

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI YANG BERPOTENSI  
SEBAGAI AGEN BIOREMEDIASI TIMBAL (Pb) DARI LUMPUR  
LAPINDO**

**SKRIPSI**

Oleh :  
**NITA SHILFIANI ROHMAH**  
**NIM.12620101**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2017**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI YANG BERPOTENSI  
SEBAGAI AGEN BIOREMEDIASI TIMBAL (Pb) DARI LUMPUR  
LAPINDO**

**SKRIPSI**

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

Oleh :  
**NITA SHILFIANI ROHMAH**  
**NIM. 12620101**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2017**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI YANG BERPOTENSI  
SEBAGAI AGEN BIOREMEDIASI TIMBAL (Pb) DARI LUMPUR  
LAPINDO**

**SKRIPSI**

Oleh :  
**NITA SHILFIANI ROHMAH**  
NIM. 12620101

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:  
Tanggal: 5 Januari 2017

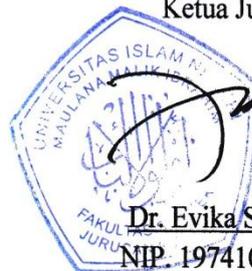
Pembimbing I,

  
Kholifah Holil, M.Si  
NIP. 19751106 200912 2 002

Pembimbing II,

  
Umayyatus Syarifah, M.A  
NIP. 19820925 200901 2 005

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Biologi



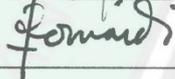
Dr. Evika Sandi Savitri, MP  
NIP. 19741018 200312 2 002

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI YANG BERPOTENSI  
SEBAGAI AGEN BIOREMEDIASI TIMBAL (Pb) DARI LUMPUR  
LAPINDO**

**SKRIPSI**

Oleh :  
**NITA SHILFIANI ROHMAH**  
NIM. 12620101

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 5 Januari 2017

Penguji Utama	<u>Dr. Hj.Ulfah Utami, M.Si</u> NIP. 19650509 199903 2 002	
Ketua Penguji	<u>Romaidi, M.Si</u> NIP. 19810201 200901 1 019	
Sekretaris Penguji	<u>Kholifah Holil, M.Si</u> NIP. 19751106 200912 2 002	
Anggota Penguji	<u>Umayyatus Syarifah, M.A</u> NIP. 19820925 200901 2 005	

Mengesahkan,  
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, MP  
NIP. 19741018 200312 2 002

**PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nita Shilfiani Rohmah  
NIM : 12620101  
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi  
Judul Penelitian : Isolasi dan Identifikasi Bakteri yang Berpotensi sebagai  
Agen Bioremediasi Timbal (Pb) dari Lumpur Lapindo.

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali secara tertulis dikutip dalam naskah dan disebutkan dalam sumber kutipan atau daftar pustaka. Apabila pernyataan hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur penjiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggungjawabkan, serta diproses sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Malang, 5 Januari 2017

Yang Membuat Pernyataan



Nita Shilfiani Rohmah  
NIM. 12620101

**MOTTO**

الْعِلْمُ لَا يُعْطِيكَ كُلَّهُ حَتَّى تُعْطِيَهُ كُلَّكَ

*“Ilmu tidak akan memberikan segalanya untukmu  
hingga kau berikan segalanya untuknya”*



## HALAMAN PERSEMBAHAN

**Yang utama dari segalanya,**

*Sembah sujud serta syukur kepada Allah SWT, taburan cinta dan kasih sayang-Mu telah memberikanku kekuatan, membekaliku ilmu, dan karunia serta kemudahan. Shalawat dan Salam semoga selalu terlimpahkan keharibaan Rasulullah Muhammad SAW yang selalu kami rindukan syafa'atnya.*

**This thesis is especially dedicated to:**

*Ayahanda dan Ibundaku tercinta (Bapak Hamdi dan Ibu Kholiswatin), keluargaku, Terima kasih untukmu, yang selama ini tiada pernah hentinya memberiku semangat, doa, dorongan, nasehat dan kasih sayang serta pengorbanan yang tak tergantikan, hingga aku selalu kuat menjalani setiap rintangan yang ada di depanku.,*

*Semua guru dan dosen yang telah memberikan bimbingan, ilmu, dan pengalamannya.*

*Sahabat-sahabat Biologi 2012, teman seperjuangan mikrobiologi dan LTPLM, Segelas coklat untuk kalian yang selalu menghangatkan, Setetes tinta untuk kalian yang selalu memberi warna Seutas senyum untuk kalian yang selalu melahirkan tawa Terima kasih sahabat, cerita tentang kalian takkan pernah habis.*

*Untuk ribuan tujuan yang harus dicapai, untuk jutaan impian yang akan dikejar, untuk sebuah pengharapan, agar hidup jauh lebih bermakna, Teruslah belajar, berusaha, dan berdoa untuk menggapainya.*

*Jatuh berdiri lagi. Kalah mencoba lagi. Gagal Bangkit lagi.*

*Never give up!*

*Sampai Allah SWT berkata "waktunya pulang"*

*Hanya sebuah karya kecil dan untaian kata-kata ini yang dapat kupersembahkan kepada kalian semua,, Terimakasih beribu terimakasih kuucapkan Atas segala kekhilafan dan kekuranganku, kurendahkan hati serta diri menjabat tangan meminta beribu kata maaf tercurah.*

*Skripsi ini kupersembahkan*

## KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*Assalamu'alaikum Wr. Wb.*

Syukur alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Isolasi dan Identifikasi Bakteri yang Berpotensi sebagai Agen Bioremediasi Timbal (Pb) dari Lumpur Lapindo’. Sholawat dan salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terimakasih seiring doa dan harapan *jazakumullah ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Kholifah Holil, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah sabar memberikan bimbingan, arahan dan waktu untuk membimbing penulis.
5. Umaiatus Syarifah, M.A selaku dosen pembimbing integrasi sains dan agama yang telah memberikan waktu, arahan dan pandangan sains dari perspektif Islam.
6. Bapak/Ibu dosen Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmunya selama studi.
7. Ibu dan Bapak serta segenap keluarga yang senantiasa memberikan doa dan restunya, semangat serta nasihat kepada penulis dalam menuntut ilmu.

8. Romaidi, M.Si, Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si, Bayu Agung Prahardika, M.Si, Prilia Dewi, M.Si yang selalu memberikan masukan dan ilmu yang representatif dengan topik peneliti
9. Semua laboran jurusan Biologi, Mbak Zaim, Mas basyar, Mas Ismail, Mbak Lil
10. Teman-teman di Laboratorium Mikrobiologi dan Biologi 2012 yang senantiasa memberikan semangat dan setia menemani saat suka maupun duka, Anik, Rurin, Riza, Habibah, Emil, Hilya, Intan, Nadia, Fitri Astria, Nike, Umda, Mbak Beti, Fina, Kikin, Syara, Yuan, Najah, Agus, Minhaj.
11. Teman Seperjuangan yang selalu setia menjadi teman berbagi ilmu, Na'im Izza, Diah.
12. Teman-teman di Pesantren Luhur, Indatun, Nadia, Mila, Rina, Uut, Mbak Alisa, Mbak Emil, Dita, Silvi yang selalu mengajarkan saya arti kebersamaan dan berbagi dalam hidup.
13. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materiil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Amin Ya Robbal Alamin.*

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb.*

Malang, 20 Desember 2016

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGAJUAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN .....</b>	<b>v</b>
<b>MOTTO .....</b>	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiv</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xv</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xvi</b>
<b>مستخلص البحث .....</b>	<b>xvii</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan masalah .....	6
1.3 Tujuan .....	6
1.4 Hipotesis Penelitian .....	6
1.5 Manfaat .....	6
1.6 Batasan Masalah .....	6
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>8</b>
2.1 Pelestarian Lingkungan Hidup dalam Pandangan Islam .....	8
2.2 Lumpur Lapindo .....	11
2.3 Pencemaran Logam Berat .....	13
2.3.1 Timbal (Pb) .....	15
2.3.2 Pengaruh Timbal (Pb) terhadap Lingkungan dan Makhluk Hidup .....	16
2.4 Bioremediasi .....	21
2.4.1 Macam-macam Bioremediasi .....	22
2.4.2 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Bioremediasi .....	24
2.4.3 Bioremediasi Logam Berat Menggunakan Mikroorganisme .....	25
2.5 Bakteri .....	27
2.5.1 Struktur Sel Bakteri .....	27
2.5.2 Fase-fase Pertumbuhan Bakteri .....	30
2.5.3 Mekanisme Resistensi Bakteri terhadap Logam Berat Timbal .....	33
2.6 Isolasi dan Identifikasi Bakteri .....	39
2.6.1 Isolasi Bakteri .....	39
2.6.2 Identifikasi Bakteri .....	41
2.6.3 Identifikasi Bakteri Menggunakan <i>Microbact</i> .....	48

<b>BAB III. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>50</b>
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian .....	50
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....	50
3.3 Variabel Penelitian .....	50
3.4 Lokasi Pengambilan Sampel .....	51
3.5 Alat dan Bahan Penelitian .....	52
3.5.1 Alat Penelitian .....	52
3.5.2 Bahan Penelitian .....	52
3.6 Prosedur Penelitian .....	52
3.6.1 Pengambilan Sampel .....	52
3.6.2 Pembuatan Media .....	53
3.6.3 Sterilisasi Alat dan Bahan .....	53
3.6.4 Isolasi Bakteri .....	53
3.6.5 Identifikasi Bakteri .....	54
3.6.5.1 Pengamatan Makroskopik Koloni Bakteri .....	54
3.6.5.2 Pengamatan Mikroskopik .....	55
3.6.5.3 Identifikasi Spesies Bakteri Menggunakan <i>Microbact</i> .....	56
3.6.6 Persiapan Kultur Inokulum .....	57
3.6.7 Uji Resistensi Bakteri terhadap Timbal (Pb) .....	58
3.6.8 Uji Penurunan Kadar Timbal (Pb) oleh Bakteri .....	58
3.6.9 Pengukuran Kadar Timbal (Pb) .....	59
3.6.9.1 Pengukuran Kadar Pb Menggunakan SSA .....	59
3.6.9.2 Pengukuran Efisiensi Penurunan Kadar Pb oleh Bakteri .....	59
3.7 Analisis Data .....	60
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>61</b>
4.1 Karakterisasi Lingkungan Lumpur Lapindo .....	61
4.2 Isolasi dan Identifikasi Bakteri dari Lumpur Lapindo .....	66
4.2.1 Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Secara Makroskopis .....	66
4.2.2 Pengamatan Mikroskopis dengan Pewarnaan Gram .....	71
4.3 Identifikasi Bakteri dengan Uji Biokimia Menggunakan <i>Microbact</i> .....	75
4.4 Uji Resistensi Bakteri terhadap Timbal (Pb) .....	80
4.5 Uji Penurunan Kadar Timbal (Pb) oleh Bakteri .....	85
<b>BAB V. PENUTUP</b> .....	<b>95</b>
5.1 Kesimpulan .....	95
5.2 Saran .....	95
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>96</b>
<b>LAMPIRAN-LAMPIRAN</b> .....	<b>105</b>

**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2.1 Semburan lumpur Lapindo.....	12
Gambar 2.2 Akumulasi Timbal dalam Tubuh Manusia.....	20
Gambar 2.3 Perbandingan Dinding Sel Bakteri Gram Positif dan Negatif.....	28
Gambar 2.4 Kurva Pertumbuhan Bakteri.....	30
Gambar 2.5 Mekanisme Resistensi Bakteri terhadap Timbal (Pb).....	35
Gambar 4.1 Koloni Tunggal Isolat Bakteri yang Menggambarkan Ukuran dan Tepi.....	69
Gambar 4.2 Hasil Pewarnaan Gram Isolat Bakteri dari Lumpur Lapindo.....	72
Gambar 4.3 Hasil Uji Resistensi Bakteri dari Lumpur Lapindo terhadap Pb berdasarkan OD $\lambda$ 600 nm .....	80
Gambar 4.4 Kurva Pertumbuhan Bakteri dari Lumpur Lapindo .....	89

**DAFTAR TABEL**

Tabel 2.1 Pewarnaan Gram .....	42
Tabel 3.1 Pemberian Volume Kultur Inokulum dan Sediaan Larutan Pb .....	57
Tabel 4.1 Hasil Pengukuran Parameter Lingkungan Lumpur Lapindo .....	61
Tabel 4.2 Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri Hasil Isolasi dari Lumpur Lapindo .....	67
Tabel 4.3 Hasil Uji Pewarnaan Gram Isolat Bakteri dari Lumpur Lapindo .....	71
Tabel 4.4 Hasil Uji Biokimia Isolat Bakteri Lumpur Lapindo Menggunakan <i>Microbact</i> .....	76
Tabel 4.5 Kemampuan Bakteri dari Lumpur Lapindo dalam Menurunkan Kadar Pb dengan Waktu Inkubasi 24 jam .....	86
Tabel 4.6 Perbedaan Waktu Terjadinya Fase Pertumbuhan pada Empat Isolat Bakteri Lumpur Lapindo .....	90

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Metode Kerja.....	105
Lampiran 2. Komposisi Media yang Digunakan dalam Penelitian.....	107
Lampiran 3. Persiapan Sediaan Larutan Pb Asetat ( $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ).....	108
Lampiran 4. Hasil Identifikasi dengan Uji Biokimia Menggunakan <i>Microbact</i> Isolat Bakteri Lumpur .....	110
Lampiran 5. Nilai Absorbansi (OD) pada Uji Resistensi dan Penurunan Kadar Pb oleh Bakteri.....	114
Lampiran 6. Hasil Perhitungan Jumlah Bakteri dengan Metode TPC pada Uji Penurunan Kadar Pb .....	116
Lampiran 7. Hasil Pengukuran Kadar Timbal (Pb) Lumpur Lapindo .....	118
Lampiran 8. Hasil Analisis Penurunan Kadar Timbal (Pb) oleh Bakteri .....	119
Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian .....	120
Lampiran 10. Hasil Analisis Statistik .....	122

## ABSTRAK

**Rohmah, Nita Shilfiani. 2016. Isolasi dan Identifikasi Bakteri yang Berpotensi sebagai Agen Bioremediasi Timbal (Pb) dari Lumpur Lapindo.** Skripsi, Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Biologi: Kholifah Holil M.Si; Pembimbing Agama: Umayyatus Syarifah, M.A

---

**Kata Kunci** : Bakteri, bioremediasi, lumpur Lapindo

Lumpur Lapindo mengandung zat pencemar berupa logam berat Pb yang dapat menyebabkan terganggunya ekosistem dan kesehatan manusia. Salah satu upaya untuk menangani hal tersebut adalah dengan teknik bioremediasi menggunakan bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui spesies bakteri yang berpotensi sebagai agen bioremediasi Timbal (Pb) dari Lumpur Lapindo.

