450 dan 0,777). Sedangkan isolat S1.2 memiliki pertumbuhan yang berbeda bahwa pada media tambah logam bakteri terus tumbuh dan meningkat yang mencapai fase eksponensial pada jam 48=0.384 jam kemudian terjadi fase stasioner pada jam 72= 0,399 yaitu puncak metabolisme bakteri. Media tanpa logam pertumbuhan masih meningkat mencapai fase eksponensial pada jam 48= 0,639 jam kemudian terjadi penurunan ke pada jam 72=0.611 mencapai fase stasioner menuju fase log.

Berdasarkan gambar 4.10 aktivitas kedua isolat bakteri dalam akumulasi logam berat Cr menunjukkan terjadi penurunan konsentrasi logam Cr yang artinya adanya aktivitas metabolisme bakteri dalam mengakumulasi atau degradasi logam Cr pada waktu 0 - 48 jam tersebut dengan nilai yaitu isolat S1.1 dari 10.77 mg/L menjadi 9.39 mg/L, sedangkan isolat S1.2 dari 10.36 mg/L menjadi 9.27 mg/L. Namun pada waktu 72 jam konsentrasi kembali meningkat menjadi isolat S1.1 9.84 mg/L dan isolat S1.2 9.57 mg/L karena setiap bakteri memiliki tingkat kejenuhan sehingga tidak ada lagi akumulasi logam dan bakteri tidak mampu menyerap logam. Maka dapat disimpulkan bahwa waktu yang optimum bakteri dalam pengakumulasi dan menyerap logam Cr adalah waktu 48 jam. Adapun nilai kalkulasi persentase pada gambar 4.11 kedua isolat dalam mengakumulasi logam Cr pada 0-48 jam yaitu S1.1 dari 100% menjadi 84% dan S1.2 dari 100% menjadi 82%, sehingga kedua isolat tersebut sangat potensial dijadikan sebagai bioremediasi lingkungan yang tercemar logam Cr.

Menurut Basu *et al.*, (2011) telah melaporkan bahwa mekanisme metabolisme toleransi krom oleh bakteri termasuk reduksi, metilasi, presipitasi pada permukaan sel, menghalangi penyerapan seluler dengan mengubah jalur penyerapan, dan penghapusan dari sitoplasma.

Dalam Ali *et al.*, (2006) mekanisme reduksi krom merupakan proses kometabolisme, yaitu krom berfungsi sebagai akseptor elektron kompetitif melalui rantai transpor elektron. Mekanisme lainnya diantaranya akumulasi krom (VI) dalam sel, penyerapan (*uptake*) atau pengikatan krom pada membran sitoplasma sel mikroba. Sedangkan menurut Bharagava & Mishra, (2018) penyerapan dan reduksi Cr (VI) oleh bakteri diperkirakan dimediasi oleh mekanisme "adsorpsi asam" di mana cairan seharusnya memiliki cukup proton untuk menyebabkan pertukaran anion. Setelah akumulasi, Cr (VI) dapat bertindak sebagai akseptor elektron terminal yang direduksi menjadi Cr (III) dan berikatan dengan dinding sel. Reduksi kromium terutama terjadi melalui dua proses yaitu bioakumulasi logam di dalam sel atau biosorpsi pada permukaan sel mikroba. Bioakumulasi melibatkan dua fase: fase awal fase cepat adsorpsi fisik atau pertukaran ion pada permukaan sel diikuti dengan fase lambat transpor Cr (VI) yang bergantung pada metabolisme aktif ke dalam sel bakteri. Namun, biosorpsi logam berat merupakan proses yang bergantung pada metabolisme yang bergantung pada mekanisme yang berbeda dari pertukaran ion, koordinasi, adsorpsi, kompleksasi. Reduksi Cr (VI) menjadi Cr (III) oleh bakteri dapat terjadi dalam kondisi aerob dan anaerob melalui sistem transpor elektron yang mengandung sitokrom. Dalam kondisi aerobik, reduksi Cr (VI) menjadi produk akhir yang stabil Cr (III) terjadi dalam dua sampai tiga langkah dengan pembentukan Cr(V) dan Cr (IV) intermediat berumur pendek. Namun,

reduksi Cr (V) menjadi Cr (IV) dan Cr (IV) menjadi Cr (III) tidak diketahui terjadi secara spontan atau diperantarai enzim, tetapi NADH, NADPH dan elektron dari cadangan endogen diduga bertindak sebagai elektron. donor dalam proses reduksi Cr (VI).

Adapun penelitian yang sama dengan waktu optimum akumulasi logam krom yaitu Soni *et al.*, (2013) melaporkan 4 isolat menunjukkan jumlah utama kromium berkurang dalam 24-48 jam, fraksi ini bisa saja dilepaskan secara ekstraseluler juga selama pertumbuhannya. Menurut Tariq *et al.*, (2019) *Staphylococcus aureus* K1 menjadi kandidat potensi bioremediasi logam krom setelah 24 jam. Reduksi ion krom oleh mikroba dapat dilakukan secara ekstraseluler atau intraseluler yang dapat mengalami biotransformasi (di mana Cr⁶⁺ direduksi menjadi Cr³⁺ melalui proses biotransformasi) atau dengan biosorpsi (ion logam teradsorpsi pada permukaan seluler). Proses ini dapat digunakan tidak hanya untuk penghilangan fisik logam (Cr) sebagai endapan (Cr (OH)₃) tetapi juga dapat membantu untuk mengurangi efek toksik dari ion logam tersebut.

Penelitian ini menjadikan kedua bakteri isolat S1.1 dan isolat S1.2 sebagai kandidat potensial untuk bioremediasi kromium (Cr) di area tersebut karena dapat mereduksi hampir semua krom yang ada dalam medium setelah 48 jam. Menurut Camargo *et al.*, (2003) telah mengisolasi strain bakteri gram positif (mungkin spesies *Bacillus*) dari limbah penyamakan kulit yang tumbuh di media yang mengandung kalium dikromat hingga 80 mg/L dan sebagian besar mikroorganisme yang resistan terhadap Cr (VI) toleran hingga 10 hingga 1500 mg/L.

4.6 Kajian Penelitian dalam Perspektif Al-Quran

Sebagai umat peneliti sepatutnya menjadikan al Quran sebagai dasar ilmu pengetahuan. Allah SWT menciptakan segala sesuatu yang tidak sia-sia dan pasti hikmah atau manfaat. Manusia diberikan akal Allah SWT untuk memikirkan ciptaan-Nya agar mendapat petunjuk sehingga keimanan bertambah. Berdasarkan hasil peneliti memikirkan tentang keberadaan dan penggunaan bakteri sebagai agen bioremediasi lingkungan. Lingkungan yang tercemar seperti cemaran logam berat yang dapat membahayakan ekosistem dan kesehatan manusia itu sendiri sehingga perlu mengurangi atau menghilangkan kontaminasi logam berat dengan cara menggunakan bakteri untuk mengakumulasi cemaran logam berat Cr di lingkungan agar lingkungan tidak berbahaya atau tidak beracun dan bahkan memulih kembali menjadi alami, selain untuk mengurangi penyerapan rantai makanan. Hal ini sehubungan dengan firman Allah SWT dalam Al-Quran Surah Ali Imran ayat 191 sebagai berikut.

**الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ
 السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هٰذَا بَطِلًا سُبْحٰنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ**

Artinya: (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan 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 (RI, Kementerian Agama, 2021).

Menurut penafsiran Al-Mukhtashar / Markaz Tafsir Riyadh, di bawah pengawasan Syaikh Dr. Shalih bin Abdullah bin Humaid (Imam Masjidil Haram) bahwa yang dimaksud pada ayat tersebut, mereka adalah orang-orang yang senantiasa mengingat Allah dalam kondisi apapun. Baik dalam kondisi berdiri,

duduk maupun berbaring. Dan mereka juga senantiasa menggunakan akal pikiran mereka untuk memikirkan penciptaan langit dan bumi. Mereka pun berkata, “Wahai Rabb, Engkau tidak menciptakan makhluk yang sangat besar ini untuk bersenda gurau. Mahasuci Engkau dari senda gurau. Maka jauhkanlah kami dari azab Neraka, dengan cara Engkau bimbing kami kepada perbuatan-perbuatan yang baik dan Engkau lindungi kami dari perbuatan-perbuatan yang buruk.

Bakteri merupakan salah satu ciptaan Allah SWT yang memiliki peran penting dalam kehidupan. Pada kehidupan ekosistem berperan sebagai pengurai atau dekomposer yang mengurai unsur hara, daur ulang nutrisi, dan sebagai degradasi bahan pencemar di lingkungan seperti cemaran logam berat Cr. Menurut Kumar, (2018) bahwa menggunakan bakteri proses mikroba untuk menurunkan atau mengubah polutan lingkungan menjadi bentuk yang tidak berbahaya atau kurang beracun. Bakteri menggunakan zat berbahaya ini (logam berat) sebagai satu-satunya sumber C (karbon), N (nitrogen), dan (P) fosfor untuk proses menghasilkan energi dengan degradasi; dengan demikian, zat ini bertindak sebagai substrat pertumbuhan.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Adapun kesimpulan pada penelitian ini adalah sebagai berikut

1. Pesisir kawasan industri terletak di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali telah tercemar logam berat di dua stasiun berdasarkan standar baku mutu cemaran logam berat yaitu sedimen tercemar logam berat tertinggi Cr diikuti logam berat Ni dan Zn, namun Cu dan Pb masih di bawah ambang batas. Sedangkan air tercemar logam berat Cr dan Ni, namun Zn, Cu, dan Pb tidak terdeteksi. Adapun hasil analisis resiko lingkungan pada dua stasiun sampel sedimen dan air menunjukkan kondisi resiko bahaya tinggi yaitu Cr dan Ni, namun logam lainnya Zn, Cu, dan Pb berisiko sedang dan rendah.
2. Isolat bakteri tahan logam berat Cr didapatkan dari pesisir kawasan industri IMIP di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali adalah 16 isolat dari dua stasiun pada sampel air dan sedimen. Namun, dua isolat bakteri yang dipilih dan potensial yaitu kode isolat S1.1 dan S1.2 dari stasiun 1 pada sampel sedimen karena memiliki ketahanan dan mampu tumbuh pada konsentrasi logam tertinggi sampai 5000 mg/L.
3. Karakteristik morfologi kedua isolat bakteri tahan logam Cr yaitu isolat S1.1 memiliki koloni warna kuning, bentuk *circular*, tepi *entire*, elevasi *falte*, bentuk sel *basil*, gram positif. Sedangkan isolat S1.2 memiliki koloni warna putih, bentuk *circular*, tepi *undulate*, elevasi *falte*, bentuk sel *basil*, gram positif .
4. Karakteristik molekuler bakteri menunjukkan bahwa isolat bakteri S1.1 dan S1.2 memiliki amplifikasi 16S rRNA dengan kemiripan *Exiguobacterium*

indicum. Sedangkan isolat bakteri S1.2 memiliki amplifikasi 16S rRNA dengan kemiripan *Bacillus mobilis*.

5. Kemampuan kedua isolat bakteri dalam mengakumulasi logam berat Cr dari pesisir kawasan industri IMIP berada di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali menunjukkan hasil yang berbeda pada kurva pertumbuhan bakteri dari media tanpa logam dan media tambah logam. Aktivitas akumulasi logam berat Cr kedua isolat terjadi penurunan konsentrasi logam selama waktu 48 jam yaitu isolat S1.1 dari 10.77 mg/L menjadi 9.39 mg/L, sedangkan isolat S1.2 dari 10.36 mg/L menjadi 9.27 mg/L yang masing-masing memiliki nilai persentase penurunan jumlah konsentrasi logam Cr dari 100 % menjadi 84% (S1.1) dan 82% (S1.2) sehingga bakteri tersebut sangat potensial sebagai agen bioremediasi.