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental dengan menggunakan rancangan penelitian deskriptif kualitatif. Sampel berasal dari lumpur Lapindo pada tiga titik yang berbeda. Isolasi bakteri menggunakan metode pengenceran dan metode *pour plate*, sedangkan identifikasi uji biokimia menggunakan *Microbact*. Parameter yang diamati berupa karakteristik makroskopik dan mikroskopik bakteri, serta uji resistensi dan kemampuannya dalam menurunkan kadar Pb. Kadar Pb yang digunakan pada uji resistensi adalah 0, 10, 20, dan 30 ppm, sedangkan pada uji penurunan kadar Pb adalah 30 ppm, masing-masing tiga ulangan. Analisis kadar Pb dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA). Data yang diperoleh disajikan secara deskriptif dan diperkuat dengan analisis statistik menggunakan uji korelasi dan uji T.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat empat isolat bakteri dari lumpur Lapindo yang resisten dan mampu menurunkan kadar Pb. Keempat isolat tersebut adalah S1T1 (*Acinetobacter baumannii*) mampu menurunkan kadar Pb dengan persentase sebesar 77,2%, S2T1 (*Bacillus subtilis*) sebesar 93%, S3T2 (*Brevibacillus laterosporus*) sebesar 69,2%, dan S4T3 (*Pseudomonas pseudomallei*) sebesar 86,13%.

## ABSTRACT

**Rohmah, Nita Shilfiani. 2016. Isolation and Identification of Potential Bacteria as the Bioremediation Agent from Lapindo Mud.** Thesis, Department of Biology, Faculty of Science and technology of the State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Biology Advisor: Kholifah Holil, M.Si; Religious Advisor: Umayyatus Syarifah, M.A

---

Key words: bacteria, bioremediation, lumpur Lapindo

Lapindo mud contains contaminant such as heavy metals Pb which cause disturbance to the ecosystem and human health. One effort to handle it is bioremediation techniques using bacteria. This study aimed to determine the species of bacteria which could potentially be a bioremediation agent Lead (Pb) from Lapindo mud.

Type of research was experimental using qualitative descriptive design. The sample of the research was Lapindo mud at three different spots. The isolation of bacteria was done through the method of dilution and pour plate method, while the identification of biochemical test employed *Microbact*. The parameters investigated are characteristic macroscopic and microscopic bacteria, and test resistance and ability to lower levels of Pb. Pb used in resistance tests were 0, 10, 20, and 30 ppm, whereas the impairment test is 30 ppm Pb, each with three replications. Pb analysis performed using Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS). The data obtained are presented in descriptive and reinforced by statistical analysis using correlation test and test T.

The results showed that there are four isolates from the Lapindo mud that resistant and can to reduce levels of Pb. The Fourth of isolates are S1T1 (*Acinetobacter baumannii*) were able to reduce levels of Pb with a percentage 77.2%, S2T1 (*Bacillus subtilis*) 93%, *Brevibacillus laterosporus* 69.2%, and *Pseudomonas pseudomallei* 86.13%.

## مستخلص البحث

رحمة، نيتا سلفياني. ٢٠١٦. عازل وتعرف البكتيريا الذي يحتمل ان تكون بمثابة وكيل المعالجة البيولوجية (Pb) من وحل لافيندوا. البحث الجامعي، قسم علم الحياة، كلية العلوم والتكنولوجيا بجامعة مولانا مالك ابراهيم الاسلامي الحكومية بمالانج، المشرفة: خليفة خليل الماجستير. المشرفة الدينية: عمية الشريفة الماجستير

### الكلمات الأساسية: البكتيريا، المعالجة البيولوجية، وحل لافيندوا

ان وحل لافيندوا له زنجارا على سبيل المثال المعدن الشديد الذي يسبب في تشويش نظام البيئي وصحة الانسان. واما الجهود المبذولة لمعالجة هذه المشكلات وهي بأسلوب المعالجة البيولوجية بالبكتيريا. واما الاهداف المرجوة من هذا البحث وهي لمعرفة نوعا من البكتيريا الذي يحتمل ان تكون بمثابة وكيل المعالجة البيولوجية (Pb) من وحل لافيندوا.

واما المدخل المستخدم في هذا البحث وهو بحث تجريبي باستخدام التصميم من نوع البحث وهو الوصفي الكيفي. واما العينة المستخدمة في هذا البحث وهي من وحل لافيندوا في ثلاث نقاط مختلفة. واما ان عازل البكتيريا باستخدام طريقة التخفيف و صب اللوحة، واما في تعرف بيوكيمياء باستخدام microbact . واما قد لوحظت العلامات في شكل خصائص المكروسكوفيك و مكروسكوفيك البكتيريا و اختبار المقاومة وكفاءة في تخفيض القدر Pb . واما القدر Pb المستخدمة في اختبار المقاومة وهي حوالي ٠، ١٠، ٢٠، ٣٠ ppm . واما في اختبار تخفيض القدر Pb وهي حوالي ٣٠ ppm. واما عملت الباحث في اختبار القدر باستخدام سفكتروفومتر من الذرة (SSA). بعد حصلت الباحثة البيانات تقديم وصفيا مباشرة وتؤكد بتحليل الاخصائي باستخدام اختبار الارتباط واختبار T .

واما النتائج المخصصة في هذا البحث وهي تدل على انها لها اربع ايصالات البكتيريا من وحل لافيندوا المقاومة وقدرة لتخفيض قدرا Pb , وكل من تلك الايصالات وهي S1T1 (*Acinetobacter baumannii*) لتخفيض قدرا Pb حوالي ٧٧,٢% S2T1 (*Bacillus subtilis*) حوالي ٩٣% ، S3T2 (*Pseudomonas pseudomallei*) S4T3 حوالي ٦٩,٢% و حوالي ٨٦,١٣%.

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Banjir lumpur panas Sidoarjo atau lumpur Lapindo merupakan peristiwa menyemburnya lumpur panas di lokasi pengeboran PT. Lapindo Brantas. Semburan lumpur tersebut hingga saat ini belum dapat dihentikan, sehingga menyebabkan kerugian besar bagi korban luapan lumpur serta lingkungan di sekitarnya. Banyak pemukiman warga, bangunan-bangunan, serta area persawahan yang tergenang lumpur Lapindo.

Berdasarkan data yang dirilis BPLS (2013), fakta di lapangan menunjukkan bahwa semburan lumpur secara bertahap telah menggenangi 12 desa yang terletak di 3 kecamatan, yaitu Porong, Tanggulangin, dan Jabon. Semburan lumpur dalam kurun waktu tujuh tahun telah menggenangi kawasan seluas 601 ha, dengan perincian 10.641 KK (kurang lebih 39. 700 jiwa) harus kehilangan tempat tinggal, 11.241 bangunan dan 362 ha sawah tenggelam (Farida, 2013).

Berdasarkan hal tersebut, pemerintah mengambil langkah untuk mengalirkan lumpur Lapindo ke sungai Porong. Pembuangan lumpur ke sungai Porong akan menyebabkan terganggunya ekosistem perairan serta kesehatan manusia. Hal ini disebabkan karena adanya kandungan zat-zat pencemar, salah satunya adalah Timbal (Pb). Kandungan zat pencemar Pb dalam lumpur Lapindo yang terus menyembur mengindikasikan terjadinya ketidakseimbangan alam yang

akhirnya menyebabkan kerusakan, sebagaimana Allah SWT berfirman dalam surat ar-Rum (30): 41,

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

Artinya:

*Telah nampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebahagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar) (QS. ar-Rum (30): 41).*

Kata **الْفَسَادُ** dalam ayat tersebut artinya “*kerusakan*”. Menurut Tafsir al-Mishbah, *al-fasad* (الفساد) adalah *keluarnya sesuatu dari keseimbangan, baik sedikit maupun banyak*. Kata keseimbangan ini dapat digunakan untuk menunjuk pada keseimbangan lingkungan, yaitu suatu keadaan dimana interaksi antara organisme dan faktor lingkungan serta komponen yang ada di dalamnya dapat berjalan dengan proporsional (Shihab, 2002). Pada peristiwa yang terjadi di Lapindo, lumpur yang menyembur termasuk keluar dari keseimbangan dalam kategori banyak. Hal ini dapat dilihat dari semburan yang belum bisa berhenti dan adanya zat-zat pencemar didalamnya.

Surat ar-Rum ayat 41 tersebut menyebutkan darat dan laut sebagai tempat terjadinya *kerusakan*, artinya darat dan laut mengalami ketidakseimbangan serta kekurangan manfaat. Perairan telah tercemar, kualitasnya menurun, serta terjadi perubahan tatanan dan fungsi ekologi. Dampaknya adalah dapat membahayakan kehidupan biota, sumberdaya, dan kenyamanan ekosistem perairan. Daratan semakin panas dan terjadi kemarau panjang, sehingga keseimbangan lingkungan

menjadi kacau. Inilah yang mengantar ulama kontemporer memahami ayat ini sebagai isyarat tentang kerusakan lingkungan (Shihab, 2002).

Salah satu contoh dari kerusakan lingkungan yang terjadi di Indonesia karena ulah manusia adalah semburan lumpur Lapindo. Semburan lumpur Lapindo merupakan salah satu bencana besar yang menjadi perhatian serius karena kandungan Pb di dalamnya. Berdasarkan hasil uji pendahuluan yang dilakukan oleh UNDAC (2006), kandungan Pb dalam lumpur lapindo mencapai 17,8 ppm (Juniawan *et al.*, 2013). Sedangkan menurut Keputusan Menteri Negara Lingkungan hidup No. 51 tahun 2004, ambang batas Pb yaitu 0,05 ppm (Dullah, 2009). Dari data tersebut, dapat diketahui bahwa kandungan Pb pada lumpur lapindo termasuk dalam kategori tinggi dan bersifat toksik, sehingga untuk menanganinya perlu dilakukan upaya bioremediasi.

Bioremediasi merupakan pengembangan dari bidang bioteknologi lingkungan, yaitu dengan memanfaatkan agen-agen biologi dalam mengendalikan pencemaran (Munir, 2006). Salah satu agen biologi untuk bioremediasi tersebut adalah mikroba dari kelompok bakteri (Waluyo, 2005). Menurut Vijaraghavan dan Yun (2008) bioremediasi Pb menggunakan bakteri menguntungkan karena lebih *feasible*, sebab bakteri dapat melakukan degradasi dan transformasi logam berat. Feliatra (1996) dalam Dharmawibawa (2004) juga menyatakan bahwa bioremediasi oleh mikroorganisme merupakan salah satu cara yang tepat, efektif, dan hampir tidak ada pengaruh sampingannya pada lingkungan, karena tidak menghasilkan racun atau blooming.

Lingkungan yang mungkin ditemukan adanya bakteri resisten logam berat adalah tanah dan perairan. Hal ini berdasarkan penelitian Gurave *et al.* (2015) yang menemukan bakteri *Bacillus Thuringiensis* dari tanah perminyakan, sedangkan hasil penelitian Lewaru *et al.*, (2012) menemukan *Bacillus thuringiensis* dan *Staphylococcus arlettae* dari sungai Cikijing yang telah tercemar Cr, Cu, dan Zn. Crawford and Don (1998) mengemukakan, beberapa spesies bakteri yang memiliki kemampuan dalam meremediasi logam berat dapat diisolasi dari lingkungan yang tercemar. Pernyataan tersebut diperkuat dengan pendapat Chojnacka (2010), bakteri yang diisolasi dari lingkungan yang tercemar logam berat sangat potensial digunakan sebagai agen bioremediasi, sebab bakteri mempunyai daya resistensi dan toleransi logam berat yang ada di sekitarnya.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah disebutkan di atas, maka dimungkinkan di dalam lumpur Lapindo juga dapat ditemukan kelompok bakteri yang berpotensi sebagai agen bioremediasi logam berat. Untuk dapat mengetahui hal tersebut, maka lumpur Lapindo perlu diisolasi bakterinya, sehingga nantinya dapat diketahui isolat bakteri apa saja yang ditemukan dan dapat diidentifikasi pula. Hasil penelitian Dagdag dan Sukoso (2015) membuktikan, pada lumpur lapindo ditemukan spesies bakteri toleran logam berat Pb, Cd, dan Cu, yaitu *Pseudomonas pseudomallei* dan *Bacillus niabensis*, sedangkan hasil penelitian Santosa (2008), menunjukkan adanya bakteri *Bacillus subtilis* juga dari lumpur Lapindo.

Cabuk *et al.* (2006) dalam Jarostawiecka *et al.* (2014) melaporkan bahwa *Bacillus* sp. mampu mengikat Pb dengan efisiensi penyerapan mencapai 91.7%.

Sedangkan menurut hasil penelitian Pardo *et al.* (2003) *Pseudomonas putida* dapat menurunkan konsentrasi Pb dengan efisiensi mencapai 80%. Penelitian-penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa bakteri yang toleran terhadap Timbal (Pb) antara lain dari genus *Azotobacter*, *Proteus*, *Corynebacterium*, *Klebsiella*, *Staphylococcus*, *Arthrobacter*, *Enterobacter*, *Listeria*, *Micrococcus*, *Phenylobacterium*, *Enhydribacter*, *Morrococcus*, *Flavobacterium*, *Streptococcus*, *Xanthobacter*, *Acinetobacter*, dan *Brevibacillus* (Zulaika *et al.*, 2012; Nath *et al.*, 2012; Jarostawiecka *et al.*, 2014; Budiharjo, 1996; Wulandari, 2005; Arrizal *et al.*, 2013; El Sayed, 2016; Chihomvu *et al.*, 2015).

Isolat bakteri dari lumpur Lapindo dapat dikategorikan memiliki potensi sebagai agen bioremediasi Pb adalah dari ketahanan hidupnya, bakteri yang tumbuh pada media inokulasi yang ditambahkan timbal asetat dan mampu menurunkan kadarnya adalah bakteri yang masuk dalam kategori tersebut. Hal ini didasarkan pada penelitian Lewaru *et al.* (2012), yang menambahkan logam berat pada media uji resistensi bakteri, hasilnya menunjukkan bahwa bakteri mampu hidup dan menurunkan kadar logam berat tersebut dari 700 ppm menjadi 80 ppm. Dengan dilakukannya penelitian tentang isolasi dan identifikasi bakteri dari lumpur Lapindo ini, diharapkan didapatkan isolat bakteri yang dapat diaplikasikan untuk mengurangi dampak pencemaran Pb yang ditimbulkan, serta dapat dimanfaatkan juga untuk kepentingan penelitian lain sejenis.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah spesies bakteri apa sajakah dari lumpur Lapindo yang berpotensi sebagai agen bioremediasi Timbal (Pb)?

## 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui spesies bakteri dari lumpur Lapindo yang berpotensi sebagai agen bioremediasi Timbal (Pb).

## 1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah terdapat beberapa spesies bakteri dari lumpur Lapindo yang berpotensi sebagai agen bioremediasi Pb.

## 1.5 Manfaat

Manfaat dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi tentang bakteri yang berpotensi sebagai agen bioremediasi timbal (Pb) dari lumpur Lapindo
2. Memberikan solusi penanganan pencemaran lingkungan oleh timbal (Pb) menggunakan cara yang aman, murah, dan efektif, yaitu dengan memanfaatkan isolat bakteri dari lumpur Lapindo

## 1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Bakteri yang diisolasi dan diidentifikasi pada penelitian ini adalah bakteri yang terdapat di lumpur Lapindo, yaitu titik satu di bak penampungan saluran pipa pembuangan ke sungai Porong, titik dua di daerah pipa saluran pembuangan lumpur, dan titik tiga di dekat pusat semburan lumpur Lapindo.

2. Lumpur Lapindo yang diambil adalah yang terdapat di bagian permukaan
3. Parameter lingkungan yang diukur adalah suhu dan pH.
4. Teknik isolasi yang digunakan adalah dengan cara pengenceran yang dilanjutkan dengan *pour plate*.
5. Media yang digunakan untuk isolasi bakteri adalah media NA. Sedangkan untuk uji resistensi dan penurunan kadar Pb menggunakan media NB yang ditambahkan timbal asetat sebanyak 0, 10, 20, dan 30 ppm.
6. Parameter yang diamati adalah ciri bakteri secara makroskopik yang meliputi bentuk, permukaan, tepi, dan warna koloni bakteri dan mikroskopik dengan pewarnaan gram dan uji biokimia.
7. Pengukuran nilai penurunan kadar Pb oleh bakteri adalah menggunakan spektrofotometer serapan atom (SSA).
8. Identifikasi bakteri sampai tingkat spesies menggunakan *microbact*

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Pelestarian Lingkungan Hidup dalam Pandangan Islam

Lingkungan hidup merupakan anugerah yang diberikan Allah SWT. kepada seluruh makhluk ciptaan-Nya untuk dimanfaatkan secara baik. Lingkungan harus dijaga dan dilestarikan sebagai wujud kepedulian untuk memmanifestasikan rasa cinta dan sayang terhadap ciptaan Allah SWT. Agama Islam mengajarkan tentang pemeliharaan lingkungan hidup yang harus diimplementasikan dalam sikap dan perilaku manusia untuk tidak membuat kerusakan di bumi (Suriyani dan Kotijah, 2013).

Pemeliharaan lingkungan hidup dan pemanfaatan sumber dayanya ditugaskan oleh Nabi Muhamad SAW, yang memberikan keleluasaan kepada umatnya untuk mengurus duniawi menurut akal yang telah dikaruniakan oleh Allah SWT, sebagaimana yang digariskan oleh Islam (al Qardlawi, 2002). Sesuai dengan hadits yang diriwayatkan oleh Muslim.

إِنَّ اللَّهَ كَتَبَ الْإِحْسَانَ عَلَى كُلِّ شَيْءٍ

Artinya: “*Sesungguhnya Allah mewajibkan kelakuan baik terhadap segala sesuatu*” (H.R Muslim No.17).

Lafadz *الإِحْسَانَ* menurut *Lisanul Arab* merupakan bentuk masdar dari fi’il madhi *أَحْسَنَ* atau *حَسَنَ* yang berarti kebaikan. Lawan dari *الإِحْسَانَ* adalah *الإِسَاءَةُ* yang berarti keburukan. Makna *الإِحْسَانَ* dapat ditujukan pada pengawasan dan baiknya ketaatan, artinya barang siapa yang merasa diawasi Allah, maka ia akan

memperbaiki perbuatannya (Manzur, 2003). Hal tersebut menunjukkan bahwa manusia sangat dianjurkan berbuat baik dan berkualitas dalam setiap perbuatan/pekerjaan, termasuk di dalamnya adalah menjaga bumi yang menjadi tempat tinggal mereka. Manusia hendaknya dapat mengendalikan dirinya untuk tidak membuat kerusakan di bumi baik terhadap sumber alam maupun lingkungan hidup. Allah SWT berfirman dalam surat al A'raf (7):56.

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

Artinya:

*“Dan janganlah kamu membuat kerusakan di bumi, sesudah (Allah) memperbaikinya dan Berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut (tidak akan diterima) dan harapan (akan dikabulkan). Sesungguhnya rahmat Allah amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik”* (QS. al-A'raaf (7): 56)

Menurut al-Jazairi (2007), menyatakan bahwa kata *وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ* mengandung arti jangan berbuat kerusakan di muka bumi dengan berbuat syirik dan maksiat setelah adanya *ishlah* (perbaikan) melalui tauhid dan ketaatan. Kemaksiatan ini mencakup segala perkara yang haram, seperti membunuh manusia dan hewan, merusak tanaman, merusak pikiran, dan segala perbuatan dosa lainnya.

Ayat di atas menjelaskan tentang larangan untuk merusak bumi. Pengrusakan merupakan salah satu bentuk pelampauan batas. Alam raya telah diciptakan Allah SWT dalam keadaan yang sangat harmonis, serasi, dan memenuhi kebutuhan makhluk. Allah SWT telah menjadikannya baik, bahkan memerintahkan hamba-hamba-Nya untuk memperbaikinya. Merusak setelah

diperbaiki lebih buruk daripada merusaknya sebelum diperbaiki, atau pada saat dia buruk. Karena itu, ayat ini secara tegas menggaris bawahi larangan tersebut (Shihab, 2002).

Tatanan lingkungan hidup (ekosistem) yang diciptakan Allah SWT mempunyai hukum keseimbangan (equilibrium). Hubungan timbal balik antara manusia dengan komponen-komponen alam harus berlangsung dalam batas keseimbangan. Apabila terjadi gangguan terhadap keseimbangan dalam lingkungan hidup (ekosistem), maka akan mengakibatkan adanya kerusakan lingkungan, termasuk karena adanya pencemaran logam berat (Suriyani dan Kotijah, 2013).

Jumlah logam berat dalam suatu lingkungan bisa berkurang atau bertambah, hal ini tidak terlepas dari aktivitas manusia yang dapat mencemari lingkungan dan akhirnya merugikan manusia itu sendiri. Allah SWT telah menciptakan unsur logam berat dengan kadar seimbang di alam. Seperti telah tercantum dalam surat al Mulk (67):3.

الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَوَاتٍ طِبَاقًا ۗ مَا تَرَىٰ فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِن تَفَوتٍ ۗ فَأَرِجِ  
الْبَصَرَ هَلْ تَرَىٰ مِن فُطُورٍ ﴿٣﴾

Artinya:

*“Yang telah menciptakan tujuh langit berlapis-lapis, kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang. Maka lihatlah berulang-ulang. Adakah kamu lihat sesuatu yang tidak seimbang?” (QS. Al Mulk (67): 3).*

Menurut Shihab (2002) dalam Tafsir Al-Mishbah, kata تَعَاوَتْ pada mulanya berarti kejauhan. Dua hal yang berjauhan mengesankan ketidakserasian atau

ketidakseimbangan. Allah SWT menciptakan langit bahkan seluruh makhluk dalam keadaan seimbang sebagai rahmat, karena seandainya ciptaan-Nya tidak seimbang, maka tentulah akan terjadi kekacauan antara yang satu dengan yang lainnya yang akan mengganggu kenyamanan hidup manusia di bumi ini, salah satu peristiwa ketidakseimbangan tersebut adalah lumpur Lapindo yang awalnya menjadi sumber tambang yang menguntungkan, namun karena akibat ulah tangan manusia yang mengeksploitasinya secara berlebihan sehingga menyebabkan bencana lumpur yang sampai saat ini masih menyembur dan menjadi sumber pencemaran.

## **2.2 Lumpur Lapindo**

Banjir lumpur panas Sidoarjo atau lumpur Lapindo merupakan peristiwa menyemburnya lumpur panas di lokasi PT. Lapindo Brantas di Desa Renokenongo Kecamatan Porong Kabupaten Sidoarjo, Jawa Timur, sejak tanggal 27 Mei 2006 (Usman *et al.*, 2006). Lumpur Lapindo yang masih menyembur sampai sekarang telah menyebabkan dampak yang besar, yaitu tergenangnya pemukiman warga, sawah, tambak, jalan dan bangunan lainnya dengan material lumpur yang mengandung berbagai zat yang dapat mencemari lingkungan (Parawita, 2009).

Data yang dirilis BPLS (2013) menunjukkan bahwa semburan lumpur secara bertahap telah menggenangi 12 desa yang terletak di 3 kecamatan, yaitu Porong, Tanggulangin, dan Jabon. Semburan lumpur dalam kurun waktu tujuh tahun telah menggenangi kawasan seluas 601 ha, dengan perincian 10.641 KK (kurang lebih 39.700 jiwa) harus kehilangan tempat tinggal, 11.241 bangunan dan

362 ha sawah tenggelam (Farida, 2013). Selama ini, pembuangan lumpur Lapindo dialirkan melalui sungai Porong dan Aloo, sehingga diduga dapat mencemari kelestarian ekosistem di sekitar aliran sungai. Apabila ada bahan pencemar yang masuk ke aliran sungai, maka akan membahayakan kehidupan biota, sumber daya, dan kenyamanan ekosistem perairan serta kesehatan manusia di sekitar aliran sungai (Juniawan *et al.*, 2013). Menurut Dahuri dan Arumsyah (1994), masuknya bahan pencemar ke dalam perairan dapat mempengaruhi kualitas perairan. Apabila bahan yang masuk ke perairan melebihi ambang batas, maka daya dukung lingkungan akan menurun.



**Gambar 2.1** Semburan Lumpur Panas Lapindo  
(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2016)

Lumpur Lapindo di Sidoarjo tersusun atas 70% air dan 30% padatan (Usman *et al.*, 2006). Kadar garam (salinitas) lumpur sangat tinggi (38-40%), sehingga bersifat asin (Arisandi, 2006). Berdasarkan hasil uji pendahuluan yang dilakukan UNDAC, lumpur Lapindo diketahui mengandung logam berat Cu sebesar 24.5 ppm, sedangkan untuk kandungan logam berat Pb sebesar 17.8 ppm

(Juniawan *et al.*, 2013). Konsentrasi logam Cu lebih besar dibandingkan Pb dalam lumpur Lapindo. Hal ini dikarenakan kelimpahan logam berat Cu pada kerak bumi sebesar 50 mg/kg, sedangkan logam Pb hanya sebesar 15 mg/kg (Moore, 1991). Menurut hasil penelitian Juniawan *et al.*, (2013), konsentrasi logam Cu dan Pb pada lumpur Lapindo pada tiap lokasi yang berdekatan berbeda, hal itu mungkin disebabkan karena semburan lumpur Lapindo memiliki kedalaman berbeda-beda setiap semburannya. Pada lumpur Lapindo dari data uji karakteristik mengenai pH diperoleh kisaran pH antara 6-7.

### 2.3 Pencemaran Logam Berat

Logam berat (*heavy metal*) adalah logam dengan massa jenis lima atau lebih, dengan nomor atom 22 sampai dengan 92 (Ridhowati, 2013). Sifat dari logam berat yaitu beracun, terakumulasi dalam tubuh organisme, sulit mengalami degradasi. Pada konsentrasi tinggi, logam berat bersifat toksik karena sukar terurai. Apabila logam berat masuk perairan, akan terakumulasi terutama dalam sedimen dan terikat sebagai senyawa organik dan anorganik (Kurniasari, 2005).

Logam berat memiliki kriteria yang sama dengan golongan logam yang lain. Perbedaannya terletak dari pengaruh yang dihasilkan bila logam berat ini berikatan atau masuk ke dalam tubuh organisme. Berbeda dengan logam biasa, logam berat biasanya menimbulkan efek-efek khusus pada makhluk hidup. Dapat dikatakan semua logam berat dapat menjadi bahan racun yang akan meracuni tubuh makhluk hidup. Contohnya adalah air raksa/merkuri (Hg), kadmium (Cd), timbal (Pb), dan Cromium (Cr). Logam-logam berat tersebut belum diketahui manfaatnya di dalam tubuh sehingga bersifat racun dan disebut dengan logam

nonessential. Namun, meski semua logam berat dapat mengakibatkan keracunan atas makhluk hidup, sebagian dari logam-logam tersebut tetap dibutuhkan oleh makhluk hidup meskipun dalam jumlah yang sangat sedikit dan jika tidak terpenuhi dan berlebihan akan berakibat fatal terhadap kelangsungan hidup organisme. Contohnya adalah tembaga (Cu), Zink (Zn), Nikel (Ni), Besi (Fe), dan Magnesium (Mg). Logam-logam ini disebut dengan logam esensial (Palar, 2008).

Beberapa sumber logam berat yang dapat mencemari air antara lain industri logam, industri bahan tambang, pemakaian logam, pemakaian senyawa-senyawa logam, ekskresi manusia atau hewan dan sampah padat. Sebaliknya, faktor yang menunjang sukar hilangnya logam-logam berat dalam air adalah logam-logam berat tidak dapat mengalami pemecahan secara biologis seperti halnya pencemar-pencemar organik non plastik. Selain itu, logam berat cenderung mengendap di dasar perairan yaitu dengan mengadakan persenyawaan bersama senyawa organik (Sumardjo, 2009).

Logam-logam berat dalam air umumnya berpengaruh buruk terhadap proses-proses biologis. Kematian ikan dan organisme perairan akibat logam berat dapat terjadi karena keracunan atau kation logam berat dengan fraksi tertentu dalam lendir insang sehingga insang terselaputi gumpalan lendir logam berat, akibatnya, organisme akan mati lemas. Timah (Pb), seng (Zn), dan tembaga (Cu), pada umumnya menyebabkan kematian ikan dan organisme perairan lainnya melalui proses semacam ini (Sumardjo, 2009).

### 2.3.1 Timbal (Pb)

Timbal sering juga disebut sebagai timah hitam atau plumbum, logam berat ini disimbolkan dengan Pb. Istilah logam berat digunakan karena timbal mempunyai densitas (rapatan) yang sangat tinggi ( $11,34 \text{ gr/cm}^3$ ), jauh lebih tinggi daripada densitas tertinggi bagi logam transisi pertama (yaitu  $8,92 \text{ gr/cm}^3$  untuk tembaga) (Sugiyarto, 2010). Timbal pada tabel periodik unsur kimia termasuk dalam kelompok logam golongan IV-A dengan nomor atom (NA) 82 dan berat atom (BA) 207,2 (Palar, 2008).

Timbal bersifat lembek-lemah, memiliki titik didih  $1.725^\circ\text{C}$  dan titik leleh  $327^\circ\text{C}$ , nampak mengkilat/berkilauan ketika baru dipotong, tetapi segera menjadi buram ketika terjadi kontak dengan udara terbuka. Hal ini karena terjadi pembentukan lapisan timbal-oksida atau timbal karbonat yang melapisi secara kuat, sehingga dapat mencegah terjadinya reaksi lebih lanjut. Karena sifat tersebut, timbal banyak digunakan dalam kebutuhan sehari-hari (Sugiyarto, 2010).

Fardiaz (2001) menyatakan bahwa timbal banyak digunakan untuk berbagai keperluan karena sifatnya sebagai berikut: 1) Timbal mempunyai titik cair rendah sehingga jika digunakan dalam bentuk cair dibutuhkan teknik yang cukup sederhana dan tidak mahal; 2) Timbal merupakan logam yang lunak sehingga mudah diubah menjadi berbagai bentuk; 3) Sifat kimia timbal menyebabkan logam ini dapat berfungsi sebagai lapisan pelindung jika kontak dengan udara lembab; 4) Timbal dapat membentuk alloy (campuran) dengan logam lainnya, dan alloy yang terbentuk mempunyai sifat berbeda dengan timbal

yang murni; 5) Densitas logam timbal lebih tinggi dibandingkan dengan logam lainnya kecuali emas dan merkuri.