5.2 Saran

Adapun saran penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Kedua isolat tersebut perlu dikarakterisasi lebih lanjut untuk mengetahui kondisi optimum pertumbuhan bakteri dalam akumulasi logam Cr seperti uji pada variasi waktu lebih lama, pH media, dan suhu inkubasi.
2. Perlu dilakukan pengujian kemampuan remediasi terhadap isolat bakteri asal perairan pesisir kawasan industri IMIP secara *in vitro*
3. Perlu dilakukan pengujian langsung di pesisir kawasan industri IMIP untuk pengaplikasian kedua isolat bakteri.
4. Perlu juga dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri mengakumulasi logam berat nikel (Ni) atau jenis logam berat lainnya yang menjadi pencemar pesisir kawasan industri IMIP.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Quranul Karim dan Terjemahannya versi Kemenag RI:
<https://quran.kemenag.go.id/>
- Abidin, Z. A. Z., Badaruddin, P. N. E., & Chowdhury, A. J. K. (2020). Isolation of heavy metal resistance bacteria from lake sediment of IIUM, Kuantan. *Desalination and Water Treatment*, 188(August), 431–435. <https://doi.org/10.5004/dwt.2020.25298>
- Adhani, R., & Husaini. (2017). *Logam Berat Sekitar Manusia* (S. Kholishotunnisa (Ed.)). Lambung Mangkurat University Pres.
- Adji Permatasari H. (2017). Analisis Logam Berat Cu, Co Dan V Pada Sedimen Perairan Kabupaten Mamuju Menggunakan Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES). In *Repository Univeristas Hasanuddin* (Vol. 4). Universitas Hasanuddin.
- Akkajit, P., Jaileak, K., Suteersak, T., & Prueksakorn, K. (2018). Assessment of heavy metals in Sediment at Saphan Hin, Phuket. *Chemical Engineering Transactions*, 63, 301–306. <https://doi.org/10.3303/CET1863051>
- Ali, A., Soetarto, E. S., & Widada, J. S. (2006). Purifikasi dan Karakterisasi Krom Reduktase Bacillus sp LKA9 Purification and Characterization of Bacillus sp LKA9 Chromate Reductase Pendahuluan Metode Penelitian Isolasi bakteri. *Biota*, XI(2), 92–100.
- Andrea, M., Huët, L., & Puchooa, D. (2017). Bioremediation of heavy metals from aquatic environment through microbial processes: A potential role for probiotics? *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 5(6), 14–23. <https://doi.org/10.7324/jabb.2017.50603>
- Anonim. (2022). Species: Exiguobacterium indicum. *LPSN.DSMZ.de*. <https://lpsn.dsmz.de/species/exiguobacterium-indicum>
- ANZECC, & ARMCANZ. (2000). Australian and New Zealand Guidelines for Fresh and Marine Water Quality - Aquatic Ecosystems - Rationale and Background Information- Volume 2. *Australian and New Zealand Environment and Conservation Council, Agriculture and Resource Management Council of Australia and New Zealand*, 2(4), 678.
- Ayangbenro, A. S., & Babalola, O. O. (2017). A new strategy for heavy metal polluted environments: A review of microbial biosorbents. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(1). <https://doi.org/10.3390/ijerph14010094>
- Basu, M., Bharracharya, S., & Paul, A. K. (2011). Isolation and Characterization of Chromium(VI)-Reducing Bacteria from Tannery Effluents. *Indian Journal of Microbiology*, 51(1), 76–81. <https://doi.org/10.1007/s12088-011-0095-4>
- Bharagava, R. N., & Mishra, S. (2018). Hexavalent chromium reduction potential of Cellulosimicrobium sp. isolated from common effluent treatment plant of tannery industries. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147(May 2017), 102–109. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.08.040>
- Camargo, F. A. O., Bento, F. M., Okeke, B. C., & Frankenberger, W. T. (2003). Chromate Reduction by Chromium-Resistant Bacteria Isolated from Soils Contaminated with Dichromate. *Journal of Environment Quality*, 32(4), 1228. <https://doi.org/10.2134/jeq2003.1228>
- Christie, G., & Setlow, P. (2020). Bacillus spore germination: Knowns, unknowns

- and what we need to learn. *Cellular Signalling*, 74, 109729. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2020.109729>
- Dashti, A. A., Jadaon, M. M., Abdulsamad, A. M., & Dashti, H. M. (2009). Heat treatment of bacteria: A simple method of DNA extraction for molecular techniques. *Kuwait Medical Journal*, 41(2), 117–122.
- De Fretes, C. E., Sutiknowati, L. I., & Falahudin, D. (2019). Isolasi dan identifikasi bakteri toleran logam berat dari sedimen mangrove di Pengudang dan Tanjung Uban, Pulau Bintan, Indonesia. *Oseanologi dan Limnologi di Indonesia*, 4(2), 71. <https://doi.org/10.14203/oldi.2019.v4i2.244>
- De Lima e Silva, A. A., Ribeiro de Carvalho, M. A., L de Souza, S. A. L., Teixeira Dias, P. M., da Silva Filho, R. G., de Meirelles Saramago, C. S., de Melo Bento, C. A., & Hofer, E. (2012). Heavy metal tolerance (Cr, Ag and Hg) in bacteria isolated from sewage. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(4), 1620–1631. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000400047>
- Decker, C. (2013). Surface water sampling. *USEPA Publication*, 1–22.
- Decker, C. (2014). Sediment Sampling. *USEPA Publication*, 1–23.
- Defew, L. H., Mair, J. M., & Guzman, H. M. (2005). An assessment of metal contamination in mangrove sediments and leaves from Punta Mala Bay, Pacific Panama. *Marine Pollution Bulletin*, 50(5), 547–552. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.11.047>
- Elizabeth, C. N., Victoria, M. Y., Nkechi, E. E., & Godwin, B. O. (2017). Isolation and characterization of heavy metal tolerant bacteria from Panteka stream, Kaduna, Nigeria and their potential for bioremediation. *African Journal of Biotechnology*, 16(1), 32–40. <https://doi.org/10.5897/ajb2016.15676>
- Fahrudin, F., Santosa, S., & Sareda. (2020). Toleransi Logam Berat Timbal (Pb) Pada Bakteri Indigenous Dari Air Laut Pelabuhan Paotere, Makassar. *Aquatic science & management*, 8(1), 8–14.
- Gottschal, J. A. N. C., & Prins, R. A. (2000). *Principles of Enrichment, Isolation, Cultivation, and Preservation of Bacteria*. 1–56.
- Gupta, K., Chatterjee, C., & Gupta, B. (2012). Isolation and characterization of heavy metal tolerant Gram-positive bacteria with bioremedial properties from municipal waste rich soil of Kestopor canal (Kolkata), West Bengal, India. *Biologia*, 67(5), 827–836. <https://doi.org/10.2478/s11756-012-0099-5>
- Gutierrez, A. M., Cabriales, J. J. P., & Vega, M. M. (2010). Isolation and characterization of hexavalent chromium-reducing rhizospheric bacteria from a Wetland. *International Journal of Phytoremediation*, 12(4), 317–334. <https://doi.org/10.1080/15226510902968118>
- Guzman, M. L. C. De, Arcega, K. S. G., Cabigao, J.-M. N. R., & Su, G. L. S. (2016). Isolation and identification of heavy metal tolerant bacteria from an industrial site as a possible source for bioremediation of cadmium, lead and nickel. *Advances in Environmental Biology*. https://www.researchgate.net/publication/296247333_Isolation_and_identification_of_heavy_metal_tolerant_bacteria_from_an_industrial_site_as_a_possible_source_for_bioremediation_of_cadmium_lead_and_nickel
- Hardjaloka, L. (2015). Perspektif Hukum Internasional Atas Pencemaran Laut Yang Berasal Dari Darat Dan Praktek Penanganannya Di Beberapa Negara. *Jurnal legislasi Indonesia*, 12(2), 1–30. <https://e-jurnal.peraturan.go.id/index.php/jli/article/view/401>

- Harvianti, Y. (2017). Identifikasi Molekuler Bakteri Endofit Penghasil Fitase Asal Tanaman Jagung Penghasil Fitase Asal Tanaman Jagung (*Zea mays* L.) Berbasis Gen 16S rRNA. *Skripsi*.
- Hoq, M. (2011). *Isolation and Characterization of Chromium (VI) -Reducing Bacteria from Tannery Effluents*. 51(1), 76–81. <https://doi.org/10.1007/s12088-011-0095-4>
- Hryniewicz, K., & Baum, C. (2014). Environmental deterioration and human health: Natural and anthropogenic determinants. *Environmental Deterioration and Human Health: Natural and Anthropogenic Determinants*, 1–421. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-7890-0>
- Hutagalung, H. P. (1984). Logam berat dalam lingkungan laut. *Oseana*, 9(1), 11–20.
- IMIP. (2021). *Tentang IMIP– PT Indonesia Morowali Industrial Park*. IMIP.co.id. <https://imip.co.id/tentang-imip/>
- Islam, M. A., Das, B., Quraishi, S. B., Khan, R., Naher, K., Hossain, S. M., Karmaker, S., Latif, S. A., & Hossen, M. B. (2020). Heavy metal contamination and ecological risk assessment in water and sediments of the Halda river, Bangladesh: A natural fish breeding ground. *Marine Pollution Bulletin*, 160(September), 111649. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111649>
- Jalalayn, T., & Shihab, T. Q. (2022). *Surat Ar-Rum Ayat 41 | Tafsiirq.com*. Javan Labs. <https://tafsirq.com/30-ar-rum/ayat-41#tafsir-quraish-shihab>
- Jiang, C. yu, Sheng, X. fang, Qian, M., & Wang, Q. ya. (2008). Isolation and characterization of a heavy metal-resistant Burkholderia sp. from heavy metal-contaminated paddy field soil and its potential in promoting plant growth and heavy metal accumulation in metal-polluted soil. *Chemosphere*, 72(2), 157–164. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.02.006>
- Jufri, R. F. (2020). Mikrobial Isolation. *Journal La Lifesci*, 01(01), 18–23.
- Kabir, M. M., Naieum, A., & Fakhruddin, M. (2018). Isolation and characterization of chromium (VI) -reducing bacteria from tannery effluents and solid wastes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 0(0), 0. <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2510-z>
- Kafilzadeh, F., & Saberifard, S. (2016). Isolation and Identification of Chromium (VI)-Resistant Bacteria From Soltan Abad River Sediments (Shiraz-Iran). *Jundishapur Journal of Health Sciences*, 8(1), 4–10. <https://doi.org/10.17795/jjhs-33576>
- Karadede-Akin, H., & Erhan, U. (2007). Heavy metal concentrations in water, sediment, fish and some benthic organisms from Tigris River, Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment*, 131(1–3), 323–337. <https://doi.org/10.1007/s10661-006-9478-0>
- Karellova, E., Harichova, J., Stojnev, T., Pangallo, D., & Ferianc, P. (2011). The isolation of heavy-metal resistant culturable bacteria and resistance determinants from a heavy-metal-contaminated site. *Biologia*, 66(1), 18–26. <https://doi.org/10.2478/s11756-010-0145-0>
- KMNLH No. 51 Thn. (2004). Baku Mutu Air Laut KMNLH No. 51 Thn 2004. *Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup*, 0.
- Kumar, V. (2018). Mechanism of Microbial Heavy Metal Accumulation from a Polluted Environment and Bioremediation. *Microbial Cell Factories*, 149–

174. <https://doi.org/10.1201/B22219-8>
- Lehninger, A. (1994). *Dasar-dasar Biokimia. Jilid 3* (Terjemahan). Erlangga.
- Lidya, F. (2012). Studi Kandungan Logam Berat Timbal (Pb), Nikel (Ni), Kromium (Cr) dan Kadmium (Cd) pada Kerang Hijau (*Perna Viridis*) dan Sifat Fraksionasinya pada Sedimen Laut. In *Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Departemen Kimia Depok* (Vol. 3, Nomor Cd). Universitas Indonesia.
- Mahyuddin. (2021). Perusahaan Nikel Terbesar di Sulawesi Tengah, Apa itu PT IMIP? Cek Penjelasannya Artikel ini telah tayang di TribunPalu.com dengan judul Perusahaan Nikel Terbesar di Sulawesi Tengah, Apa itu PT IMIP? Cek Penjelasannya,. *TibunPalu*, 1–4.
- Mallongi, A., Parkpian, P., Pataranawat, P., & Chinwetkitvanich, S. (2015). Mercury distribution and its potential environmental and health risks in aquatic habitat at artisanal buladu gold mine in Gorontalo Province, Indonesia. *Pakistan Journal of Nutrition*, 14(12), 1010–1025. <https://doi.org/10.3923/pjn.2015.1010.1025>
- Marzan, L. W., Hossain, M., Mina, S. A., Akter, Y., & Chowdhury, A. M. M. A. (2017). Isolation and biochemical characterization of heavy-metal resistant bacteria from tannery effluent in Chittagong city, Bangladesh: Bioremediation viewpoint. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 43(1), 65–74. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2016.11.002>
- Meenambigai, P., Vijayaraghavan, R., Gowri, R. S., Rajarajeswari, P., & Prabhavathi, P. (2016). Biodegradation of Heavy Metals – A Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(4), 375–383. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.504.045>
- Mohapatra, R. K., Parhi, P. K., Thatoi, H., & Panda, C. R. (2017). Bioreduction of hexavalent chromium by *Exiguobacterium indicum* strain MW1 isolated from marine water of Paradip Port, Odisha, India. *Chemistry and Ecology*, 33(2), 114–130. <https://doi.org/10.1080/02757540.2016.1275586>
- Murwani, S. (2015). *Dasar-Dasar Mikrobiologi Veteriner*. Universitas Brawijaya Press.
- Mustami, M. K. (2013). *Genetika*. Alauddin University Press Makassar.
- Muttaqin, I. (2017). *Analisis Kandungan Logam Berat (Cu) dan Zink (Zn) dalam Air dan Sedimen di Perairan Danau Linting Sumatera Utara dengan Metode Inductively Couple Plasma (ICP)*. Universitas Sumatera Utara Medan.
- National Center for Biotechnology Information. (2022). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Nokman, W., Benluevankar, V., Maria Packiam, S., & Vincent, S. (2019). Screening and molecular identification of heavy metal resistant *Pseudomonas putida* S4 in tannery effluent wastewater. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 18(February), 101052. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101052>
- Nurhamiddin, F., & Ibrahim, M. H. (2018). Studi Pencemaran Logam Berat Timbal (Pb) dan Tembaga (Cu) pada Sedimen Laut di Pelabuhan Bastiong Kota Ternate Provinsi Maluku Utara. *jurnal Dintek*, 11(1), 41–55. <http://jurnal.umm.ac.id/index.php/dintek/article/view/139>
- Okeke, B. C. (2008). Bioremoval of hexavalent chromium from water by a salt tolerant bacterium, *Exiguobacterium* sp. GS1. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 35(12), 1571–1579.