### 2.3.2 Pengaruh Timbal (Pb) terhadap Lingkungan dan Makhluk Hidup

Timbal atau timah hitam atau Plumbum (Pb) adalah salah satu bahan pencemar utama. Hal ini bisa terjadi karena sumber utama pencemaran timbal adalah dari emisi gas buang kendaraan bermotor. Selain itu, timbal juga terdapat dalam limbah cair industri yang pada proses produksinya menggunakan timbal, seperti industri pembuatan baterai, industri cat, dan industri keramik. Timbal digunakan sebagai aditif pada bahan bakar, khususnya bensin di mana bahan ini dapat memperbaiki mutu bakar. Bahan ini sebagai anti *knocking* (anti letup), pencegah korosi, anti oksidan, diaktifator logam, anti pengembunan dan zat pewarna (Naria, 2005).

Komponen lingkungan mempunyai konsentrasi kadar timbal yang tinggi dan harus diwaspadai adalah udara. Kendaraan bermotor memberikan kontribusi terbesar dalam menyumbang timbal di udara. Partikel timbal yang terdapat dalam asap kendaraan bermotor berukuran 0,02–1,00  $\mu\text{m}$ , dengan masa tinggal di udara mencapai 4–40 hari. Partikel yang sangat kecil ini memungkinkan timbal terhirup dan masuk sampai ke paru paru. Timbal dalam bentuk gas akan masuk ke dalam tubuh dan dapat terikat di dalam darah (Diponegoro, 1997).

Selain udara, timbal juga dapat mencemari air. Sumber utama adanya timbal di air berasal dari pembuangan limbah yang mengandung timbal. Salah satu industri yang dalam air limbahnya mengandung timbal adalah industri aki penyimpanan di mobil, dimana elektrodanya mengandung 93% timbal dalam

bentuk timbal oksida ( $PbO_2$ ). *Public Health Service* Amerika Serikat menetapkan bahwa sumber-sumber air untuk masyarakat tidak boleh mengandung timbal lebih dari 0,05 mg/L, sedangkan WHO menetapkan batas timbal di dalam air sebesar 0,1 mg/L. Dalam mengkontaminasi sumber air, hampir semua timbal terdapat dalam sedimen, dan sebagian lagi larut dalam air (Fardiaz, 2001).

Timbal yang ada di dalam air dapat masuk ke dalam organisme di perairan, dan jika air tersebut merupakan sumber air konsumsi masyarakat maka timbal tersebut tentunya akan masuk ke dalam tubuh manusia. Baku mutu timbal di perairan berdasarkan PP No. 20 tahun 1990 adalah 0,1 mg/l. Pada analisa kandungan timbal dalam tumbuhan air didapatkan 13,0 mg/kg timbal pada pajanan 10  $\mu$ g/l. Akar tumbuhan mengandung 2,5 kali lebih tinggi dari batang (Naria, 2005).

Air yang mengandung timbal, jika digunakan untuk menyiram tanaman akan menimbulkan risiko masuknya timbal ke dalam tanaman. Hasil penelitian pemanfaatan air Sungai Bengawan Solo yang mengandung timbal digunakan untuk mengairi sawah, ternyata terdapat timbal dalam padi hasil panen sebesar 13,57 mg/kg (Diponegoro, 1997). Demikian juga hasil penelitian Naria (2005) menemukan bahwa pada kandungan timbal tanaman pada umur 26 hari setelah tanam adalah 1,98 ppm untuk bayam, 2,72 ppm untuk selada, dan 1,80 ppm untuk kangkung. Tanaman tersebut setiap hari disiram dengan air sungai yang mengandung timbal rata – rata 0,063 ppm. Masuknya timbal ke dalam tanaman tersebut berarti munculnya risiko kesehatan pada manusia ketika mengkonsumsi tanaman tersebut.

Menurut Thoha (1991), bahan pencemar yang masuk ke dalam perairan akan membunuh biota yang paling peka, sehingga mengganggu rantai makanan dalam perairan tersebut. Terputusnya salah satu rantai makanan dapat menyebabkan beberapa jenis biota tidak hidup normal. Agar biota perairan dapat hidup layak, yaitu dapat tumbuh dan berkembang biak secara normal, maka diperlukan baku mutu untuk biota tersebut.

Logam-logam berat yang masuk ke dalam tubuh hewan umumnya tidak dikeluarkan lagi dari tubuh mereka. Karena itu logam-logam cenderung untuk menumpuk di dalam tubuhnya. Sebagai akibatnya logam-logam tersebut akan terus berada di sepanjang rantai makanan. Hal ini disebabkan oleh karena predator pada satu trofik level memakan mangsa dari trofik yang lebih rendah yang telah tercemar (ikan dimakan oleh manusia). Di sini terlihat bahwa kandungan konsentrasi logam berat terdapat lebih tinggi pada tubuh hewan yang letaknya lebih tinggi didalam tropik level. Jadi predator tingkat tinggi (dengan umur lebih panjang) lebih banyak menumpuk logam berat. Pengaruh logam berat terhadap ekosistem yang dilimpahkan ke perairan, baik sungai ataupun laut akan mengalami proses-proses seperti pengendapan, adsorpsi dan absorpsi oleh organisme-organisme perairan (Bryan, 1989).

Adapun pencemaran timbal di tanah dapat berasal dari emisi kendaraan bermotor, di mana partikel timbal yang terlepas ke udara, secara alami dengan adanya gaya gravitasi, maka timbal tersebut akan turun ke tanah. Kandungan timbal dalam tanah bervariasi misalnya karena kepadatan lalu lintas, jarak dari

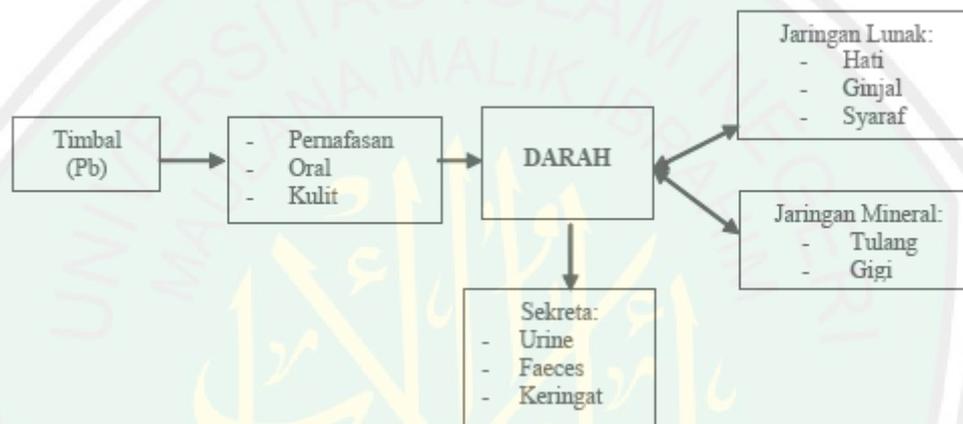
jalan raya dan kondisi transportasi. Kandungan timbal lebih banyak ditemukan pada permukaan tanah sampai beberapa cm di bawahnya (Naria, 2005).

Kandungan timbal di tanah yang belum diolah 6 – 20 ppm, dan pada tanah yang sudah diolah mencapai 300 ppm. Logam berat, seperti timbal, di dalam tanah ditemukan juga dalam bentuk ion. Logam yang tidak terikat dengan senyawa kompleks bersifat larut dan relatif tersedia bagi tanaman. Adanya senyawa organik di dalam tanah dapat mengikat logam menjadi senyawa kompleks sehingga dapat mengurangi bahaya akumulasi logam di dalam tanaman (Stevenson, 1982 dalam Ross, 1994).

Bahan pangan yang dikonsumsi manusia juga mengandung timbal secara alami. Pada ikan dan binatang lain yang mengandung timbal 0,2-2,5 mg/kg, pada daging atau telur mengandung timbal sebesar 0-0,37 mg/kg, padi-padian mengandung timbal sebesar 0-1,39 mg/kg dan sayur-sayuran mengandung 0-1,3 mg/kg. Dengan demikian, maka kita perlu memperhatikan menu makanan yang dikonsumsi setiap hari (Naria, 2005).

Indonesia mempunyai batas maksimum cemaran Timbal (Pb) pada bahan makanan yang ditetapkan oleh Dirjen POM dalam Surat Keputusan Dirjen POM No. 03725/B/SK/VII/89 tentang Batas Maksimum Cemaran Logam dalam Makanan. Bahan makanan seperti susu dan hasil olahannya kadar maksimum adalah 1,0 ppm, untuk sayuran dan hasil olahannya maksimum 2,0 ppm, untuk ikan dan hasil olahannya maksimum 2,0 ppm, dan untuk beberapa jenis bahan makanan lainnya (Depkes RI, 2001).

Timbal adalah logam berat yang dapat menyebabkan keracunan dan terakumulasi dalam tubuh manusia. Mekanisme masuknya timbal ke dalam tubuh manusia dapat melalui sistem pernafasan, oral, ataupun langsung melalui permukaan kulit. Akumulasi Timbal dalam tubuh manusia dapat dilihat pada Gambar 2.2



**Gambar 2.2** Akumulasi Timbal dalam Tubuh Manusia  
(Sumber: Depkes RI, 2001)

Kira-kira 40% dari timbal yang masuk melalui pernafasan, diabsorpsi sampai ke saluran pernafasan. Sekitar 5-10% dari senyawa timbal yang masuk diserap oleh saluran gastrointestinal. Timbal yang masuk melalui makanan, masuk ke saluran cerna, dan dapat masuk ke dalam darah. Pada anak-anak, tingkat penyerapan timbal mencapai 53%. Hal ini jauh berbeda pada tingkat penyerapan orang dewasa, yaitu sekitar 10%. Defisiensi besi (Fe) dan Kalsium (Ca) serta diet lemak tinggi dapat meningkatkan absorpsi timbal gastrointestinal. Peningkatan asam lambung dapat meningkatkan absorpsi usus sehingga absorpsi timbal juga meningkat (Riyadina,1997).

Timbal yang diabsorpsi oleh tubuh akan mengikat gugus aktif dari enzim ALAD (*Amino Levulinic Acid Dehidratase*), dimana enzim ini berfungsi pada sintesa sel darah merah. Adanya senyawa timbal akan mengganggu kerja enzim ini sehingga sintesa sel darah merah menjadi terganggu (Palar, 2008). Timbal juga akan didistribusikan ke darah, cairan ekstraselular, dan beberapa tempat deposit. Tempat deposit timbal berada di jaringan lunak (hati, ginjal, dan syaraf) dan jaringan mineral (tulang dan gigi). Timbal yang terakumulasi dalam skeleton (tulang) diperkirakan sekitar 90% dari jumlah keseluruhan. Tulang berfungsi sebagai tempat penyimpanan karena sifat ion  $Pb^{2+}$  yang hampir sama dengan  $Ca^{2+}$ .  $Pb^{2+}$  yang berkumpul dalam skeleton kemungkinan dapat diremobilisasi ke bagian-bagian tubuh lainnya lama setelah absorpsi awal (Fardiaz, 2001).

Waktu paruh timbal secara biologi dalam tulang manusia diperkirakan 2-3 tahun. Timbal dalam darah akan dapat dideteksi dalam waktu paruh sekitar 20 hari, sedangkan ekskresi timbal dalam tubuh secara keseluruhan terjadi dalam waktu paruh sekitar 28 hari. Dari darah dan tempat deposit, timbal kemudian diekskresikan melalui *urine*, *faeces*, dan keringat (Riyadina, 1997).

#### **2.4 Bioremediasi**

Bioremediasi merupakan pengembangan dari bidang bioteknologi lingkungan, yaitu dengan memanfaatkan agen-agen biologi dalam mengendalikan pencemaran (Munir, 2006). Ada beberapa keuntungan bioremediasi dibandingkan dengan teknik yang lain seperti elektrolisa, elektrodialisa. Hasil produk akhir pada bioremediasi umumnya bersifat tidak beracun, jika terjadi proses mineralisasi yang lengkap. Aktivitas biologi lain akibat proses bioremediasi relatif tidak

mengganggu. Bioremediasi tidak membutuhkan biaya yang mahal dan juga membutuhkan peralatan yang sederhana. Namun, ada beberapa kerugian dari bioremediasi yaitu suatu limbah dengan konsentrasi tinggi seringkali memerlukan stimulasi pertumbuhan bagi mikroorganisme bioremediator, selain itu bioremediasi hanya terbatas pada tempat yang tercemar saja (Waluyo, 2005).

#### 2.4.1 Macam-macam Bioremediasi

Berdasarkan agen proses biologis serta pelaksanaan rekayasa, bioremediasi dapat dibagi menjadi dalam empat kelompok, yaitu: Fitoremediasi, bioremediasi *in situ*, bioremediasi *ex situ*, dan bioaugmentasi. Fitoremediasi merupakan proses teknologi yang menggunakan tumbuhan untuk memulihkan tanah yang tercemar oleh bahan polutan secara *in situ*. Teknologi ini dapat ditunjang dengan peningkatan perbaikan media tumbuh dan ketersediaan mikroba tanah untuk meningkatkan efisiensi dalam proses degradasi bahan polutan (Surtikanti, 2011).

Tanaman yang digunakan dalam bioremediasi adalah tanaman yang mampu mendetoksifikasi unsur pencemar dalam konsentrasi yang tinggi, yaitu dengan cara melokalisasi logam pada jaringan, misalnya dengan menimbun logam di dalam organ tertentu seperti akar, trikhoma, dan lateks, tanpa membuat tanaman tumbuh dengan tidak normal dalam arti kata tidak kerdil dan tidak mengalami keracunan. Beberapa jenis tumbuhan mampu bekerja sebagai agen bioremediasi, seperti azolla, kiambang (*Salvinia molesta*), eceng gondok (*Eichhornia crassipes*), kangkung air (*Ipomea aquatic*) serta beberapa jenis tumbuhan mangrove (Aiyen, 2005).

Bioremediasi *in situ* disebut juga bioremediasi dasar atau *natural attenuation*. Teknologi ini memanfaatkan kemampuan mikroba indigen dalam merombak polutan di lingkungan. Proses ini terjadi dalam tanah secara alamiah di dalam tanah secara alamiah dan berjalan sangat lambat. Bioremediasi *in situ* merupakan metode dimana mikroorganisme diaplikasikan langsung pada tanah atau air dengan kerusakan yang minimal. Bioremediasi (*in situ bioremediation*) juga terbagi atas: 1) *Bioestimulasi/Bioventing*: dengan penambahan nutrient (N, P) dan aseptor elektron (O<sub>2</sub>) pada lingkungan pertumbuhan mikroorganisme untuk menstimulasi pertumbuhannya; 2) *Bioaugmentasi*: dengan menambahkan organisme dari luar (*exogenous microorganism*) pada subpermukaan yang dapat mendegradasi kontaminan spesifik; 3) *Biosparging*: dengan menambahkan injeksi udara dibawah tekanan ke dalam air sehingga dapat meningkatkan konsentrasi oksigen dan kecepatan degradasi (Vidali, 2001).