- <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0399-5>
- Opaluwa, O., Aremu, M., Ogbo, L., Magaji, I., Odiba, I., & Ekpo, E. (2012). Assessment of Heavy Metals in Water, Fish and Sediments from UKE Stream, Nasarawa State, Nigeria. *Current World Environment*, 7(2), 213–220. <https://doi.org/10.12944/cwe.7.2.04>
- Palar, H. (1973). *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat, Litbang Teknologi Mineral Direktorat Jendral Pertambangan Umum*. Departemen Pertambangan dan Energi.
- Permen LH, N. 9/2006. (2019). *Baku Mutu Air Limbah Bagi Usaha Dan/Atau Kegiatan Pertambangan Bijih Nikel*.
- Pratiwi, D. Y. (2020). Dampak Pencemaran Logam Berat (Timbal, Tembaga, Merkuri, Kadmium, Krom) terhadap Organisme Perairan dan Kesehatan Manusia. *Jurnal Akuatek*, 1(1), 59–65.
- Radji, M. (2011). *Rekayasa Genetika*. Sagung Seto.
- Rahadi, B., Susanawati, L. D., & Agustianingrum, R. (2019). *Bioremediasi Logam Timbal (Pb) Menggunakan Bakteri Indigenous Pada Tanah Tercemar Air Lindi (Leachate) Bioremediation of Lead using Indigenous Bacteria Isolated from Leachate Contaminated Soil*. 9(3), 11–18.
- Rajeev, M., Sushmitha, T. J., Aravindraja, C., Toleti, S. R., & Pandian, S. K. (2021). Exploring the impacts of heavy metals on spatial variations of sediment-associated bacterial communities. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 209, 111808. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111808>
- Rastina, Prartono, T., & Ramadhoni, F. M. (2020). *Partisi Geokimiawi Logam Berat Ni, Cu, Dan Cd Pada Sedimen Di Perairan Morowali, Sulawesi Tengah*. IPB University.
- RI, K. A. (2021). *al-Quranulkarim dan Terjemahnya*.
- Saimu, A., Sunarto, & Santoso, L. W. (2015). Kajian Pencemaran Lingkungan Perairan Pantai Akibat Penambangan Bijih Nikel, Kasus Kec.Bungku Pesisir, Kab. Morowali, Sulawesi Tengah [Gajah Mada Univerisity]. In *Repository UGM*. http://etd.repository.ugm.ac.id/home/detail_pencarian/87323
- Saranya, K., Sundaramanickam, A., Shekhar, S., & Swaminathan, S. (2019). Biosorption of mercury by *Bacillus thuringiensis* (CASKS3) isolated from mangrove sediments of southeast coast india. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, 48(1), 143–150.
- Sekabira, K., Origa, H. O., Basamba, T. A., Mutumba, G., & Kakudidi, E. (2010). *Assessment of Heavy Metal Pollution in the Urban Stream Sediments and its Tributaries*. 7(3), 435–446.
- Shibab, M. Q. (2002). *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-qur'an*. Lentera Hati. <https://tafsirq.com/2-al-baqarah/ayat-26#tafsir-quraish-shihab>
- Singare, P. U., Trivedi, M. P., & Mishra, R. M. (2012). Sediment Heavy Metal Contaminants in Vasai Creek Of Mumbai: Pollution Impacts. *American Journal of Chemistry*, 2(3), 171–180. <https://doi.org/10.5923/j.chemistry.20120203.13>
- Sogandi. (2018). Biologi Molekuler Identifikasi Bakteri Secara Molekuler. In *Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta* (Vol. 1, Nomor 18).
- Soni, S. K., Singh, R., Awasthi, A., Singh, M., & Kalra, A. (2013). In vitro Cr(VI) reduction by cell-free extracts of chromate-reducing bacteria isolated from tannery effluent irrigated soil. *Environmental Science and Pollution Research*,

- 20(3), 1661–1674. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1178-4>
- Tarekegn, M. M., Salilih, F. Z., & Ishetu, A. I. (2020). Microbes used as a tool for bioremediation of heavy metal from the environment. *Cogent Food and Agriculture*, 6(1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2020.1783174>
- Tariq, M., Waseem, M., Rasool, M. H., Zahoor, M. A., & Hussain, I. (2019). *Isolation and molecular characterization of the indigenous Staphylococcus aureus strain K1 with the ability to reduce hexavalent chromium for its application in bioremediation of metal-contaminated sites.* 1–20. <https://doi.org/10.7717/peerj.7726>
- Teixeira, L. M., & Merquior, V. L. C. (2014). *The Prokaryotes: GAMMA.*
- Trihadiningrum, Y. (2014). Bioremoval of Chromium, Copper and Cadmium by *Bacillus cereus* in Simulated Electroplating Wastewater. *IPTEK Journal of Proceedings Series*, 0(1). <https://doi.org/10.12962/j23546026.y2014i1.406>
- Upadhyay, N., Vishwakarma, K., Singh, J., Mishra, M., Kumar, V., Rani, R., Mishra, R. K., Chauhan, D. K., Tripathi, D. K., & Sharma, S. (2017). Tolerance and reduction of chromium(VI) by *Bacillus* sp. MNU16 isolated from contaminated coal mining soil. *Frontiers in Plant Science*, 8(May), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00778>
- Vu, C. T., Lin, C., Shern, C. C., Yeh, G., Le, V. G., & Tran, H. T. (2017). Contamination, ecological risk and source apportionment of heavy metals in sediments and water of a contaminated river in Taiwan. *Ecological Indicators*, 82(January), 32–42. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.06.008>
- Walter, V., Sylđatk, C., & Hausmann, R. (2010). Screening concepts for the isolation of biosurfactant producing microorganisms. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 672, 1–13. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5979-9_1
- Waluyo, D. L. (2018). *Bioremediasi Limbah.* Universitas Muhammadiyah Malang (UMM) Press.
- Wang, C., Wang, Y., Liu, P., Sun, Y., Song, Z., & Hu, X. (2021). Characteristics of bacterial community structure and function associated with nutrients and heavy metals in coastal aquaculture area. *Environmental Pollution*, 275, 116639. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116639>
- Xiao, W., Ye, X., Yang, X., Zhu, Z., Sun, C., Zhang, Q., & Xu, P. (2017). Isolation and characterization of chromium(VI)-reducing *Bacillus* sp. FY1 and *Arthrobacter* sp. WZ2 and their bioremediation potential. *Bioremediation Journal*, 21(2), 100–108. <https://doi.org/10.1080/10889868.2017.1282939>
- Yuliani, D., Alwyda, D. F., Jannah, A., & Romaidi. (2019). Isolation, identification and characterization of chromium-lead resistant bacteria from the effluent of leather tanning industry in Malang, Indonesia. *AIP Conference Proceedings*, 2120, 1–7. <https://doi.org/10.1063/1.5115759>
- Yuwono, T. (2005). *Biologi Molekular.* Erlangga.
- Zarezadeh, R., Rezaee, P., Lak, R., Masoodi, M., & Ghorbani, M. (2017). Distribution and accumulation of heavy metals in sediments of the northern part of mangrove in hara biosphere reserve, Qeshm Island (Persian Gulf). *Soil and Water Research*, 12(2), 86–95. <https://doi.org/10.17221/16/2016-SWR>

LAMPIRAN

1. Data Analisis Kadar Logam Sampel Sedimen dan Air Pesisir Kawasan Industri di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Provinsi Sulawesi Tengah


Kode sampel:

LPPS.A-2022-11/4a= Stasiun 1 Air

LPPS.A-2022-11/4b= Stasiun 1 Sedimen

LPPS.A-2022-11/4c= Stasiun 2 Air

LPPS.A-2022-11/4d= Stasiun 2 Sedimen

 LAB. PPS FMIPA UNHAS	FORMULIR NO: FSOP-7.8-LPPS-FMIPA-UH-01.4	Tanggal Berlaku : 1 April 2019
	REKAMAN HASIL ANALISIS	Edisi/Revisi Ke : 1/0
		Halaman : 1/9

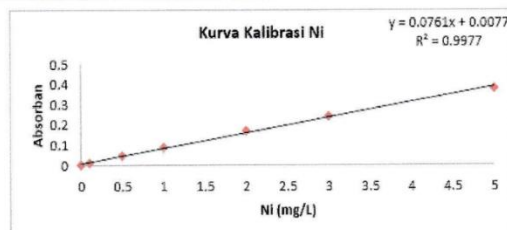
REKAMAN HASIL ANALISIS

Nomor Pekerjaan : LPPS.AJ-2202-11/4
 Tanggal Penerimaan : 17 Februari 2022
 Tanggal Analisis : 25 Februari 2022
 Suhu Ruangan : 24 °C
 Kelembapan Ruangan : 70 % RH

1. Analisis Logam Nikel (Ni)

Optimasi Analisa Nikel (Ni)			
Type Alat: AA 7000 Shimadzu : ASC-7000	Slit width : 0,2 nm	Fuel Gas Flow Rate (0.8-4.0) : 1,6 L/min	Support gas flow rate (13.5-17.50) : 15 L/min
HCL Ni Hamamatsu	Flame type : Air-C ₂ H ₂	Burner Height : 7,0 nm	P. Gelombang Max : 232,17 nm
P. gelombang : 232,0 nm	Burner angle : 0 degree		
Lamp Current Low (Peak) (mA) : 12			


Ni (mg/L)	Absorban
0	0.001
0.1	0.0103
0.5	0.0458
1	0.0889
2	0.1686
3	0.2416
5	0.3805



Persyaratan	Hasil	Keterangan keberterimaan hasil	
Linearitas	≥ 0.995	0.9977	Memenuhi

SEDIMEN


Kode Sampel Sedimen	B. Cawan Kosong (G)	Berat Sebelum Pemanasan (G)	B. Sampel (B. Basah) (G)	Berat setelah Pemanasan (G)	B. Sampel (B. Kering) (G)	Kadar Air (%)
LPPS.A-2202-11/4b-1	36.2453	41.2648	5.0195	40.6716	4.4263	11.82
LPPS.A-2202-11/4b-2	48.2616	51.2859	5.0243	50.7004	4.4388	11.65
LPPS.A-2202-11/4d-1	44.1976	49.2461	5.0485	48.7222	4.5246	10.38
LPPS.A-2202-11/4d-2	35.7144	40.7347	5.0203	40.3285	4.6141	8.09

 LAB. PPS FMIPA UNHAS	FORMULIR NO: FSOP-7.8-LPPS-FMIPAUH-01.4	Tanggal Berlaku : 1 April 2019
	REKAMAN HASIL ANALISIS	Edisi/Revisi Ke : 1/0
		Halaman : 2/9

Kode Sampel Sedimen	Absorban	[Ni] (mg/L)	fp (kali)	[Ni] x fp (mg/L)	B.sampel (G)	V. Sampel (mL)	Kadar Ni (mg/kg=ppm)
LPPS.A-2202-11/4b-1	0.0829	1.1332	1	1.21	1.0302	50	51.69
	0.0938	1.2824					
Rata-Rata	= 0.0884	1.2078					
LPPS.A-2202-11/4b-2	0.0872	1.1921	1	1.21	1.0045	50	53.29
	0.0901	1.2317					
Rata-Rata	= 0.0887	1.2119					
LPPS.A-2202-11/4d-1	0.0674	0.9212	1	0.92	1.0090	50	40.91
	0.0674	0.9212					
Rata-Rata	= 0.0674	0.9212					
LPPS.A-2202-11/4d-2	0.0682	0.9321	1	0.93	1.0041	50	42.66
	0.0682	0.9321					
Rata-Rata	= 0.0682	0.9321					

AIR LAUT

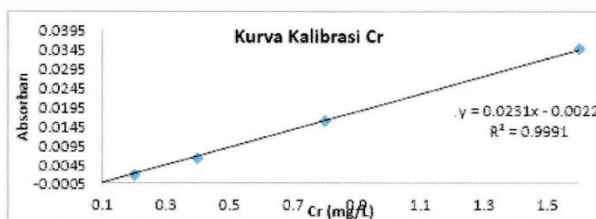
Kode Sampel Air	Absorban	[Ni] (mg/L)	fp (kali)	[Ni] x fp (mg/L)	Ket
LPPS.A-2202-11/4a-1	0.0029	0.0389	1	0.04	
	0.0028	0.0375			
Rata-Rata	= 0.0029	0.038			
LPPS.A-2202-11/4a-2	0.0022	0.0293	1	0.03	
	0.0022	0.0293			
Rata-Rata	= 0.0022	0.029			
LPPS.A-2202-11/4c-1	0.0046	0.0621	1	0.07	
	0.0058	0.0785			
Rata-Rata	= 0.0052	0.070			
LPPS.A-2202-11/4c-2	0.0041	0.0553	1	0.06	
	0.0046	0.0621			
Rata-Rata	= 0.0044	0.059			

 LAB. PPS FMIPA UNHAS	FORMULIR NO: FSOP-7.8-LPPS-FMIPAUH-01.4	Tanggal Berlaku : 1 April 2019
	REKAMAN HASIL ANALISIS	Edisi/Revisi Ke : 1/0
		Halaman : 3/9

2. Analisis Logam Krom (Cr)

Optimasi Analisa Krom (Cr)		
Type Alat: AA 7000 Shimadzu : ASC-7000	Slit width : 0,7 nm Flame type : Air-C ₂ H ₂	Fuel Gas Flow Rate (0.8-4.0) : 2,0 L/min Support gas flow rate (13.5-17.50) : 15 L/min
HCL Cr Hamamatsu P. gelombang : 357,9 nm Lamp Current Low (Peak) (mA) : 10	Burner Height : 7,0 nm Burner angle : 0 degree	P. Gelombang Max : 357,72 nm

Cr(mg/L)	Absorban
0	-0.0016
0.2	0.002
0.4	0.0066
0.8	0.0162
1.6	0.0349




Persyaratan	Hasil	Keterangan keberterimaan
Linearitas	≥ 0.995	0.9991 Memenuhi

SEDIMEN

Kode Sampel Sedimen	B. Cawan Kosong (G)	Berat Sebelum Pemanasan (G)	B. Sampel (B. Basah) (G)	Berat setelah Pemanasan (G)	B. Sampel (B. Kering) (G)	Kadar Air (%)
LPPS A-2202-11/4b-1	36.2453	41.2648	5.0195	40.6716	4.4263	11.82
LPPS A-2202-11/4b-2	46.2616	51.2859	5.0243	50.7004	4.4388	11.65
LPPS A-2202-11/4d-1	44.1976	49.2461	5.0485	48.7222	4.5246	10.38
LPPS A-2202-11/4d-2	35.7144	40.7347	5.0203	40.3285	4.6141	8.09

Kode Sampel Sedimen	Absorban	[Cr] (mg/L)	fp (kali)	[Cr] x fp (mg/L)	B. sampel (G)	V. Sampel (mL)	Kadar Cr (mg/kg=ppm)
LPPS.A-2202-11/4b-1	0.0093	0.4978	100	49.78	1.0302	50	2130.66
	0.0093	0.4978					
	Rata-Rata = 0.0093	0.4978					
LPPS.A-2202-11/4b-2	0.0088	0.4762	100	49.35	1.0045	50	2170.22
	0.0096	0.5108					
	Rata-Rata = 0.0092	0.4935					
LPPS.A-2202-11/4d-1	0.0095	0.5065	10	5.37	1.0090	50	238.40
	0.0109	0.5671					
	Rata-Rata = 0.0102	0.5368					
LPPS.A-2202-11/4d-2	0.0112	0.5801	10	5.74	1.0041	50	262.52
	0.0109	0.5671					
	Rata-Rata = 0.0111	0.5736					

 LAB. PPS FMIPA UNHAS	FORMULIR NO: FSOP-7.8-LPPS-FMIPAUIH-01.4	Tanggal Berlaku : 1 April 2019
	REKAMAN HASIL ANALISIS	Edisi/Revisi Ke : 1/0
		Halaman : 4/9

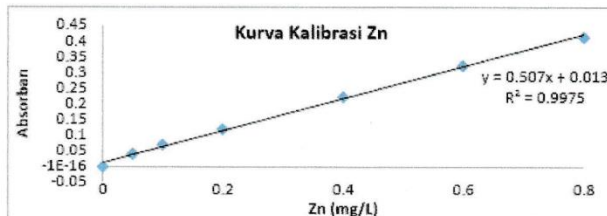
AIR LAUT

Kode Sampel Air	Absorban	[Cr] (mg/L)	fp (kali)	[Cr] x fp (mg/L)	Ket
LPPS.A-2202-11/4a-1	0.0004	0.1126	1	0.11	
	0.0004	0.1126			
Rata-Rata	= 0.0004	0.113			
LPPS.A-2202-11/4a-2	0.0003	0.1082	1	0.11	
	0.0003	0.1082			
Rata-Rata	= 0.0003	0.108			
LPPS.A-2202-11/4c-1	0.0001	0.0996	1	0.10	
	0.0000	0.0952			
Rata-Rata	= 0.0001	0.097			
LPPS.A-2202-11/4c-2	0.0001	0.0996	1	0.10	
	0.0001	0.0996			
Rata-Rata	= 0.0001	0.100			


3. Analisis Logam Seng (Zn)

Optimasi Analisa Seng (Zn)			
Type Alat: AA 7000 Shimadzu : ASC-7000	Slit width : 0.7 nm	Fuel Gas Flow Rate (0.8-4.0) : 2 L/m	
HCL Zn Hamamatsu	Flame type : Air-C ₂ H ₂	Support gas flow rate (13.5-17.50) : 15 L/r	
P. gelombang : 213,9 nm	Burner Height : 7,0 nm	P. Gelombang Max : 214,1	
Lamp Current Low (Peak) (mA) : 8	Burner angle : 0 degree		

Zn(mg/L)	Absorban
0	-0.0006
0.05	0.0393
0.1	0.0692
0.2	0.1199
0.4	0.2216
0.6	0.3212
0.8	0.4107



Persyaratan	Hasil	Keterangan keberterimaan
Linearitas	≥ 0.995	0.9975 Memenuhi

 LAB. PPS FMIPA UNHAS	FORMULIR NO: FSOP-7.8-LPPS-FMIPA-UH-01.4	Tanggal Berlaku : 1 April 2019
	REKAMAN HASIL ANALISIS	Edisi/Revisi Ke : 1/0
		Halaman : 5/9


SEDIMEN

Kode Sampel Sedimen	B. Cawan Kosong (G)	Berat Sebelum Pemanasan (G)	B. Sampel (B. Basah) (G)	Berat setelah Pemanasan (G)	B. Sampel (B. Kering) (G)	Kadar Air (%)
LPPS.A-2202-11/4b-1	36.2453	41.2648	5.0195	40.6716	4.4263	11.82
LPPS.A-2202-11/4b-2	46.2616	51.2859	5.0243	50.7004	4.4388	11.65
LPPS.A-2202-11/4d-1	44.1976	49.2461	5.0485	48.7222	4.5246	10.38
LPPS.A-2202-11/4d-2	35.7144	40.7347	5.0203	40.3285	4.6141	8.09

Kode Sampel Sedimen	Absorban	[Zn] (mg/L)	fp (kali)	[Zn] x fp (mg/L)	B.sampel (G)	V. Sampel (mL)	Kadar Zn (mg/kg=ppm)
LPPS.A-2202-11/4b-1	0.1259	0.2227	5	1.12	1.0302	50	47.82
	0.1267	0.2243					
Rata-Rata	= 0.1263	0.2235					
LPPS.A-2202-11/4b-2	0.1255	0.2219	5	1.11	1.0045	50	48.90
	0.1260	0.2229					
Rata-Rata	= 0.1258	0.2224					
LPPS.A-2202-11/4d-1	0.3255	0.6164	5	3.13	1.0090	50	138.84
	0.3345	0.6341					
Rata-Rata	= 0.3300	0.6252					
LPPS.A-2202-11/4d-2	0.3258	0.6170	5	3.20	1.0041	50	146.42
	0.3490	0.6627					
Rata-Rata	= 0.3374	0.6398					

AIR LAUT

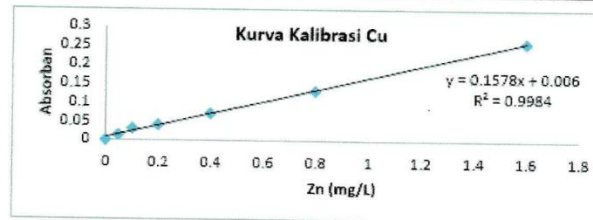
Kode Sampel Air	Absorban	[Zn] (mg/L)	fp (kali)	[Zn] x fp (mg/L)	Ket
LPPS.A-2202-11/4a-1	0.0073	-0.0112	1	-0.01	tt
	0.0066	-0.0126			
Rata-Rata	= 0.0070	-0.012			
LPPS.A-2202-11/4a-2	0.0056	-0.0146	1	-0.02	tt
	0.0051	-0.0156			
Rata-Rata	= 0.0054	-0.015			
LPPS.A-2202-11/4c-1	0.0045	-0.0168	1	-0.02	tt
	0.0046	-0.0166			
Rata-Rata	= 0.0046	-0.017			
LPPS.A-2202-11/4c-2	0.0059	-0.0140	1	-0.01	tt
	0.0054	-0.0150			
Rata-Rata	= 0.0057	-0.014			

 LAB. PPS FMIPA UNHAS	FORMULIR NO: FSOP-7.8-LPPS-FMIPAUIH-01.4	Tanggal Berlaku : 1 April 2019
	REKAMAN HASIL ANALISIS	Edisi/Revisi Ke : 1/0
	Halaman : 6/9	

4. Analisis Logam Tembaga (Cu)

Optimasi Analisa Tembaga (Cu)			
Type Alat: AA 7000 Shimadzu : ASC-7000	Slit width : 0.7 nm	Fuel Gas Flow Rate (0.8-4.0) : 2 L/min	
HCL Cu Hamamatsu	Flame type : Air-C ₂ H ₂	Support gas flow rate (13.5-17.50) : 15 L/min	
P. gelombang : 324,8 nm	Burner Height : 7,0 nm	P. Gelombang Max : 324,68 nm	
Lamp Current Low (Peak) (mA) : 8	Burner angle : 0 degree		

Cu(mg/L)	Absorban
0	0.0007
0.05	0.012
0.1	0.0285
0.2	0.0394
0.4	0.0688
0.8	0.1313
1.6	0.2584




Persyaratan	Hasil	Keterangan keberterimaan
Linearitas	≥ 0.995	0.9984 Memenuhi

SEDIMEN


Kode Sampel Sedimen	B. Cawan Kosong (G)	Berat Sebelum Pemanasan (G)	B. Sampel (B. Basah) (G)	Berat setelah Pemanasan (G)	B. Sampel (B. Kering) (G)	Kadar Air (%)
LPPS.A-2202-11/4b-1	36.2453	41.2648	5.0195	40.6716	4.4263	11.82
LPPS.A-2202-11/4b-2	46.2616	51.2859	5.0243	50.7004	4.4388	11.65
LPPS.A-2202-11/4d-1	44.1976	49.2461	5.0485	48.7222	4.5246	10.38
LPPS.A-2202-11/4d-2	35.7144	40.7347	5.0203	40.3285	4.6141	8.09