Adapun bioremediasi *ex situ* dikenal sebagai metode dimana mikroorganisme diaplikasikan pada tanah atau air terkontaminasi yang telah dipindahkan dari tempat asalnya. Teknik *ex situ* terdiri atas: 1) *Landfarming*: teknik dimana tanah yang terkontaminasi digali dan dipindahkan pada lahan khusus yang secara periodik diamati sampai polutan terdegradasi; 2) *Composting*: teknik yang melakukan kombinasi antara tanah terkontaminasi dengan tanah yang mengandung pupuk atau senyawa organik yang dapat meningkatkan populasi mikroorganisme; 3) *Biopiles*: merupakan perpaduan antara *landfarming* dan *composting*; 4) *Bioreactor*: dengan menggunakan aquaeous reaktor pada tanah atau air yang terkontaminasi (Vidali, 2001).

#### 2.4.2 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Bioremediasi

Keberhasilan proses bioremediasi ditentukan oleh keberhasilan untuk mengoptimalkan kondisi lingkungan yang sesuai dengan aktivitas mikroba perombak. Kondisi yang dimaksud adalah suhu, pH, tersedianya nutrisi bagi bakteri, dan oksigen (Munawar, 2012). Suhu optimum untuk penurunan logam berat adalah 35°C, sedangkan nilai pH optimumnya antara 7-8 (El-Shanshoury, A.E. *et al.*, 2013).

Menurut Andriani (2001), dalam proses bioremediasi aerobik, oksigen berperan sebagai akseptor elektron yang akan menampung kelebihan elektron dari reaktan lainnya. Oksigen dalam tanah diperoleh dari proses difusi antara udara dengan tanah. Oksigen ini mudah habis terutama jika jumlah mikroorganisme yang memanfaatkannya sangat banyak sedangkan proses difusi tersebut membutuhkan waktu yang lama. Namun, laju biodegradasi akan menurun bila kandungan oksigen berkurang. Namun kebutuhan akan oksigen dapat disuplai melalui pengadukan atau pembalikan secara berkala.

Kebutuhan oksigen optimum reaksi penguraian secara aerobik adalah lebih besar dari 0,2 mg/L dengan porositas minimal 10%, sedangkan untuk reaksi anaerobik kebutuhannya akan oksigen kurang dari 0,2 mg/L dan porositas kurang dari 1%. Pembalikan tersebut dimaksudkan juga untuk menjaga suhu tumpukan tetap ideal dan menciptakan homogenitas campuran (El-Shanshoury, A.E. *et al.*, 2013).

### 2.4.3 Bioremediasi Logam Berat Menggunakan Mikroorganisme

Secara umum, mikroba mengurangi bahaya pencemaran logam berat dengan cara detoksifikasi (biopresipitasi), biohidrometalurgi, bioleaching, dan bioakumulasi (Atlas dan Bartha, 1993; Baldi *et al.*, 1990; Mallick dan Rai, 1992). Detoksifikasi atau biopresipitasi pada prinsipnya mengubah ion logam berat yang bersifat toksik menjadi senyawa yang bersifat tidak toksik. Proses ini umumnya berlangsung dalam kondisi anaerob dan memanfaatkan senyawa kimia sebagai akseptor elektron (khemolitotrof).

Menurut Atlas dan Bartha (1993), biohidrometalurgi pada prinsipnya mengubah ion logam yang terikat pada suatu senyawa yang tidak dapat larut dalam air menjadi senyawa yang dapat larut dalam air. Bioleaching merupakan aktivitas mikroba untuk melarutkan logam berat dari senyawa yang mengikatnya dalam bentuk ion bebas. Biasanya mikroba menghasilkan asam dan senyawa pelarut untuk membebaskan ion logam dari senyawa pengikatnya. Proses ini biasanya langsung diikuti dengan akumulasi ion logam.

Bioakumulasi merupakan cara yang paling umum digunakan oleh mikroba untuk menangani limbah logam berat. Pada prinsipnya, bioakumulasi merupakan pengikatan ion-ion logam pada struktur sel mikroba (khususnya dinding sel). Pengikatan ini disebabkan oleh beberapa macam cara, yaitu: sistem transport aktif kation, ikatan permukaan, dan mekanisme lain yang tidak diketahui. Mekanisme pengikatan di atas tidak lepas dari karakter anion dan sifat fisikokimia dari dinding sel, sehingga ion logam berat (kation) mampu diikat secara adesi (Atlas dan Bartha, 1993; Mallick dan Rai, 1992).

Proses akumulasi logam berat oleh bakteri juga didasarkan atas absorpsi logam berat. Absorpsi logam berat oleh mikroorganisme dapat dibagi 2 yaitu *passive uptake* dan *active uptake*. *Passive uptake* dikenal dengan istilah proses biosorpsi. Proses ini terjadi ketika ion logam berat mengikat dinding sel dengan dua cara yang berbeda, yaitu pertukaran ion dimana ion monovalent dan divalent seperti Na, Mg, dan Ca pada dinding sel digantikan ion-ion logam berat, dan formasi kompleks antara ion-ion logam berat dengan grup fungsional seperti *carbonyl, amino, thio, hydroxyl, phosphate, dan hydroxycarbonyl* yang berada pada dinding sel. Proses biosorpsi ini bersifat bolak balik ikatan ion logam berat dipermukaan sel ini dapat terjadi pada sel mati dan sel hidup dari suatu biomassa (Suhendrayatna, 2001).

*Active uptake* dapat terjadi pada berbagai tipe sel hidup. Mekanisme ini secara simultan terjadi sejalan dengan konsumsi ion logam untuk pertumbuhan mikroorganisme dan akumulasi intraselular ion logam tersebut. Proses ini tergantung dari energi yang terkandung dan sensitifitasnya terhadap parameter-parameter yang berbeda seperti pH, suhu, kekuatan ikatan ionik, cahaya dan lainnya. Di sisi lain, mikroorganisme yang tahan terhadap efek racun ion logam akan dihasilkan pada prosedur seleksi yang ketat terhadap pemilihan jenis mikroorganisme yang tahan terhadap kehadiran ion logam berat (Adi dan Nana, 2010).

Bioremediasi berlangsung akibat aktivitas enzim yang disuplai oleh mikroorganisme untuk mengkatalis degradasi bahan-bahan kontaminan. Reaksi kimia tersebut merupakan reaksi oksidasi-reduksi yang penting untuk

menghasilkan energi bagi mikroorganismenya. Bioremediasi membutuhkan kehadiran sumber energi yang sesuai, sistem donor-akseptor elektron, dan nutrisi. (Munawar, 2012).

## 2.5 Bakteri

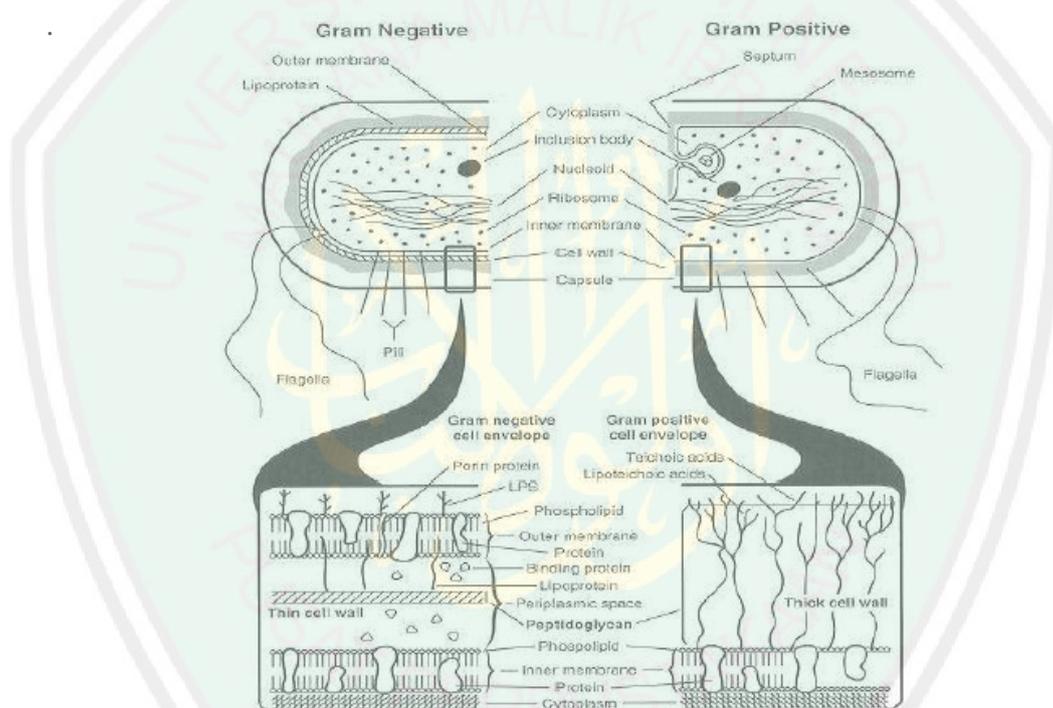
### 2.5.1 Struktur Sel Bakteri

*Appendages* merupakan struktur non seluler yang biasanya dipakai sebagai alat gerak atau kolonisasi. Berbagai macam *appendages* dijumpai pada bakteri, *Appendages* biasanya terletak di luar permukaan sel bakteri. Ada tiga kelompok *Appendages* pada bakteri berdasarkan fungsinya, yaitu flagella untuk bergerak, fimbriae untuk perlekatan, dan pili untuk pertukaran genetik (Purwoko, 2007).

Glikokaliks merupakan material ekstra sel yang melekat di bagian luar dinding sel. Semua bakteri kemungkinan dilindungi glikokaliks ketika hidup di habitat alamnya. Fungsi glikokaliks adalah untuk perlekatan sel ke sel lainnya dan proteksi terhadap fagositosis. Glikokaliks dibedakan menjadi kapsula, lapisan S (S-layer) dan lapisan lender (slime layer) (Purwoko, 2007).

Dinding sel merupakan suatu struktur yang amat kaku memberikan bentuk pada sel, dan terletak di bawah substansi ekstraseluler seperti kapsul atau lendir dan di luar membran sitoplasma. Dinding sel bakteri penting bagi pertumbuhan dan pembelahan (Pelczar, 2008). Dinding sel yang mengandung molekul kompleks semi-kaku dan rajutan ketat yang dinamakan peptidoglikan (Subandi, 2010). Komposisi kimiawi dinding sel yang menyebabkan kekakuan dinding sel ialah peptidoglikan. Polimer peptidoglikan (molekul besar yang terdiri dari unit-unit yang diulang-ulang) yang amat besar ini terdiri dari tiga macam bahan

pembangun: N-asetilglukosamin (NAG), N-asetilmuramat (NAM), dan suatu peptide yang terdiri dari 4-5 asam amino, yaitu L-alanin, D-alanin, asam D-glutamat, dan lisin. Dinding sel yang utuh juga mengandung komposisi kimiawi lain seperti protein, polisakarida, dan lipopolisakarida yang terikat pada peptidoglikan (Pelczar, 2008) Berikut gambar 2.3 yang menunjukkan perbandingan antara dinding sel gram positif dan gram negatif.



**Gambar 2.3** Perbandingan dinding sel bakteri Gram positif dan negatif secara detail ditunjukkan pada bagian peptidoglikan. Gram positif memiliki dinding sel yang tebal, sedangkan Gram negatif dindingselnya tipis (Sumber: *Milton R.J. Salton dan Kwang-Shin Kim, 2001*)

Fungsi peptidoglikan adalah untuk mencegah lisis osmosis. Agar bakteri meningkatkan ukurannya yang diikuti pembelahan biner, hubungan pada peptidoglikan harus dipecah, monomer baru harus disisipkan dan hubungan lintasan peptida harus disambung lagi. Sintesis peptidoglikan baru terjadi pada sel

hasil pembelahan dengan cara mengumpulkan mesin pembelahan sel yang disebut devisom. Berikut adalah yang terjadi pada devisom: Enzim bakteri autolysin (memecahkan ikatan glikosida, di antara monomer peptidoglikan dan memecah jembatan lintas peptida yang menghubungkan untaian gula); Enzim transglikosida yang menghubungkan dan menyisipkan monomer peptidoglikan baru ke dalam pecahan peptidoglikan; Enzim transpeptidase membentuk kembali hubungan lintas peptide di antara untaian dan lapisan dari peptidoglikan yang membuat dinding sel kuat (Hadioetomo, 1993).

Membran sitoplasma atau membran sel terletak di bagian dalam dinding sel. Membran sel merupakan membran selektif permeabel yang menentukan masuk dan keluarnya substansi kimiawi dalam larutan. Semua sel harus mengambil dan menahan berbagai jenis bahan kimia yang diperlukan untuk metabolisme (Hadioetomo, 1993). Membran sel berperan sebagai aktivitas transportasi solut, transfer elektron dari respirasi ke fotosintetik, penghasil gradien elektrokimia, sintesis ATP, biosintesis lipid dan dinding sel, sekresi protein, sinyal dan respons terhadap lingkungan (Purwoko, 2007).

Beberapa fungsi lain membran yang membungkus organel di antaranya adalah (Hadioetomo, 1993):

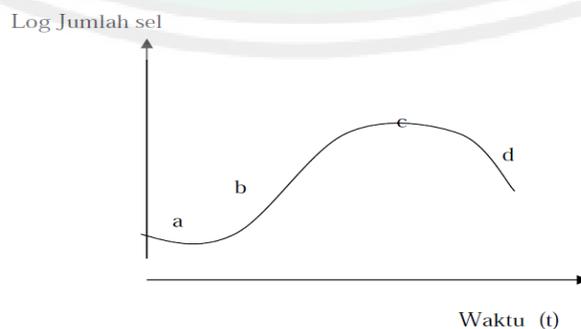
- a. Produksi energi (sistem transport elektron dari bakteri dengan respirasi aerobik).
- b. Sintesis peptidoglikan, baik pada saat pertumbuhan dinding sel maupun pembentukan septum yang membagi bakteri selama pembelahan sel.

- c. Sintesis fosfolipid dan beberapa sintesis protein untuk menghasilkan banyak membran sitoplasma.
- d. Terlibat dalam pembelahan amitosis dari nukleoid, replikasi, dan pemisahan DNA selama pembelahan bakteri.
- e. Mengandung bahan dasar flagella yang digunakan dalam pergerakan
- f. Terlibat dalam endospora

Bahan aktif perusak membran sel salah satunya *ionophores*, yang menyebabkan kation tertentu berdifusi secara tepat melewati membran. Ionofor dapat membunuh sel dengan menghilangkan potensial membran, yang penting untuk fosforilasi oksidasi seperti proses pada membran semua sel (Brooks, 2005). Sitoplasma didefinisikan segala sesuatu yang terbungkus membran sel. Bagian cair pada sitoplasma disebut sitosol. Pada sitoplasma dijumpai struktur yang merupakan perluasan membran sel, inklus, dan berbagai organel (Purwoko, 2007)

### 2.5.2 Fase-Fase Pertumbuhan Bakteri

Terdapat empat fase pertumbuhan bakteri yaitu fase adaptasi (*lag phase*), fase perbanyakan (*exponential phase*), fase statis (*stationer phase*), dan fase kematian (*death phase*) (Gambar 2.4) (Purwoko, 2007).