Kode Sampel Sedimen	Absorban	[Cu] (mg/L)	fp (kali)	[Cu] x fp (mg/L)	B. sampel (G)	V. Sampel (mL)	Kadar Cu (mg/kg=ppm)
LPPS.A-2202-11/4b-1	0.0240	0.1141	1	0.11	1.0302	50	4.87
	0.0239	0.1134					
Rata-Rata	= 0.0240	0.1138					
LPPS.A-2202-11/4b-2	0.0242	0.1153	1	0.11	1.0045	50	5.03
	0.0239	0.1134					
Rata-Rata	= 0.0241	0.1144					
LPPS.A-2202-11/4d-1	0.0179	0.0754	1	0.08	1.0090	50	3.49
	0.0189	0.0817					
Rata-Rata	= 0.0184	0.0786					
LPPS.A-2202-11/4d-2	0.0177	0.0741	1	0.07	1.0041	50	3.34
	0.0173	0.0716					
Rata-Rata	= 0.0175	0.0729					

 LAB. PPS FMIPA UNHAS	FORMULIR NO: FSOP-7.8-LPPS-FMIPAUH-01.4	Tanggal Berlaku : 1 April 2019
	REKAMAN HASIL ANALISIS	Edisi/Revisi Ke : 1/0
		Halaman : 7/9

AIR LAUT

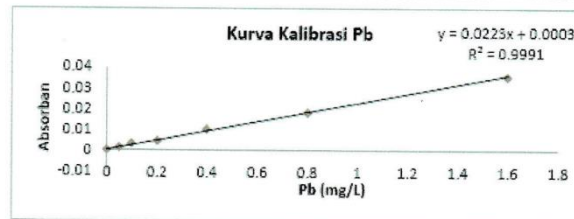
Kode Sampel Air	Absorban	[Cu] (mg/L)	fp (kali)	[Cu] x fp (mg/L)	Ket
LPPS.A-2202-11/4a-1	0.0008	-0.0330	1	-0.03	tt
	0.0009	-0.0323			
Rata-Rata	= 0.0009	-0.033			
LPPS.A-2202-11/4a-2	0.0010	-0.0317	1	-0.03	tt
	0.0009	-0.0323			
Rata-Rata	= 0.0010	-0.032			
LPPS.A-2202-11/4c-1	0.0005	-0.0349	1	-0.03	tt
	0.0005	-0.0349			
Rata-Rata	= 0.0005	-0.035			
LPPS.A-2202-11/4c-2	0.0004	-0.0355	1	-0.04	tt
	0.0005	-0.0349			
Rata-Rata	= 0.0005	-0.035			

 LAB. PPS FMIPA UNHAS	FORMULIR NO: FSOP-7.8-LPPS-FMIPAUH-01.4	Tanggal Berlaku : 1 April 2019
	REKAMAN HASIL ANALISIS	Edisi/Revisi Ke : 1/0
		Halaman : 8/9

5. Analisis Logam Timbal (Pb)

Optimasi Analisa Timbal (Pb)			
Type Alat: AA 7000 Shimadzu : ASC-7000	Slit width : 0,7 nm	Fuel Gas Flow Rate (0.8-4.0) : 2,0 L/min	
HCL Pb Hamamatsu	Flame type : Air-C ₂ H ₂	Support gas flow rate (13.5-17.50) : 15 L/min	
P. gelombang : 283,3 nm	Burner Height : 7,0 nm	P. Gelombang Max : 283,42 nm	
Lamp Current Low (Peak) (mA) : 10	Burner angle : 0 degree		

Pb(mg/L)	Absorban
0	-0.0002
0.05	0.0013
0.1	0.0029
0.2	0.0044
0.4	0.0098
0.8	0.018
1.6	0.0358




Persyaratan	Hasil	Keterangan keberterimaan
Linearitas	≥ 0.995	0.9991 Memenuhi

SEDIMEN

Kode Sampel Sedimen	B. Cawan Kosong (G)	Berat Sebelum Pemanasan (G)	B. Sampel (B. Basah) (G)	Berat setelah Pemanasan (G)	B. Sampel (B. Kering) (G)	Kadar Air (%)
LPPS.A-2202-11/4b-1	36.2453	41.2648	5.0195	40.6716	4.4283	11.82
LPPS.A-2202-11/4b-2	46.2816	51.2859	5.0243	50.7004	4.4388	11.65
LPPS.A-2202-11/4d-1	44.1976	49.2461	5.0485	48.7222	4.5246	10.38
LPPS.A-2202-11/4d-2	35.7144	40.7347	5.0203	40.3285	4.6141	8.09

Kode Sampel Sedimen	Absorban	[Pb] (mg/L)	fp (kali)	[Pb] x fp (mg/L)	B. sampel (G)	V. Sampel (mL)	Kadar Pb (mg/kg=ppm)
LPPS.A-2202-11/4b-1	0.0020	0.0762	1	0.08	1.0302	50	3.55
	0.0023	0.0897					
Rata-Rata	0.0022	0.0830					
LPPS.A-2202-11/4b-2	0.0026	0.1031	1	0.10	1.0045	50	4.54
	0.0026	0.1031					
Rata-Rata	0.0026	0.1031					
LPPS.A-2202-11/4d-1	0.0018	0.0673	1	0.06	1.0090	50	2.49
	0.0013	0.0448					
Rata-Rata	0.0016	0.0561					
LPPS.A-2202-11/4d-2	0.0011	0.0359	1	0.05	1.0041	50	2.36
	0.0018	0.0673					
Rata-Rata	0.0015	0.0516					

 LAB. PPS FMIPA UNHAS	FORMULIR NO: FSOP-7.8-LPPS-FMIPAUH-01.4	Tanggal Berlaku : 1 April 2019
	REKAMAN HASIL ANALISIS	Edisi/Revisi Ke : 1/0
		Halaman : 9/9

AIR LAUT

Kode Sampel Air	Absorban	[Pb] (mg/L)	fp (kali)	[Pb] x fp (mg/L)	Ket
LPPS.A-2202-11/4a-1	0.0002	-0.0135	1	-0.01	tt
	0.0002	-0.0135			
Rata-Rata	= 0.0002	-0.014			
LPPS.A-2202-11/4a-2	0.0002	-0.0135	1	-0.01	tt
	0.0003	-0.0120			
Rata-Rata	= 0.0003	-0.013			
LPPS.A-2202-11/4c-1	0.0004	-0.0105	1	-0.01	tt
	0.0003	-0.0120			
Rata-Rata	= 0.0004	-0.011			
LPPS.A-2202-11/4c-2	0.0003	-0.0120	1	-0.01	tt
	0.0004	-0.0105			
Rata-Rata	= 0.0004	-0.011			

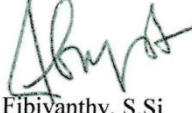
Makassar, 01 Maret 2022



Wakil Penanggung Jawab Teknis

Mandalia, S.Si, M.Si
NIP. 197508261996012001

Analisis


Fibiyanthy, S.Si
NIP. 19810202 200604 2 001



**LABORATORIUM PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN SAINS
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN**
Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Tamalanrea, Makassar 90245
Telp. 0411-586016 • Fax. 0411-588551 • Email : lpps.fmipa.unhas@gmail.com

**LAPORAN HASIL PENGUJIAN
CERTIFICATE OF ANALYSIS**

Nomor Pekerjaan : LPPS.AJ-2202-11/4

- I. Pelanggan / Principal**
 1.1 Nama / Name : Muhammad Maslan
 1.2 Alamat / Address : Desa Patongga, Kec. Tella Siatung, Bone
 1.3 Telepon / Phone : 085298533382
 1.4 Personil Penghubung / Contact Person :-
 1.5 Email / Email :-
- II. Contoh Uji / Sample**
 2.1 Kode Sampel / Sample Code :-
 2.2 Kemasan / Packaging : Botol Kaca
 2.3 Nama Sampel / Sample Name :-
 2.4 Keterangan Lain / Other Information :-
 2.5 Tanggal Sampling / Date of Sampling :-
 2.6 Diterima / Date of Received : 17 Februari 2022
 2.7 Tanggal Uji / Date of Analysis : 25 Februari 2022
 2.8 Jenis Uji / Type of Analysis : Logam Ni, Cu, Zn, Cr, Pb dengan AAS

III. Hasil Uji / Result

Nama sampel	Ulangan	Konsentrasi Logam (mg/kg atau mg/L)				
		Ni	Cr	Zn	Cu	Pb
S1 A (Air Laut)	1	tt	0,11	tt	tt	tt
	2	tt	0,11	tt	tt	tt
S1 S (Sedimen)	1	386,06	2130,66	47,82	4,87	3,55
	2	428,56	2170,22	48,90	5,03	4,54
S2 A (Air Laut)	1	0,13	0,10	tt	tt	tt
	2	0,13	0,10	tt	tt	tt
S2 S (Sedimen)	1	201,34	238,40	138,84	3,49	2,49
	2	208,74	262,52	146,42	3,34	2,36

Catatan: tt = tidak terdeteksi

Makassar, 01 Maret 2022
 Penanggung Jawab Mutu

 Dr. Nuruk Hariani Soekanto, MS
 NIP. 19601215 198702 2 001

Catatan:

- Hasil Uji hanya berlaku untuk contoh tersebut di atas
- Dilarang mengutip/menyalin sebagian isi hasil uji ini

2. Data Pengujian Mikrobiologi

3.11.1.1.1 Hasil uji *Maximun Tolerance Concentration* (MTC)



**LABORATORIUM PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN SAINS
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Tamalanrea, Makassar 90245
Telp. 0411-586016 • Fax. 0411-588551 • Email : lpps.fmipa.unhas@gmail.com

**LAPORAN HASIL PENGUJIAN
CERTIFICATE OF ANALYSIS**

Nomor Pekerjaan : LPPS.MJ-2203-1/4

- I. Pelanggan / Principal**
- 1.1 Nama / Name : Muhammad Maslan
1.2 Alamat / Address : Desa Patongga, Kec. Tella Siatting, Bone
1.3 Telepon / Phone : 085298533382
1.4 Personil Penghubung / Contact Person : -
1.5 Email / Email : -
- II. Contoh Uji / Sample**
- 2.1 Kode Sampel / Sample Code : -
2.2 Kemasan / Packaging : Botol Kaca
2.3 Nama Sampel / Sample Name : -
2.4 Keterangan Lain / Other Information : -
2.5 Tanggal Sampling / Date of Sampling : -
2.6 Diterima / Date of Received : 02 Maret 2022
2.7 Tanggal Uji / Date of Analysis : 07 Maret 2022 – 13 Mei 2022
2.8 Jenis Uji / Type of Analysis : Pengujian *Maximun Tolerance Concentration* (MTC)

III. Hasil Uji / Result

a. S1 Air

Konsentrasi K ₂ CrO ₄ mg/L	S1 Air			
	1	2	3	4
200	+	+	+	+
400	+	+	+	+
600	+	+	+	+
800	+	+	+	+
1000	+	+	+	+
1200	+	+	+	+
1500	+	+	+	+
2000	+	-	+	+
3000	-	-	+	+
4000	-	-	-	-
5000	-	-	-	-

b. S2 Air

Konsentrasi K ₂ CrO ₄ mg/L	S2 Air			
	1	2	3	4
200	+	+	+	+
400	+	+	+	+
600	+	+	+	+
800	+	+	+	+
1000	+	+	+	+
1200	+	+	+	+
1500	+	+	+	+
2000	+	-	+	+
3000	+	-	+	+
4000	+	-	-	+
5000	+	-	-	-

c. S1 Sedimen

Konsentrasi K ₂ CrO ₄ mg/L	S1 Sedimen			
	1	2	3	4
200	+	+	+	+
400	+	+	+	+
600	+	+	+	+
800	+	+	+	+
1000	+	+	+	+
1200	+	+	+	+
1500	+	+	-	+
2000	+	+	-	+
3000	+	+	-	+
4000	+	+	-	+
5000	+	+	-	+

d. S2 Sedimen

Konsentrasi K ₂ CrO ₄ mg/L	S2 Sedimen			
	1	2	3	4
200	+	+	+	+
400	+	+	+	+
600	+	+	+	+
800	+	+	+	+
1000	+	+	+	+
1200	+	+	+	+
1500	+	+	+	+
2000	+	+	+	+
3000	+	+	+	-
4000	-	+	-	-
5000	-	-	-	-

Makassar, 14 Juni 2022

Penanggungjawab Mutu


Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekanto, MS
NIP. 196012151987022001

Catatan:

- Hasil Uji hanya berlaku untuk contoh tersebut di atas
- Dilarang mengutip/menyalin sebagian isi hasil uji ini

3.11.1.1.2 Hasil uji kurva pertumbuhan bakteri tahan logam OD₆₀₀ nm

**LABORATORIUM PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN SAINS
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN**
Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Tamalanrea, Makassar 90245
Telp. 0411-586016 • Fax. 0411-588551 • Email : lpps.fmipa.unhas@gmail.com

LAPORAN HASIL PENGUJIAN
CERTIFICATE OF ANALYSIS

Nomor Pekerjaan : LPPS.MJ-2203-1/4

- I. Pelanggan / Principal**
- 1.1 Nama / Name : Muhammad Maslan
1.2 Alamat / Address : Desa Patongga, Kec. Tello Siatting, Bone
1.3 Telepon / Phone : 085298533382
1.4 Personil Penghubung / Contact Person : -
1.5 Email / Email : -
- II. Contoh Uji / Sample**
- 2.1 Kode Sampel / Sampel Code : -
2.2 Kemasan / Packaging : Botol Kaca
2.3 Nama Sampel / Sample Name : -
2.4 Keterangan Lain / Other Information : -
2.5 Tanggal Sampling / Date of Sampling : -
2.6 Diterima / Date of Received : 02 Maret 2022
2.7 Tanggal Uji / Date of Analysis : 07 Maret 2022 – 13 Mei 2022
2.8 Jenis Uji / Type of Analysis : Pengujian Pertumbuhan Bakteri Tahan Logam

III. Hasil Uji / Result

a. T0

Kode Isolat	Absorbansi	
	Tanpa Logam	Dengan Logam
1 S1 Sedimen	0,020	0,029
2 S1 Sedimen	0,014	0,025

b. T1

Kode Isolat	Absorbansi	
	Tanpa Logam	Dengan Logam
1 S1 Sedimen	0,437	0,132
2 S1 Sedimen	0,293	0,311

c. T2

Kode Isolat	Absorbansi	
	Tanpa Logam	Dengan Logam
1 S1 Sedimen	0,629	0,169
2 S1 Sedimen	0,635	0,384

d. T3

Kode Isolat	Absorbansi	
	Tanpa Logam	Dengan Logam
1 S1 Sedimen	0,777	0,450
2 S1 Sedimen	0,611	0,399

Makassar, 14 Juni 2022
Peranggungjawab Mutu

Prof. Dr. Hariani Soekanto, MSi
NIP. 19601215 198702 2 001

Catatan:

- Hasil Uji hanya berlaku untuk contoh tersebut di atas
- Dilarang mengutip/meryalin sebagian isi hasil uji ini

3.11.1.1.3 Hasil pengujian aktivitas kemampuan akumulasi logam berat Cr



**LABORATORIUM PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN SAINS
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Tamalanrea, Makassar 90245
Telp. 0411-586016 • Fax. 0411-588551 • Email : lpps.fmipa.unhas@gmail.com

**LAPORAN HASIL PENGUJIAN
CERTIFICATE OF ANALYSIS**

Nomor Pekerjaan : LPPS.AJ-2202-11/4

- I. Pelanggan / Principal**
- 1.1 Nama / Name : Muhammad Maslan
1.2 Alamat / Address : Desa Patongga, Kec. Tello Siatting, Bone
1.3 Telepon / Phone : 085298533382
1.4 Personil Penghubung / Contact Person : -
1.5 Email / Email : -
- II. Contoh Uji / Sample**
- 2.1 Kode Sampel / Sample Code : -
2.2 Kemasan / Packaging : Tabung Sentrifuge
2.3 Nama Sampel / Sample Name : -
2.4 Keterangan Lain / Other Information : -
2.5 Tanggal Sampling / Date of Sampling : -
2.6 Diterima / Date of Received : 11 Mei 2022
2.7 Tanggal Uji / Date of Analysis : 02 Juni 2022
2.8 Jenis Uji / Type of Analysis : Logam Cr dengan AAS

III. Hasil Uji / Result

Nama sampel	Konsentrasi Logam (mg/L-ppm)
	Cr
Pi	11,84
1T0	10,77
2T0	10,36
1T1	9,93
2T1	9,68
1T2	9,38
2T2	9,27
1T3	9,84
2T3	9,57



Makassar, 14 Juni 2022
Penanggungjawab Mutu

Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekanto, MS
NIP. 19601215 198702 2 001

Catatan:

- Hasil Uji hanya berlaku untuk contoh tersebut di atas
- Dilarang mengutip/menyalin sebagian isi hasil uji ini

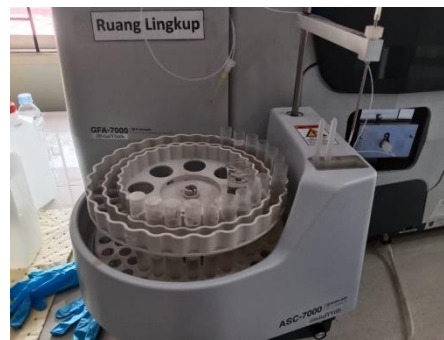
3. Dokumentasi Analisis Kadar Logam Sampel Sedimen dan Air

a. Pengambilan Sampel



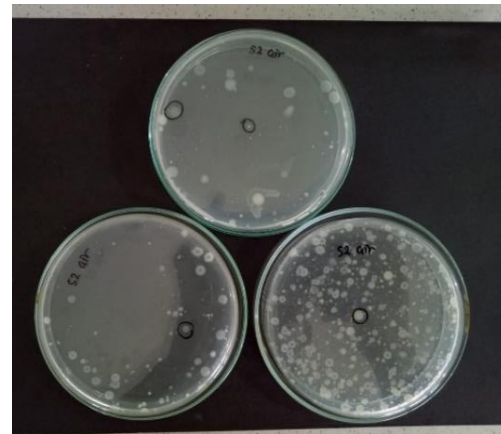
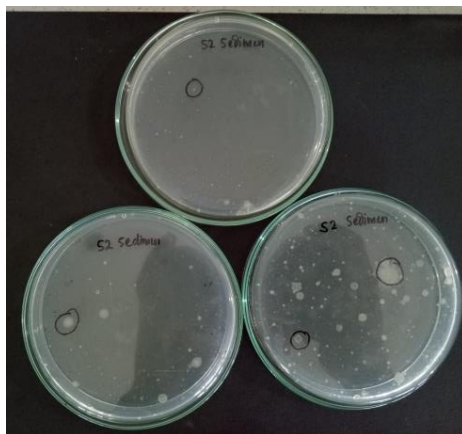
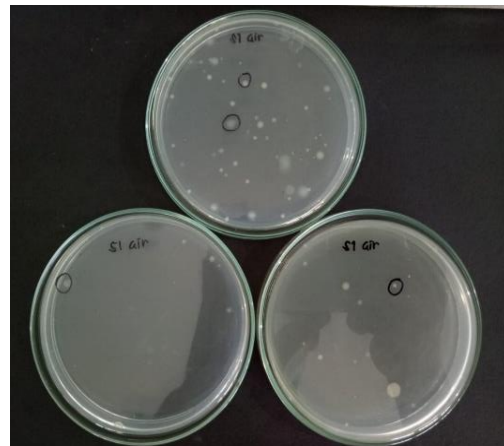
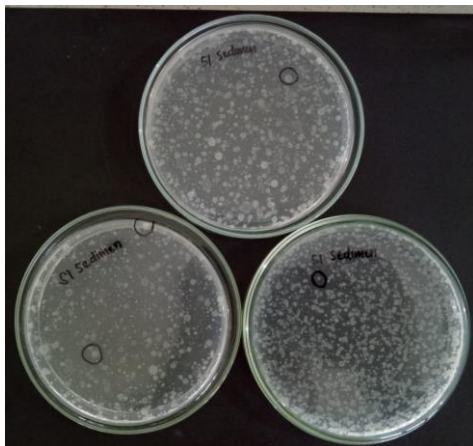
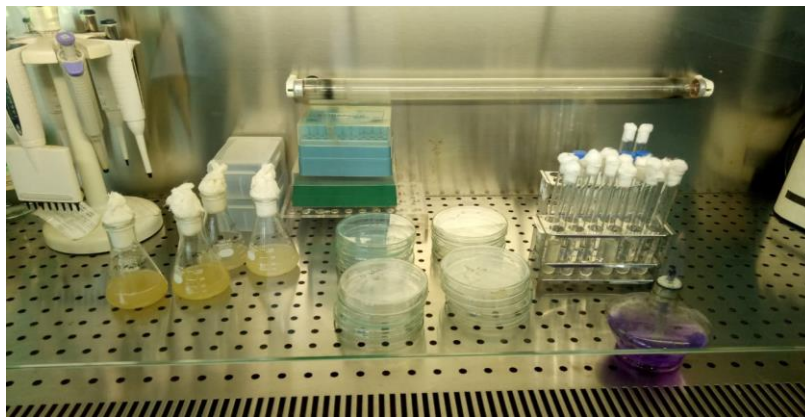
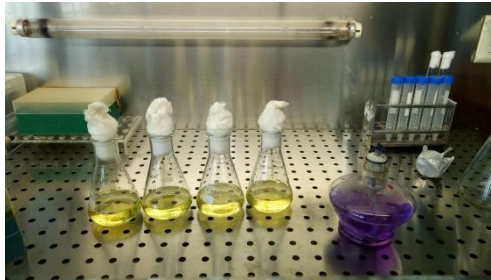
b. Uji SSA Sampel Sedimen

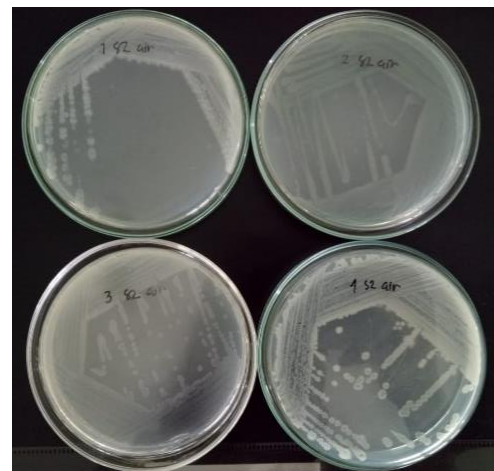
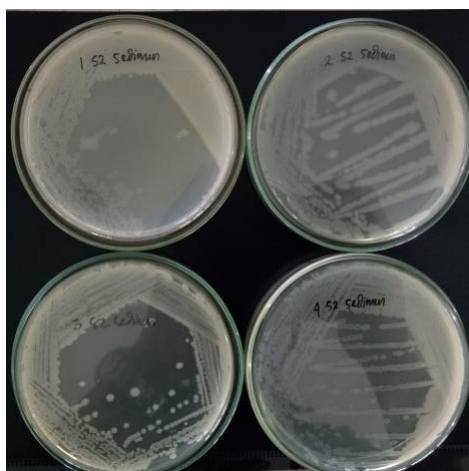
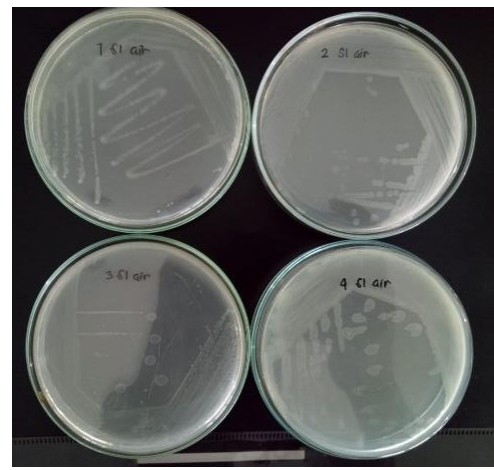
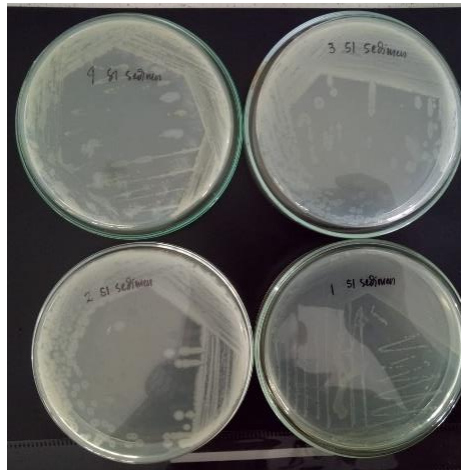