**Gambar 2.4.** Kurva Pertumbuhan Bakteri, menunjukkan empat fase pertumbuhan: a=fase lag; b=fase eksponensial; c=fase stasioner dan d=fase kematian (sumber: Brock & Madigan,1991)

**a) Fase Adaptasi (*Lag Phase*)**

Pada fase ini tidak ada pertumbuhan populasi. Sel mengalami perubahan dalam komposisi kimiawi dan bertambah ukurannya, substansi intraseluler bertambah (Pelczar, 2008). Ketika sel dalam fase statis dipindahkan ke media baru, sel akan melakukan proses adaptasi. Proses adaptasi meliputi sintesis enzim baru yang sesuai dengan mediana dan pemulihan terhadap metabolit yang bersifat toksik (misalnya asam, alkohol, dan basa) pada waktu media lama. Pada fase adaptasi tidak dijumpai penambahan jumlah sel. Akan tetapi, fase adaptasi dapat terhindar (langsung ke fase perbanyakan), jika sel di media lama dalam kondisi fase perbanyakan dan dipindahkan ke media baru yang sama komposisinya dengan media lama (Purwoko, 2007).

**b) Fase Perbanyakan (Logaritma atau eksponensial)**

Pada fase ini, pembiakan bakteri berlangsung paling cepat. Jika ingin biakan bakteri yang cepat tumbuh, maka bakteri dalam fase ini baik sekali untuk dijadikan inokulum (Dwidjoseputro, 1989). Sel akan membelah dengan laju yang konstan, massa menjadi dua kali lipat dengan laju yang sama, aktivitas metabolit konstan dan keadaan pertumbuhan seimbang (Pelczar, 2008). Setelah memperoleh kondisi ideal dalam pertumbuhannya, sel melakukan pembelahan. Karena pembelahan sel merupakan persamaan eksponensial, maka fase itu disebut juga fase eksponensial. Pada fase perbanyakan jumlah sel meningkat pada batas tertentu (tidak terdapat pertumbuhan bersih jumlah sel), sehingga memasuki fase statis. Pada fase perbanyakan sel melakukan konsumsi nutrisi dan proses fisiologis lainnya (Purwoko, 2007).

### **c) Fase statis/konstan**

Pada fase ini terjadi penumpukan produk beracun dan atau kehabisan nutrien. Beberapa sel mati sedangkan yang lain tumbuh dan membelah. Jumlah sel hidup menjadi tetap (Pelczar, 2008). Fase ini menunjukkan jumlah bakteri yang hidup sama dengan jumlah bakteri yang mati, sehingga kurva menunjukkan garis yang hampir horizontal (Dwidjoseputro, 1989). Alasan bakteri tidak melakukan pembelahan sel pada fase statis bermacam-macam. Beberapa alasan yang dapat dikemukakan adalah nutrien habis, akumulasi metabolit toksik (misalnya alkohol, asam, dan basa), penurunan kadar oksigen, penurunan nilai aw (ketersediaan air). Pada fase statis biasanya sel melakukan adaptasi terhadap kondisi yang kurang menguntungkan (Purwoko, 2007).

### **d) Fase Kematian**

Pada fase ini, sel menjadi mati lebih cepat dari pada terbentuknya sel-sel baru, laju kematian mengalami percepatan menjadi eksponensial bergantung pada spesiesnya, semua sel mati dalam waktu beberapa hari atau beberapa bulan (Pelczar, 2008). Penyebab utama kematian adalah autolisis sel dan penurunan energi seluler. Beberapa bakteri hanya mampu bertahan beberapa jam selama fase statis dan akhirnya masuk ke dalam fase kematian, sementara itu beberapa bakteri hanya mampu bertahan sampai harian dan mingguan pada fase statis dan akhirnya masuk ke fase kematian. Beberapa bakteri bahkan mampu bertahan sampai puluhan tahun sebelum mati, yaitu dengan mengubah sel menjadi spora (Purwoko, 2007).

### 2.5.3 Mekanisme Resistensi Bakteri terhadap Logam Berat Timbal (Pb)

Bakteri yang memiliki resistensi terhadap Pb dan dapat digunakan sebagai agen bioremediasi dapat diisolasi dari lingkungan yang terkontaminasi logam berat (Arrizal, 2013). Lingkungan yang mungkin ditemukan adanya bakteri resisten Pb tersebut adalah tanah dan perairan. Hal ini berdasarkan penelitian Gurave *et al.* (2015) yang menemukan bakteri *Bacillus Thuringiensis* dari tanah perminyakan, sedangkan hasil penelitian Lewaru *et al.*, (2012) menemukan *Bacillus thuringiensis* dan *Staphylococcus arlettae* dari sungai Cikijingyang telah tercemar Cr, Cu, dan Zn. Crawford *et al.* (1998) mengemukakan, beberapa spesies bakteri yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi logam berat dapat diisolasi dari lingkungan yang tercemar. Pernyataan tersebut diperkuat dengan pendapat Chojnacka (2010) dalam Zulaika (2012), bakteri yang diisolasi dari lingkungan yang tercemar logam berat sangat potensial digunakan sebagai agen bioremediasi, sebab bakteri mempunyai daya resistensi dan toleransi logam berat yang ada di sekitarnya.

Hasil penelitian Dagdag dan Sukoso (2015), pada lumpur lapindo ditemukan spesies bakteri toleran logam berat, yaitu *Pseudomonas pseudomallei* dan *Bacillus niabensis*. Penelitian lain juga dilakukan Habibie *et al.* (2014) yang menunjukkan adanya bakteri termofilik penghasil xilanase, yaitu *Bacillus lichenformis* juga dari lumpur Lapindo. Adapun penelitian Santosa (2008) menemukan spesies *Bacillus subtilis*.

Cabuk *et al.* (2006) dalam Jarostawiecka *et al.* (2014) melaporkan bahwa *Bacillus* sp. mampu mengikat Pb dengan efisiensi penyerapan mencapai 91.7%.

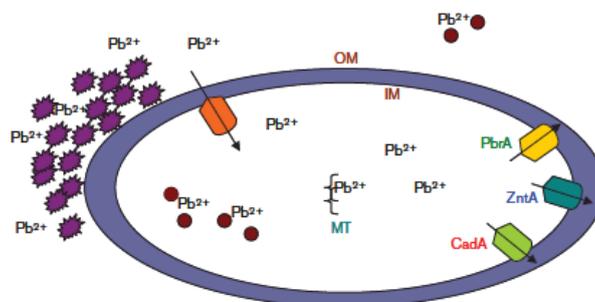
Sedangkan menurut hasil penelitian Pardo *et al.* (2003) *Pseudomonas putida* dapat menurunkan konsentrasi Pb dengan efisiensi mencapai 80%. Penelitian-penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa bakteri yang toleran terhadap Timbal (Pb) antara lain dari genus *Azotobacter*, *Proteus*, *Corynebacterium*, *Klebsiella*, *Staphylococcus*, *Arthrobacter*, *Enterobacter*, *Listeria*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Phenylobacterium*, *Enhydribacter*, *Morrococcus*, *Flavobacterium*, *Streptococcus*, dan *Xanthobacter* (Zulaika *et al.*, 2012; Nath *et al.*, 2012; Jarostawiecka *et al.*, 2014; Budiharjo, 1996; Wulandari, 2005; Arrizal *et al.*, 2013).

Penelitian di atas didukung dengan hasil penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa ciri genus *Azotobacter* bentuk selnya pendek, batang, dan oval, termasuk bakteri gram negatif, bersifat aerobik, warna koloni krem, permukaannya mengkilat, motil, katalase, oksidase, dan reduksi nitrat positif; *Corynebacterium* bentuk selnya batang, diameter koloni 0,1-0,3  $\mu\text{m}$ , koloni muncul di atas permukaan media NA, warna koloni putih kilat agak krem, permukaan bakteri mengkilat, bersifat aerob, termasuk pada kelompok gram positif, berdasarkan pergerakan termasuk pada bakteri yang tidak mampu bergerak (non motil), katalase positif (Budiharjo, 1996; Wulandari, 2005).

*Bacillus* bentuk selnya batang, diameter koloni berkisar 0,5-2  $\mu\text{m}$ , koloni muncul di atas permukaan media NA dan berwarna kuning, termasuk ke dalam gram positif, motil, katalase negatif, dapat tumbuh pada media yang diberi 5 % NaCl, tidak dapat tumbuh pada 50°C, sitrat negatif, glukosa positif, suhu optimum untuk pertumbuhannya 26-28°C, dapat tumbuh pada kondisi aerobik dan

anaerobik. *Pseudomonas* bentuk selnya berupa batang lurus, atau kadang-kadang serupa bola, diameter koloni 0,5-0,8  $\mu\text{m}$ , koloni muncul di atas permukaan media NA, berwarna kuning, dan permukaannya mengkilat, termasuk bakteri gram negatif, motil dan katalase positif. *Klebsiella* bentuk selnya batang, diameter koloni 0,3-1  $\mu\text{m}$ , koloni muncul di atas permukaan media NA, termasuk ke dalam bakteri gram negatif, bersifat anaerob fakultatif, suhu pertumbuhan optimal adalah 37°C, bersifat non motil, oksidasi negatif, katalase positif, SCA positif (Dwipayana & Ariesyadi, 2009).

*Staphylococcus* bentuk sel bulat, diameter koloni 0,5-1,5  $\mu\text{m}$ , koloni muncul di atas permukaan media NA, berwarna putih dan mengkilat, termasuk ke dalam bakteri gram positif, kebutuhan terhadap oksigen termasuk aerob, nonmotil, katalase, oksidase dan produksi  $\text{H}_2\text{S}$  bersifat positif. *Micrococcus* bentuk selnya bulat, diameter koloni 1-2  $\mu\text{m}$ , koloni muncul di atas permukaan media NA dan berwarna kuning, permukaan koloni mengkilat, termasuk bakteri gram positif, suhu pertumbuhan optimum 25-37°C, kebutuhan terhadap oksigen termasuk aerob dan anaerob, termasuk bakteri yang tidak mampu bergerak, katalase, oksidase dan produksi  $\text{H}_2\text{S}$  bersifat positif (Purwoko, 2007) . Adapun mekanisme resistensi bakteri terhadap Pb dapat dilihat pada gambar 2.4 berikut:



**Gambar 2.5** Mekanisme Resistensi Bakteri terhadap Timbal (Pb) (Jarostawiecka & Seget, 2014).

Mekanisme resistensi Pb pada bakteri berdasarkan lokasinya dibagi menjadi dua, yaitu ekstraselluler dan intraselluler. Fungsi utama mekanisme resistensi ini adalah untuk mengatasi toksisitas logam berat agar tidak mengganggu fungsi biologis mikroorganisme. Pada mekanisme resistensi ekstraselluler, Pb (II) yang ada pada lingkungan dapat dikurangi toksisitasnya dengan membentuk endapan polifosfat atau membentuk ikatan dengan polisakarida ekstraselluler atau polimer alami yang ada pada dinding sel (Jarostawiecka & Seget, 2014).

Mekanisme resistensi ekstraselluler memiliki tujuan untuk membatasi pergerakan logam berat pada dinding sel (Bruins *et al.*, 2000). Dinding sel merupakan penghalang alami pada bakteri terhadap Pb (II). Pb(II) di lingkungan ketika mendekati dinding sel dapat mengalami pengendapan menjadi fosfat yang tidak larut di luar sel atau dapat mengalami pengikatan oleh polisakarida dinding sel (Jarostawiecka & Seget, 2014). Pengendapan Pb(II) terjadi karena Pb(II) dapat bereaksi dengan beberapa anion seperti klorida, fosfat, dan ion hidroksil menjadi bentuk endapan tidak larut. Reaksi pengendapan Pb(II) dengan fosfat dikatalis oleh enzim fosfatase. Pada reaksi ini enzim fosfatase akan menghidrolisis fosfor organik, sehingga anion fosfat dapat berikatan dengan Pb(II). Hasil dari reaksi ini adalah endapan Pb yang berbentuk  $PbHPO_4$  (Levinson dan Mahler, 1998). Bentuk kompleks presipitasi Pb tersebut dilengkapi dengan komponen organik seperti tripton, sistein, dan asam susinat (Jarostawiecka & Seget, 2014).

Mekanisme resistensi ekstraselluler yang kedua adalah pengikatan oleh polisakarida atau polimer yang ada pada dinding sel bakteri. Pada bakteri gram-

negatif yang berperan adalah lipopolisakarida, yang merupakan komponen penting pada membran luar bakteri gram negatif. Sedangkan yang berperan pada bakteri gram adalah peptidoglikan, serta asam teikoat dan asam teichuronat (Beveridge dan Fyfe, 1985). Selain polisakarida yang ada pada dinding sel, banyak mikroorganisme mensintesis polimer ekstraseluler (EPs) yang mengikat kation dari logam berat, sehingga dapat melindungi dari sensitivitas logam berat dan komponen penting sel (Bruins *et al.* 2000). Polimer ekstraseluler ini dapat berikatan dengan Pb(II) karena memiliki muatan negatif yang berlimpah, seperti gugus sulfidril (-SH), fosforil ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), karboksil (COO- maupun hidroksil (OH) yang akan beraksi dengan ion logam Pb yang bermuatan positif (Yani dan Kurniasari, 2008).

Pb(II) yang tidak mengalami pengikatan ekstraseluler akan memasuki sel melalui transporter logam kemudian memasuki mekanisme resistensi intraseluler. Pada mekanisme resistensi intraseluler Pb(II) dinonaktifkan dengan pengendapan oleh polifosfat, pengikatan dengan Metallothienins (MTs), dan sistem Efflux (Jarostawiecka & Seget, 2014). Selain pengendapan Pb(II) menjadi fosfat yang tidak larut pada dinding sel, Pb(II) dapat mengalami pengendapan intraseluler. Sama halnya dengan pengendapan ekstraseluler, pengendapan intraseluler dikatalis oleh enzim fosfatase yang aktivitasnya melepaskan fosfat inorganik (Naik *et al.*, 2012). Levinson dan Mahler (1998) menyatakan bahwa *Staphylococcus aureus* mengendapkan Pb(II) di dalam sel dengan bentuk  $\text{Pb}_3(\text{PO}_4)_2$ . Sedangkan pada bakteri *Vibrio harveyi* dan *Providencia alcalifaciens* mengendapkan Pb(II) dalam bentuk  $\text{Pb}_9(\text{PO}_4)_6$  (Mire *et al.*, 2004; Naik *et al.*,

2012). Endapan Pb(II) fosfat intraselluler inilah yang kemudian membentuk *Poliposphat Body* (PPB). PPB berperan dalam pengendapan ion logam (termasuk Pb) dan menetralisasi efek toksisitasnya (Pereira *et al.*, 2012).