a. Uji SSA Sampel Air

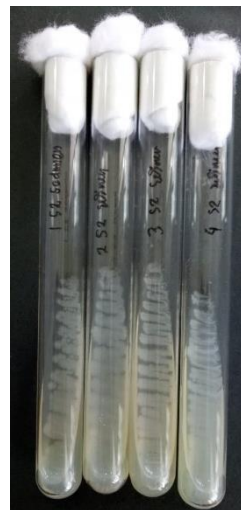
4. Dokumentasi Pengujian Mikrobiologi Sampel Sedimen dan Air

a. Isolasi dan skrining bakteri tahan logam

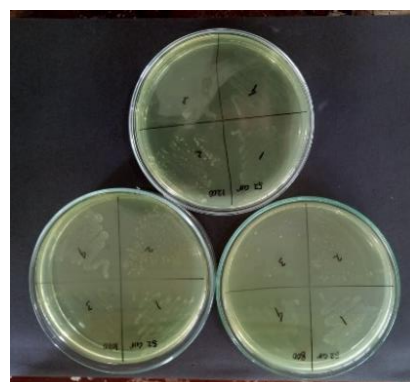
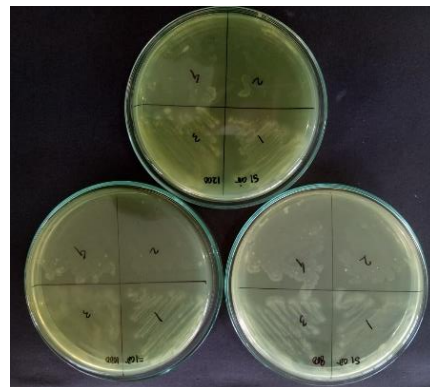
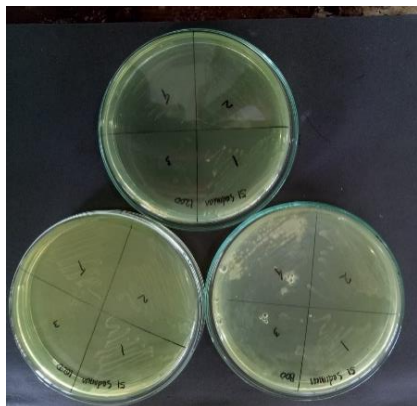
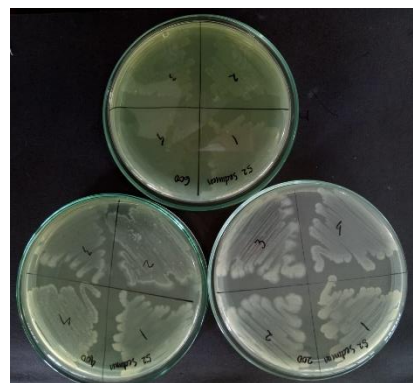
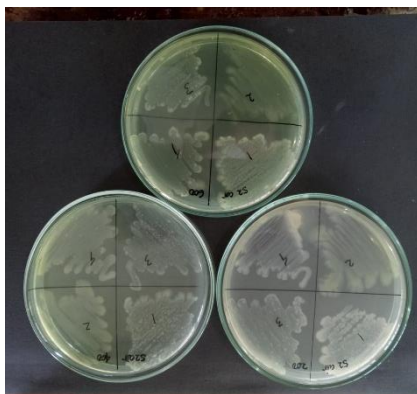
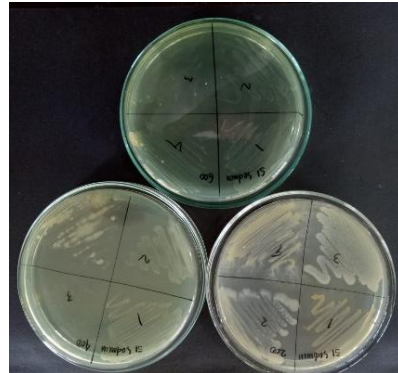
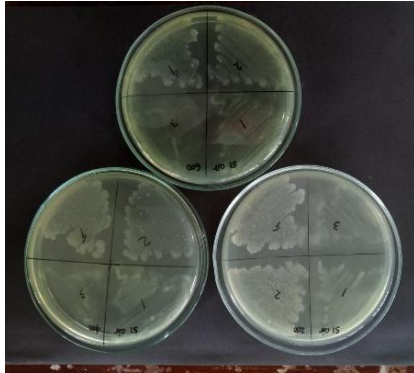


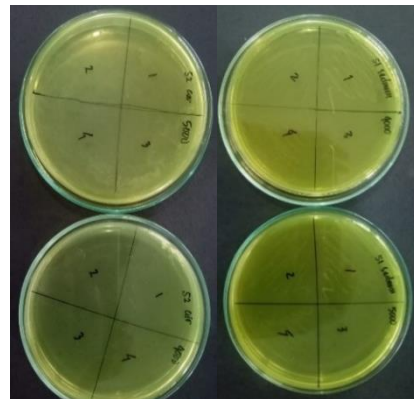
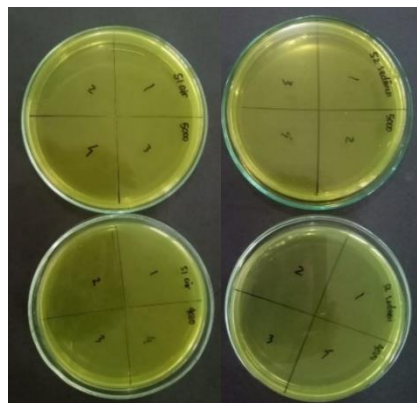
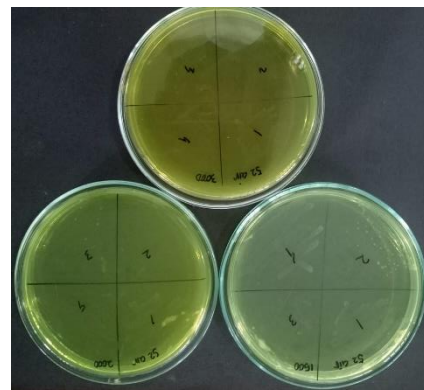
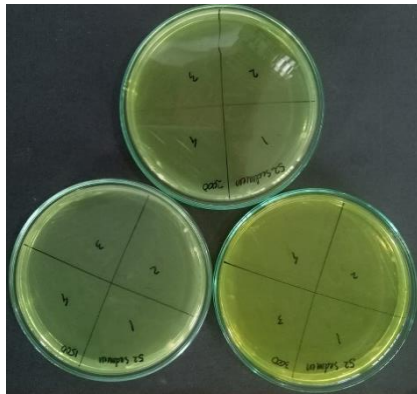
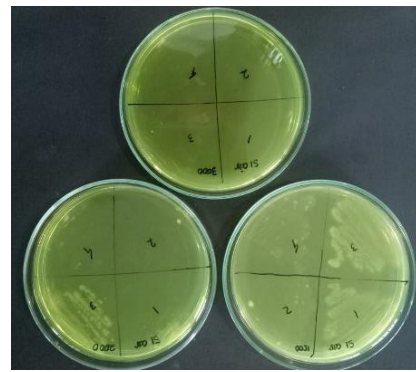
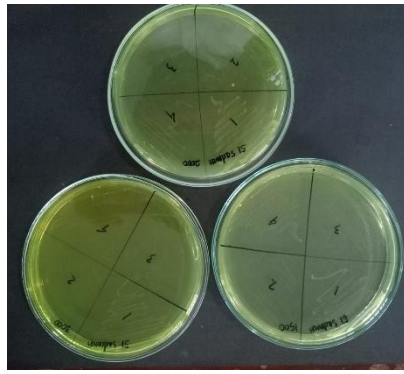


b. Kultur murni isolat bakteri sampel

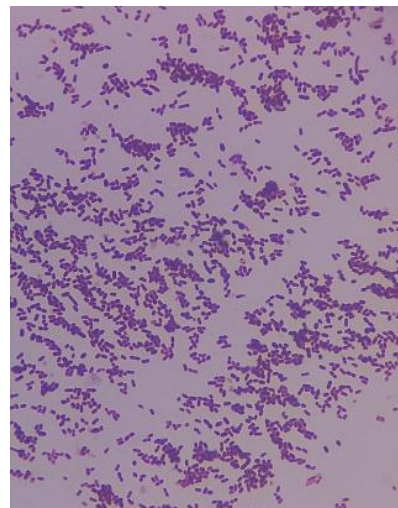
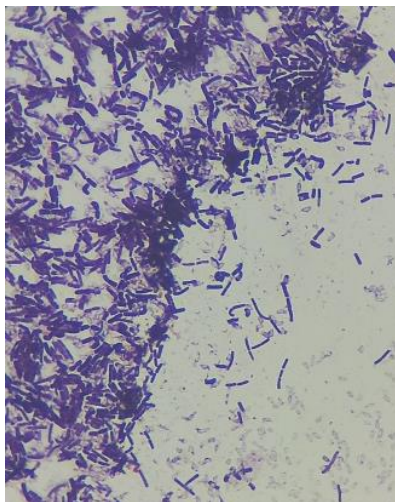


c. Pengujian *Maximum Tolerance Concentration* (MTC)

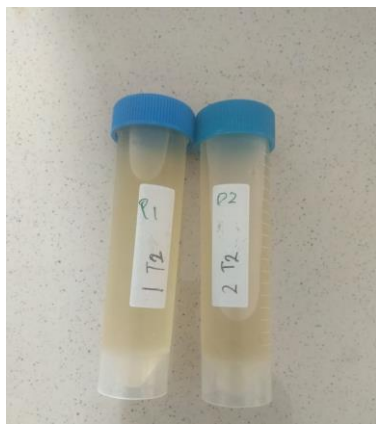




d. Pewarnaan gram sel bakteri

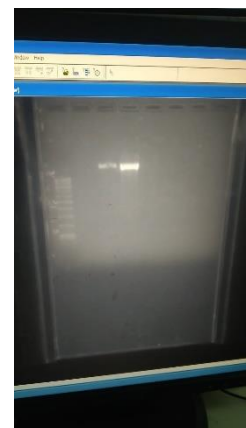
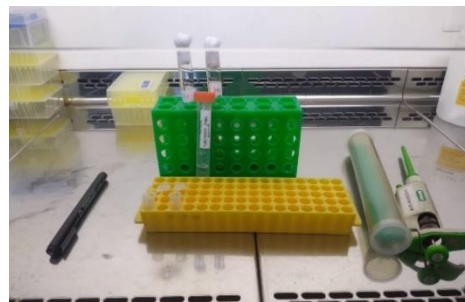
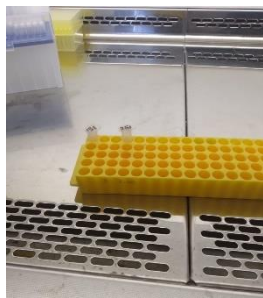
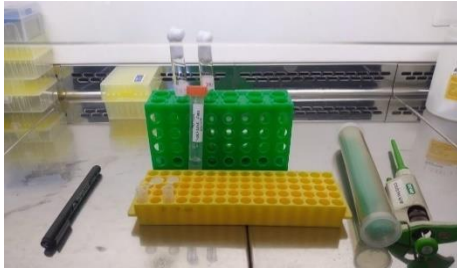