Mekanisme resistensi Pb(II) intraselluler yang kedua adalah melalui pengikatan Pb oleh protein spesifik. Metallothioneins (MTs) merupakan protein yang sering disebut sebagai protein yang terlibat dalam perlindungan sel terhadap logam berat. Peran utamanya adalah dalam homeostasis seng. MTs pertama kali ditemukan pada *Synechococcus* PCC 7942, yang dikode oleh lokus *smt* yang terdiri dari dua gen berbeda *smtA* dan *smtB*. *smtA* mengkode class II MT, sedangkan produk dari *smtB* menekan transkripsi *smtA*. *SmtA* terlibat dalam homeostasis seng, yaitu berperan dalam hipersensitivitas terhadap seng (Zn). Di samping terhadap Zn, Pb adalah satu dari logam berat yang dapat merubah ekspresi *smtA*. Selain dari *Synechococcus* PCC 7942, induksi dari gen *smt* dan biosintesis MT di dalam keberadaan Pb juga dideteksi pada genus *Bacillus*, *Streptomyces*, *Salmonella*, dan *Proteus* (Huckle *e al.*, 1993; Murthy *et al.*, 2011; Naik *et al.*, 2012).

Setelah memasuki sel bakteri, Pb(II) yang tidak mengalami presipitasi atau mengalami pengikatan oleh MTs akan memasuki sistem efflux. Sistem efflux disebut sebagai mekanisme yang paling efektif dalam resistensi terhadap logam berat (Bruins *et al.*, 2000). Efflux Pb diperantarai oleh superfamili P-type ATPases dari famili P<sub>IB</sub>, yang juga terlibat dalam transport Zn dan Cd. Akan tetapi P<sub>IB</sub> ATPases juga terdapat pada logam berat lain seperti Cu. P<sub>IB</sub> dikenal luas pada kebanyakan bakteri, diantaranya adalah termasuk transporter CadA, ZntA, dan

PbrA yang diketahui dapat mentranspor Pb ke periplasma. Selain transporter tersebut, terdapat pula dari famili CBA dan CDF (Arguello, 2003). CDF merupakan transporter yang membawa ion dari sitoplasma ke periplasma, sedangkan CBA berperan dalam mengeluarkan Pb dari sel (Hynninen, 2010).

## **2.6 Isolasi dan Identifikasi Bakteri**

### **2.6.1 Isolasi Bakteri**

Isolasi adalah mengambil mikroorganisme yang terdapat di alam dan menumbuhkannya dalam suatu medium buatan. Proses pemisahan atau pemurnian dari mikroorganisme lain perlu dilakukan karena semua pekerjaan mikrobiologis, misalnya telaah dan identifikasi mikroorganisme, memerlukan suatu populasi yang hanya terdiri dari satu macam mikroorganisme saja. Prinsip dari isolasi mikroba adalah memisahkan satu jenis mikroba dengan mikroba lainnya yang berasal dari campuran bermacam-macam mikroba. Hal ini dapat dilakukan dengan menumbuhkannya dalam media padat (Sutedjo, 1996).

Sel-sel mikroba akan membentuk suatu koloni sel yang tetap pada tempatnya. Jika sel-sel tersebut tertangkap oleh media padat pada beberapa tempat yang terpisah, maka setiap sel atau kumpulan sel yang hidup akan berkembang menjadi suatu koloni yang terpisah, sehingga memudahkan pemisahan selanjutnya. Bila digunakan media cair, sel-sel mikroba sulit dipisahkan secara individu karena terlalu kecil dan tidak tetap tinggal di tempatnya. Akan tetapi bila sel-sel itu dipisahkan dengan cara pengenceran, kemudian ditumbuhkan dalam media padat dan dibiarkan membentuk koloni, maka sel-sel tersebut selanjutnya

dapat diisolasi dalam tabung-tabung reaksi atau cawan petri-cawan petri yang terpisah (Sutedjo, 1996).

Ada beberapa teknik isolasi bakteri menurut Hadioetomo (1993) yaitu:

a. Metode Cawan Gores (*Streak Plate*)

Prinsip metode ini yaitu mendapatkan koloni yang benar-benar terpisah dari koloni yang lain, sehingga mempermudah proses isolasi. Cara ini dilakukan dengan menggosokkan ose pada cawan petri berisi media steril

b. Metode Cawan Sebar (*Spread Plate*)

Teknik *spread plate* (cawan sebar) adalah suatu teknik di dalam menumbuhkan mikroorganisme di dalam media agar dengan cara menuangkan stok kultur bakteri atau menghapuskannya di atas media agar yang telah memadat, sedangkan *pour plate* kultur dicampurkan ketika media masih cair (belum memadat). Kelebihan teknik ini adalah mikroorganisme yang tumbuh dapat tersebar merata pada bagian permukaan agar.

c. Teknik Pengenceran (*Dilution Plate*)

Tujuan dari teknik ini adalah melarutkan atau melepaskan mikroba dari substratnya ke dalam air sehingga lebih mudah penanganannya (pemindahannya ke tabung atau cawan). Sampel yang telah diambil kemudian disuspensikan dalam aquades steril. Teknik dilusi sangat penting dalam analisa mikrobiologi karena hampir semua metode penelitian dan perhitungan jumlah sel mikroba menggunakan teknik ini, seperti TPC (*Total Plate Counter*) (Waluyo, 2005).

## 2.6.2 Identifikasi Bakteri

### 1. Pengamatan Makroskopik

Pengamatan makroskopik dilakukan untuk mengamati karakteristik koloni bakteri hasil inokulasi pada media NA datar berdasarkan (Dwijoseputro, 1989):

- a. Bentuk koloni (dilihat dari atas): berupa bulat (*circulair*), berbenang (*filamentus*), tak teratur (*irregular*), serupa akar (*rhizoid*), serupa kumparan (*spindle*).
- b. Permukaan koloni/elevasi (dilihat dari samping): rata (*flat*), timbul-datar (*raised*), timbul-melengkung (*convex*), membukit (*umbonate*).
- c. Tepi koloni (dilihat dari atas): utuh (*entire*), berombak (*lobate*), bergerigi (*serrate*), berbenang (*filamentus*), keriting (*undunate*).
- d. Warna koloni: keputih-putihan, kelabu, kekuning-kuningan atau hampir bening.

### 2. Pengamatan Mikroskopik

Pengamatan mikroskopik dilakukan untuk melihat bentuk sel serta sifat bakteri. Pengamatan mikroskopis meliputi pewarnaan gram dan uji biokimia (Holt *et al.*, 1994).

#### a. Pewarnaan Gram

Salah satu teknik pewarnaan diferensial yang paling penting ialah pewarnaan gram. Dalam proses ini, olesan bakteri yang terfiksasi dikenai larutan-larutan berikut dalam urutan yang terdaftar pada tabel 2.1: ungu kristal, larutan yodium, alkohol (bahan pemucat), dan safranin atau beberapa pewarna tandingan lain yang sesuai. Bakteri yang diwarnai dengan metode gram ini dibagi menjadi

dua kelompok. Salah satu di antaranya, bakteri gram positif, mempertahankan zat pewarna ungu kristal dan karenanya tampak ungu tua. Kelompok yang lain, bakteri gram negatif, kehilangan ungu kristal ketika dicuci dengan alkohol, dan sewaktu diberi pewarna tandingan dengan warna merah safranin, tampak berwarna merah.

**Tabel 2.1** Pewarnaan gram (Pelczar, 2008)

Larutan dan Urutan Penggunaannya	Reaksi dan Tampang Bakteri	
	Gram Positif	Gram Negatif
1. Ungu kristal (UK)	Sel berwarna ungu	Sel berwarna ungu
2. Larutan yodium (Y)	Kompleks UK-Y terbentuk di dalam sel; sel tetap berwarna ungu	Kompleks UK-Y terbentuk di dalam sel; sel tetap berwarna ungu
3. Alkohol		
4. Safranin	Dinding sel mengalami dehidrasi, pori-pori meciut; daya rembes dinding sel dan membran menurun, UK-Y tidak dapat keluar dari sel; sel tetap ungu Sel tidak terpengaruhi	Lipid terekstrasidari dinding sel, pori-pori mengembang, kompleks UK-Y keluar dari sel; sel menjadi tidak berwarna Sel menyerap zat pewarna ini, menjadi merah

b. Uji biokimia

Uji biokimia bakteri merupakan suatu cara atau perlakuan yang dilakukan untuk mengidentifikasi dan mendeterminasi suatu biakan murni bakteri hasil isolasi melalui sifat-sifat fisiologinya. Proses biokimia erat kaitannya dengan metabolisme sel, yakni selama reaksi kimia yang dilakukan oleh sel yang menghasilkan energi maupun yang menggunakan energi untuk sintesis komponen-komponen sel dan untuk kegiatan selular, seperti pergerakan. Suatu

bakteri tidak dapat dideterminasi hanya berdasarkan sifat-sifat morfologinya saja, sehingga perlu diteliti sifat-sifat biokimia dan faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhannya (Cowan, 2004).

Ciri fisiologi ataupun biokimia merupakan kriteria yang amat penting di dalam identifikasi spesimen bakteri yang tidak dikenal karena secara morfologi biakan ataupun sel bakteri yang berbeda dapat tampak serupa, tanpa hasil pengamatan fisiologis yang memadai mengenai kandungan organik yang diperiksa maka penentuan spesiesnya tidak mungkin dilakukan. Karakterisasi dan klasifikasi sebagian mikroorganisme seperti bakteri berdasarkan pada reaksi enzimatik maupun biokimia. Mikroorganisme dapat tumbuh pada beberapa tipe media yang memproduksi tipe metabolit yang dapat dideteksi dengan reaksi antara mikroorganisme dengan reagen test yang dapat menghasilkan perubahan warna reagen (Cowan, 2004).

Sifat metabolisme bakteri dalam uji biokimia biasanya dilihat dari interaksi metabolit-metabolit yang dihasilkan dengan reagen-reagen kimia. Uji lain dapat dilakukan dengan cara melihat kemampuannya menggunakan senyawa tertentu sebagai sumber karbon dan sumber energi. Uji-uji biokimia ditujukan untuk memastikan bakteri yang dianalisa benar-benar bakteri yang diharapkan. Uji biokimia bertujuan untuk memperkecil kesalahan, karena beberapa spesies memiliki sifat-sifat yang hampir sama (MacFaddin, 1980).

Beberapa jenis uji biokimia antara lain:

### 1. Uji Indol

Media yang dipakai adalah pepton 1%. Uji indol digunakan untuk mengetahui apakah kuman mempunyai enzim triptophanase sehingga kuman tersebut mampu mengoksidasi asam amino triptophan membentuk indol. Adanya indol dapat diketahui dengan penambahan reagen Ehrlich/Kovac's yang berisi paradimetil amino bensaldehid. Interpretasi hasil: negatif (-): Tidak terbentuk lapisan cincin berwarna merah pada permukaan biakan, artinya bakteri ini tidak membentuk indol dari triptophan sebagai sumber karbon. Positif (+): Terbentuk lapisan cincin berwarna merah pada permukaan biakan, artinya bakteri ini membentuk indol dari triptophan sebagai sumber karbon (Cowan, 2004).

### 2. Uji MR (Methyl Red)

Media yang digunakan adalah pepton glukosa phospat. Uji ini digunakan untuk mengetahui adanya fermentasi asam campuran (metilen glikon). Interpretasi hasil: negatif (-): tidak terjadi perubahan warna media menjadi merah setelah ditambah methyl red 1%. Positif (+): Terjadi perubahan warna media menjadi merah setelah ditambahkan methyl red 1%. Artinya bakteri menghasilkan asam campuran (metilen glikon) dari proses fermentasi glukosa yang terkandung dalam media MR (Cowan, 2004).

### 3. Uji VP

Media yang dipakai adalah pepton glukosa phospat. Uji ini digunakan untuk mengetahui pembentukan asetil metil karbinol (asetoin) dari hasil fermentasi glukosa. Interpretasi hasil: negatif (-): tidak terjadi perubahan warna media menjadi merah setelah ditambahkan a naphtol 5% dan KOH 40%. Positif

(+): terjadi perubahan warna media menjadi merah setelah ditambahkan a naphthol 5% dan KOH 40%, artinya hasil akhir fermentasi bakteri adalah asetil metil karbinol (asetoin) (MacFaddin, 1980).

#### 4. Uji Citrat

Media yang dipakai adalah Simons citrat. Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui apakah kuman menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Pada media simons citrat berisi indikator BTB (Brom Tynol Blue). Apabila bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon maka media berubah menjadi basa dan berubah warna menjadi biru. Interpretasi hasil: negatif (-): tidak terjadinya perubahan warna media dari hijau menjadi biru. Artinya bakteri ini tidak mempunyai enzim sitrat permease yaitu enzim spesifik yang membawa sitrat ke dalam sel. Sehingga kuman tidak menggunakan sitrat sebagai salah satu/satunya sumber karbon. Positif (+): terjadinya perubahan warna media dari hijau menjadi biru, artinya kuman menggunakan citrat sebagai salah satu/satu-satunya sumber karbon (Ratna, 2012).

#### 5. Uji Motilitas

Media yang dipakai adalah media yang bersifat semi solid dengan kandungan agar-agar 0.2-0.4%. Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui gerak kuman, bisa memakai media MO (Motilitas Ornitin) atau SIM (Sulfida Indol Motility). Pada media SIM selain untuk melihat motilitas bisa juga untuk test indol dan pembentukan H<sub>2</sub>S. Interpretasi hasil: negatif (-): terlihat adanya penyebaran yang berwarna putih akar hanya pada bekas tusukan inokulasi. Positif (+): terlihat adanya penyebaran yang berwarna putih seperti akar di sekitar

inokulasi. Hal ini menunjukkan adanya pergerakan dari bakteri yang diinokulasikan, yang berarti bahwa bakteri ini memiliki flagel (Burrows, 2004).

#### 6. Uji Urenase

Uji urenase menggunakan medium *Urea Base*. Masing-masing isolat bakteri diinokulasikan ke medium *Urea Base* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1-2x24 jam. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna medium dari kuning menjadi pink sangat pekat (Cappuccino & Sherman, 2005).

#### 7. Uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar)

Tujuan dari test ini adalah untuk mengetahui kemampuan kuman untuk memfermentasikan karbohidrat. Pada media TSIA berisi 3 macam karbohidrat yaitu glukosa, laktosa dan sukrosa. Indikatornya adalah phenol red yang menyebabkan perubahan warna dari merah orange menjadi kuning dalam suasana asam. Glukosa berada di dasar media sedangkan laktosa dan sukrosa berada di bagian lereng. Fermentasi pada TSIA juga disertai dengan pembentukan gas CO<sub>2</sub> yang dapat dilihat dari pecahnya dan terangkatnya agar. Media TSIA juga dapat digunakan untuk mengetahui pembentukan H<sub>2</sub>S yaitu melihat apakah kuman memfermentasi metionin dan sistein (Asam amino yang mempunyai gugus S). Pada media TSIA terdapat asam amino metionin dan sistein, jika kuman memfermentasi kedua asam amino ini, maka gugus S akan keluar dan gugus S akan bergabung dengan H<sub>2</sub>O membentuk H<sub>2</sub>S. Selanjutnya H<sub>2</sub>S bergabung dengan Fe<sup>2+</sup> membentuk FeS berwarna hitam dan mengendap (Buchanan, 2003).