e. Pengujian kurva pertumbuhan dan aktivitas kemampuan akumulasi logam berat



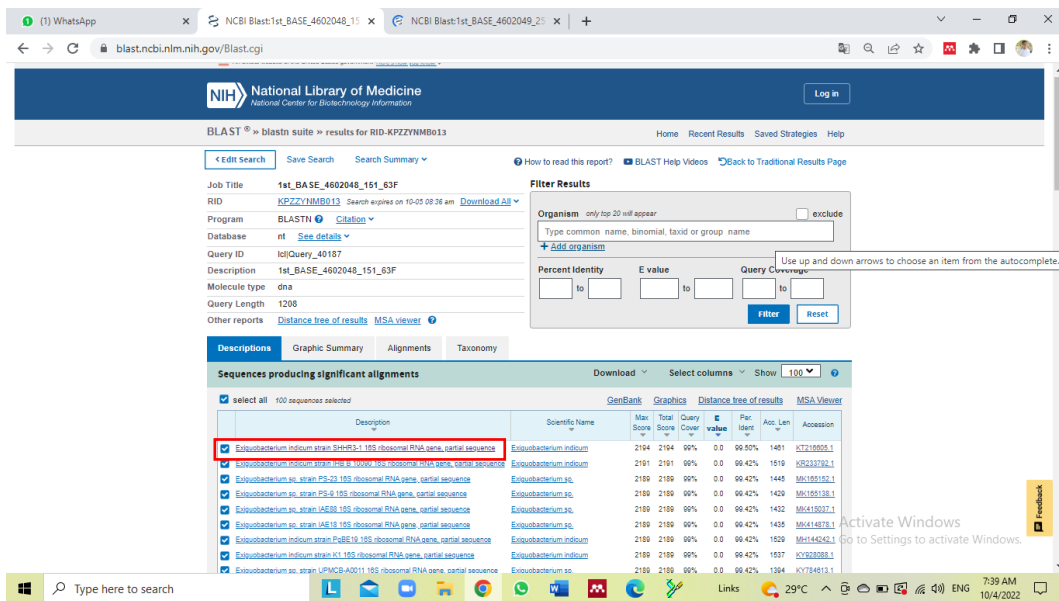
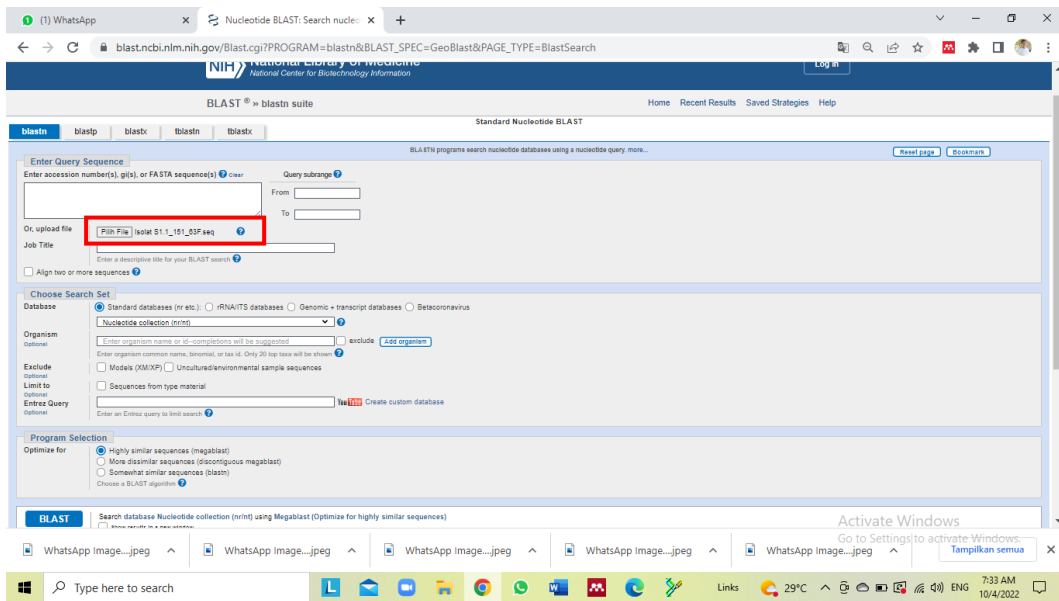
5. Dokumentasi Pengerjaan Molekuler 16S rRNA, Sekuensing, Analisis BLAST dan Uji Filogenik

a. Isolasi DNA, Ampifikasi PCR, dan Elektroresis



b. Hasil sekuensing DNA dan Analisis BLAS Nukleotida di NCBI bakteri logam berat





BLAST® » blastn suite

Standard Nucleotide BLAST

Enter Query Sequence

Enter accession number(s), g(s), or FASTA sequence(s)

Or, upload file

Choose Search Set

Database: Standard database (nr etc.) rRNA/ITS databases Genomic + transcript databases Betacoronavirus

Organism:

Exclude: Sequences from type material

Program Selection

Optimize for: Highly similar sequences (megablast) More dissimilar sequences (discontiguous megablast) Somewhat similar sequences (blastn)

Search database Nucleotide collection (nr/nt) using Megablast (Optimize for highly similar sequences)

BLAST® » blastn suite » results for RID-KR03DH3K013

Job Title: 1st_BASE_4602049_251_63F

RID: KR03DH3K013

Program: BLASTN

Database: nt

Query ID: lclQuery_61295

Description: 1st_BASE_4602049_251_63F

Molecule type: dna

Query Length: 765

Filter Results

Organism:

Percent Identity: to E value: to Query Coverage: to

Sequences producing significant alignments

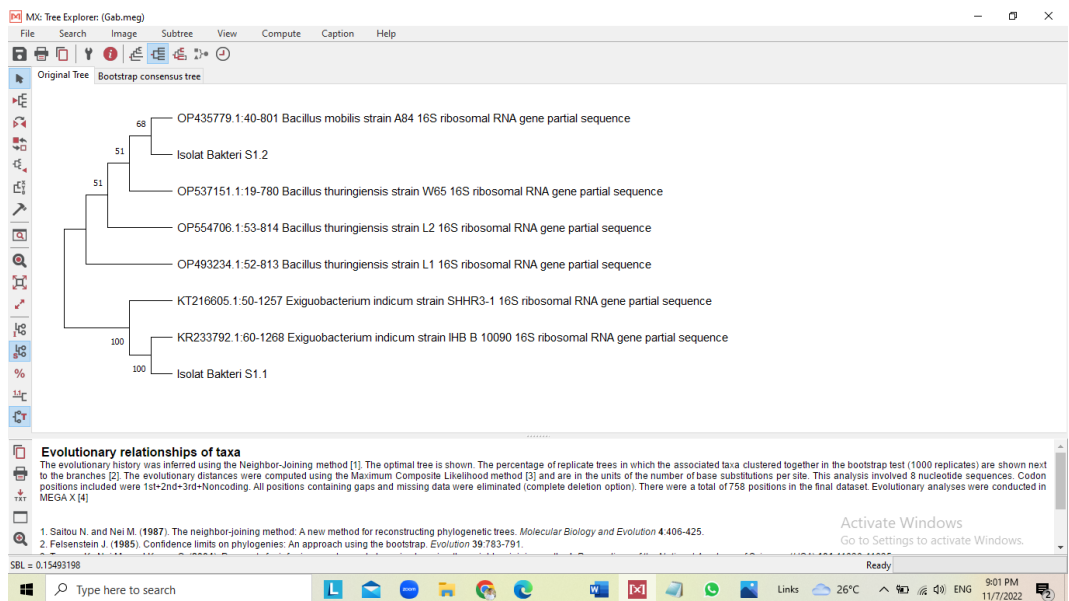
Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> <i>Bacillus mobilis</i> strain A54 18S ribosomal RNA, centre, partial sequence	<i>Bacillus</i>	<i>BA</i>	2028130	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1498	CP458772.1
<input type="checkbox"/> <i>Bacillus thuringiensis</i> strain VLP15 18S ribosomal RNA, sense, partial sequence	<i>Bacillus</i>	<i>BA</i>	1428	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1515	ON684121.1
<input type="checkbox"/> <i>Bacillus toyoensis</i> strain C445 18S ribosomal RNA, sense, partial sequence	<i>Bacillus</i>	<i>BA</i>	155332	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1401	CP115993.1
<input type="checkbox"/> <i>Bacillus thuringiensis</i> strain W42 18S ribosomal RNA, sense, partial sequence	<i>Bacillus</i>	<i>BA</i>	1428	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1428	CP115273.1
<input type="checkbox"/> <i>Bacillus toyoensis</i> strain X142 18S ribosomal RNA, sense, partial sequence	<i>Bacillus</i>	<i>BA</i>	155332	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1424	CP114799.1
<input type="checkbox"/> <i>Bacillus toyoensis</i> strain K263 18S ribosomal RNA, sense, partial sequence	<i>Bacillus</i>	<i>BA</i>	155332	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1424	CP114748.1
<input type="checkbox"/> <i>Bacillus thuringiensis</i> strain 3281 18S ribosomal RNA, sense, partial sequence	<i>Bacillus</i>	<i>BA</i>	1428	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1428	CP114248.1
<input type="checkbox"/> <i>Bacillus thuringiensis</i> strain DTJ 18S ribosomal RNA, sense, partial sequence	<i>Bacillus</i>	<i>BA</i>	1428	1397	1397	99%	0.0	99.74%	1428	CP104219.1

c. Uji filogenetik bakteri logam berat

MEGA Sequence Data Explorer (Gab.meg)

Data Display Search Groups Highlight Statistics Help

Name	Sequence
1. OP554706.1:53-814 Bacillus thuringiensis strain L2 16S ribosomal RNA gene partial sequence	T G A G A G C T T G C T C T C A A G A A G T T A G C G G C G G A C G G G T G A G T A A
2. OP537151.1:19-780 Bacillus thuringiensis strain W65 16S ribosomal RNA gene partial sequence	T G A G A G C T T G C T C T C A A G A A G T T A G C G G C G G A C G G G T G A G T A A
3. OP493234.1:52-813 Bacillus thuringiensis strain L1 16S ribosomal RNA gene partial sequence	T G A G A G C T T G C T C T C A A G A A G T T A G C G G C G G A C G G G T G A G T A A
4. OP435779.1:40-301 Bacillus mobilis strain A84 16S ribosomal RNA gene partial sequence	T G A G A G C T T G C T C T C A A G A A G T T A G C G G C G G A C G G G T G A G T A A
5. KT216005.1:50-1257 Exiguobacterium indicum strain SHHR3-1 16S ribosomal RNA gene partial sequence	T C G G A G G G A A G G C A - G T G G A A T G A G C G G C G G A C G G G T G A G T A A
6. KR233792.1:60-1268 Exiguobacterium indicum strain IHB B 10090 16S ribosomal RNA gene partial sequence	T C G G A G G G A A G G C A - G T G G A A T G A G C G G C G G A C G G G T G A G T A A
7. Isolat Bakteri S1.1	T C G G A G G G A A G G C A - G T G G A A T G A G C G G C G G A C G G G T G A G T A A
8. Isolat Bakteri S1.2	T G A G A G C T T G C T C T C A A G A A G T T A G C G G C G G A C G G G T G A G T A A





KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp. / Fax. (0341) 569350
Website : <http://magisterbiologi.uin-malang.ac.id/>, E-mail : mbio@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI TESIS

Nama : Muhammad Maslan
NIM : 200602210011
Program Studi : S2 Magister Biologi
Semester : Ganjil TA 2022/2023
Pembimbing : Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
Judul Tesis : Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pengakumulasi Logam Berat Sebagai Agen Bioremediasi dari Pesisir Kawasan Industri di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Sulawesi Tengah

No.	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	24/09/2021	Konsultasi Judul, BAB I, BAB II, dan BAB III	
2.	27/09/2021	Konsultasi BAB I dan BAB III	
3.	19/10/2021	Konsultasi BAB I dan BAB III	
4.	29/10/2021	Konsultasi BAB III	
5.	10/11/2021	Konsultasi Metode Penelitian	
6.	22/12/2021	ACC Proposal Tesis	
7.	04/10/2022	Konsultasi BAB IV	
8.	07/10/2022	Konsultasi BAB IV dan BAB V	
9.	09/11/2022	ACC Tesis	
10.			

Pembimbing Tesis 1

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 19741018 2003 12 2 2009

Malang, 22 November 2022

Ketua Program Studi



Prof. Dr. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si.
NIP. 19710919 2000 03 2 001



KARTU KONSULTASI TESIS

Nama : Muhammad Maslan
NIM : 200602210011
Program Studi : S2 Magister Biologi
Semester : Ganjil TA 2022/2023
Pembimbing : Dr. Hafsani, S.Si., M.Pd.
Judul Tesis : Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pengakumulasi Logam Berat Sebagai Agen Bioremediasi dari Pesisir Kawasan Industri di Desa Fatufia, Kecamatan Bahodopi, Kabupaten Morowali, Sulawesi Tengah

No.	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	14/09/2021	Konsultasi judul proposal tesis	
2.	24/09/2021	Konsultasi Judul, BAB I, BAB II, dan BAB III	
3.	27/09/2021	Kusultasi BAB I, BAB II, dan BAB III	
4.	21/10/2021	Konsultasi Bab 3 (Metode Penelitian)	
5.	19/11/2021	Konsultasi Metode Penelitian	
6.	14/12/2021	ACC proposal tesis	
7.	18/10/2022	Konsultasi BAB IV	
8.	1/11/2022	Konsultasi BAB IV dan BAB V	
9.	8/11/2022	ACC Tesis	
10.			

Pembimbing Tesis 2

Dr. Hafsani, S.Si., M.Pd.
NIP. 19810912 2009 12 2 008



22 November 2022
Ketua Program Studi

Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si.
NIP. 19710919 2000 03 2 001