## 8. Uji gula-gula

Uji ini digunakan untuk mengetahui apakah kuman memfermentasi masing-masing gula di atas membentuk asam. Media gula-gula ini terpisah dalam lima tabung yang berbeda dan media yang digunakan adalah masing-masing gula dengan konsentrasi 1% dalam pepton. Masing-masing gula –gula ditambahkan indikator phenol red. Interpretasi hasil: negatif (-): tidak terjadi perubahan warna media dari merah menjadi kuning, artinya kuman tidak memfermentasi gula. Positif (+): terjadi perubahan warna media dari merah menjadi kuning, artinya kuman memfermentasi gula ditandai dengan membentuk tinta pada tutup kapas yang berbeda-beda. Untuk glukosa tidak berwarna, laktosa berwarna ungu, maltosa berwarna merah, manitol berwarna hijau, dan sukrosa berwarna biru. Di dalam media gula-asam, positif + gas (+g): terjadi perubahan warna media dari merah menjadi kuning. Artinya kuman memfermentasi gula membentuk asam dan gas. Gas yang diperhitungkan minimal 10% dari tinggi tabung durham (Adam, 2001).

## 9. Uji Katalase

Uji katalase berguna dalam mengidentifikasi kelompok bakteri yang dapat menghasilkan enzim katalase. Uji katalase dilakukan dengan cara meneteskan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) pada gelas objek yang bersih. Biakan dioleskan padagelas objek yang sudah ditetesi  $H_2O_2$  dengan usa. Suspensi dicampur secara perlahan menggunakan usa, hasil yang positif ditandai oleh terbentuknya gelembung-gelembung udara (Hadioetomo, 1993).

## 10. Uji Koagulasi

Uji koagulasi dilakukan untuk melihat kemampuan bakteri yang menghasilkan enzim yang dapat menggumpalkan fibrin. Uji koagulase dilakukan dengan cara, dari media agar darah, diinokulasikan 1-3 koloni bakteri ke dalam media HIB. Kemudian diencerkan 1 mL plasma dengan 4 mL aquadest, lalu dipipet 0.5 mL dan masukkan ke dalam biakan HIB dan dihomogenkan. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diamati pembentukan gumpalan pada medium, adanya gumpalan seperti awan menunjukkan hasil positif (Hadioetomo, 1993).

## 11. Uji Novobiocin

Tes novobiocin dilakukan dengan cara 1 ose suspensi bakteri ditanam dalam media Mueller Hilton Agar kemudian diletakkan disk Novobiocin di atas media Mueller Hilton Agar, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Adanya daerah bening di sekitar disk menunjukkan hasil positif (Cowan, 2004).

### 2.6.3 Identifikasi Bakteri Menggunakan *Microbact 12*

Salah satu cara pengidentifikasian mikroorganisme yaitu dengan menganalisa kemampuan metabolismenya dengan menggunakan suatu metode uji biokimia. Uji biokimia meliputi kemampuan mikroorganisme dalam menggunakan berbagai jenis sumber karbon dan senyawa kimia lainnya. Uji biokimia yang beragam dan semakin banyak jenis senyawa pengujian maka akan menghasilkan pengidentifikasian spesifik hingga tingkat spesies (Buckle, 1987).

Prinsip kerja dari *Microbact* yaitu dengan mereaksikan suspensi isolat ke dalam sumur-sumur yang telah berisi sumber karbon dan senyawa-senyawa

biokimia lain yang berjumlah 12 jenis. Kit *Microbact* 12E dan *Microbact* 12B adalah sistem identifikasi komersial untuk bakteri secara umum dan bakteri gram negatif dan gram positif golongan enterobacter. *Microbact* 12E untuk bakteri gram negatif dan 12B untuk bakteri gram positif. Tes ini terdiri dari 12 substrat biokimia yang berbeda, tes ditempatkan di sumur *Microbact*. *Microbact* mempunyai sistem yang dirancang untuk mengidentifikasi bakteri dengan komposisi substrat dan pereaksi yang telah distandarisasi, dimana sebelumnya isolat yang digunakan harus murni dan dilarutkan ke dalam garam fisiologis (Bridson, 1998).

Suspensi bakteri yang dilarutkan ke dalam garam fisiologis ditambahkan ke masing-masing 12 sumur uji biokimia yang tersedia. Setelah diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C, reagen yang sesuai ditambahkan dan perubahan warna tes pada tiap sumur yang berbeda dicatat. Evaluasi hasil dilihat melalui sumur-sumur *Microbact* apakah positif atau negatif dengan cara membandingkan dengan tabel warna dan hasilnya ditulis pada formulir *Patient Record*. Angka-angka *oktal* didapat dari penjumlahan reaksi positif saja, dari tiap-tiap kelompok (3 sumur didapatkan 1 angka *oktal*). Nama bakteri dilihat dengan komputer berdasarkan angka *oktalnya* (Bridson, 1998).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental. Rancangan penelitian yang digunakan adalah deskriptif kualitatif. Data yang diperoleh disajikan secara deskriptif meliputi karakteristik makroskopis, mikroskopis, dan hasil uji biokimia bakteri serta data hasil uji penurunan kadar Pb oleh bakteri. Penyajian data diperkuat dengan analisis statistik menggunakan uji korelasi dan uji T.

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus sampai Oktober 2016 di laboratorium mikrobiologi dan laboratorium optik jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### **3.3 Variabel Penelitian**

Variabel dalam penelitian ini adalah:

1. Variabel bebas (*independent variable*), yaitu variabel yang dianggap menjadi penyebab bagi terjadinya perubahan pada variabel terikat. Pada penelitian eksperimen, variabel bebas adalah variabel yang dimanipulasi, karena itu yang menjadi variabel bebasnya adalah penggunaan timbal asetat pada konsentrasi 0 ppm, 10 ppm, 20 ppm, dan 30 ppm.
2. Variabel Terikat (*dependent variable*), yaitu variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas, yang dalam eksperimen perubahannya diukur untuk

mengetahui efek dari suatu perlakuan. Variabel terikat pada penelitian ini adalah bakteri dari lumpur Lapindo yang mampu tumbuh pada media yang ditambahkan Pb (berpotensi sebagai agen bioremediasi Pb).

3. Variabel terkontrol yaitu variabel yang diusahakan sama untuk setiap perlakuan, pada penelitian ini meliputi pH, suhu dan waktu inkubasi.

### 3.4 Lokasi Pengambilan Sampel



**Gambar 3.1 Peta Lokasi Sampling Lumpur Lapindo**

Sampel diambil dari tiga titik yang berbeda. Titik sampling 1: di bak penampungan saluran pipa pembuangan ke sungai Porong, titik sampling 2: di daerah pipa saluran pembuangan lumpur, dan titik sampling 3: di dekat pusat semburan lumpur Lapindo. Pengambilan dilakukan di lokasi tersebut karena memiliki kandungan Pb, suhu, dan keadaan lumpur yang berbeda. Sehingga dimungkinkan pada masing-masing titik terdapat bakteri yang berbeda pula.

### **3.5 Alat dan Bahan Penelitian**

#### **3.5.1 Alat Penelitian**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung reaksi, erlenmeyer, toples, cawan petri, bunsen, LAF, inkubator, mikropipet, tabung flakon, *shaker incubator*, bluetipe, hotplate, autoklaf, jarum ose, gelas ukur, termometer, pH indikator, stirer, kuvet, beaker glass, objek glass, deck glass, mikroskop, vortex, seperangkat alat uji Spektrofotometer Serapan Atom (SSA), dan alat tulis.

#### **3.5.2 Bahan Penelitian**

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah media *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), aquades, kapas, kasa, alkohol 70%, sampel lumpur Lapindo, kertas label, plastik wrap, plastik sterilisasi, tissue, pewarna gram, kertas hisap, timbal asetat ( $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ),  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HClO}_4$ , garam fisiologis 0.9%, *mineral oil*, reagen Nitrat A dan B, *Indol Kovact*, VP I dan VP II, TDA.

### **3.6 Prosedur Penelitian**

#### **3.6.1 Pengambilan Sampel**

Sampel diambil dari lumpur Lapindo Porong, Sidoarjo, Jawa Timur pada 3 titik yang berbeda, dimana sampel diambil dengan metode yang sangat sederhana yaitu langsung mengambilnya menggunakan sendok kemudian dimasukkan ke dalam toples kaca steril. Setiap lokasi pengambilan sampel diukur suhu dan pH menggunakan termometer dan pH meter. Sampel selanjutnya dibawa menuju ke laboratorium untuk dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri.

### 3.6.2 Pembuatan Media

Media yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam beaker glass, kemudian ditambahkan aquades sampai 1 liter, dipanaskan di atas *hotplate* sampai mendidih dan dihomogenkan menggunakan stirer. Setelah homogen media dituang ke dalam erlenmeyer, ditutup dengan kapas yang dibungkus kasa kemudian disterilisasi.

### 3.6.3 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sebelum melaksanakan penelitian, semua alat dan bahan harus disterilisasi terlebih dahulu. Alat-alat yang terbuat dari gelas dibungkus dengan plastik yang tahan panas kemudian diikat dengan rapat agar air atau bakteri yang berada di sekitarnya tidak masuk, kecuali cawan petri harus dibungkus kertas terlebih dahulu baru kemudian dimasukkan ke dalam plastik. Bahan atau media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri setelah direbus sampai mendidih di atas *hotplate* kemudian dimasukkan erlenmeyer, ditutup kapas dan dimasukkan ke dalam plastik tahan panas. Setelah itu, bahan yang telah dibungkus tersebut dimasukkan ke dalam autoklaf untuk disterilisasi selama 15 menit dengan suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dan tekanan 1 atm.

### 3.6.4 Isolasi Bakteri

Proses isolasi bakteri dari lumpur lapindo diawali dengan mengambil 5 gram sampel lumpur yang telah dibiakkan bakterinya dan dimasukkan ke dalam 45 ml aquades, lalu dihomogenkan sehingga didapatkan pengenceran  $10^{-1}$ . Pengenceran dilakukan secara bertingkat sampai  $10^{-10}$  dengan cara 1 ml dari pengenceran  $10^{-1}$  ditambahkan ke dalam tabung flakon yang berisi 9 ml aquades sehingga didapat pengenceran  $10^{-2}$ , selanjutnya diambil 1 ml dari pengenceran  $10^{-2}$

<sup>2</sup> ditambahkan ke dalam tabung flakon yang berisi 9 ml aquades sehingga didapatkan pengenceran  $10^{-3}$  dan seterusnya hingga didapatkan pengenceran  $10^{-10}$ . Setelah itu dilakukan proses *plating*, kultur dari pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-10}$  diinokulasikan pada media NA yang ditambahkan Pb asetat 30 ppm dengan metode *pour plate*, lalu diinkubasi dalam inkubator pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama  $\pm 24$  jam, kemudian diamati koloni yang tumbuh (Harley & Prescott dalam Zulaika *et al.*, 2012).

Koloni tunggal yang tumbuh dimurnikan kembali dengan metode *streak plate*. Satu koloni isolat bakteri diambil secara aseptis menggunakan jarum ose dan diinokulasikan ke permukaan media NA, kemudian diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam. Satu koloni dipindahkan ke media NA baru berulang-ulang sampai di dapatkan kultur murni. Untuk mengetahui kemurnian isolat, dilakukan pengamatan bentuk sel secara mikroskopis dengan metode preparat apus dan pewarnaan *methylen blue*. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x dengan menggunakan minyak imersi.

### 3.6.5 Identifikasi Bakteri

Isolat bakteri yang berpotensi sebagai agen bioremediasi Pb dari lumpur lapindo yang dilakukan secara biokimia diidentifikasi dengan acuan buku *Bergey's Manual of Determination Bacteriology 9<sup>th</sup>* (Holt *et al.*, 1994)

#### 3.6.5.1 Pengamatan Makroskopik Koloni Bakteri

Karakteristik koloni bakteri hasil inokulasi pada media NA datar yaitu berdasarkan (Dwijoseputro, 1989):

- e. Bentuk koloni (dilihat dari atas): berupa bulat (*circulair*), berbenang (*filamentus*), tak teratur (*irregular*), serupa akar (*rhizoid*), serupa kumparan (*spindle*).
- f. Permukaan koloni/elevasi (dilihat dari samping): rata (*flat*), timbul-datar (*raised*), timbul-melengkung (*convex*), membukit (*umbonate*).
- g. Tepi koloni (dilihat dari atas): utuh (*entire*), berombak (*lobate*), bergerigi (*serrate*), berbenang (*filamentus*), keriting (*undunate*).
- h. Warna koloni: keputih-putihan, kelabu, kekuning-kuningan atau hampir bening.

### 3.6.5.2 Pengamatan Mikroskopik

Pengamatan mikroskopik dilakukan untuk melihat bentuk sel bakteri. Pengamatan mikroskopis meliputi pewarnaan gram dan uji biokimia (Holt *et al.*, 1994).

#### 1. Pewarnaan Gram

Isolat bakteri diambil satu ose dengan jarum ose secara aseptis dan disuspensikan dengan aquades yang ada di atas gelas objek. Preparat difiksasi diatas api bunsen sampai kering. Preparat ditetesi dengan gram A (gentian violet), didiamkan selama satu menit dan dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat ditetesi dengan larutan gram B (larutan Lugol) dan didiamkan selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat digenangi dengan larutan gram C (Acetone Alkohol) sampai warna ungu hilang. Preparat ditetesi dengan larutan gram D (safranin) dan didiamkan selama 30 detik, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat ditetesi dengan minyak imersi, preparat

diamati dengan mikroskop, uji gram positif jika berwarna ungu dan negatif jika berwarna merah (Hadioetomo, 1993).

## 2. Uji Biokimia

Uji biokimia yang digunakan meliputi uji spora, motilitas, glukosa, sukrosa, laktosa, arabinosa, manitol, xylosa, oksidase, katalase, urease, V-P, indol, lysin, ornithin, nitrat, dan sitrat. Uji biokimia yang lebih detil dapat dilihat pada Lampiran 8.

### 3.6.5.3 Identifikasi Spesies Bakteri Menggunakan *Microbact*

Hasil identifikasi dari masing-masing isolat diidentifikasi dengan menggunakan Kit *Microbact* 12A/12E atau 24E dan mengacu pada buku *Bergey's Manual of Determination Bacteriology 9<sup>th</sup>*. Sebelum ditentukan menggunakan 12A/12E atau 24E, koloni bakteri dilakukan uji oksidase, jika hasil uji oksidase negatif, maka menggunakan *Microbact System* 12A/12E saja, sedangkan jika hasil oksidasinya positif, maka menggunakan 24E.

Isolat bakteri yang telah diinkubasi selama 18-24 jam diambil dengan menggunakan ose kemudian dilarutkan ke dalam 5 ml garam fisiologis 0.9% pada tabung reaksi steril dan divortex hingga homogen. Suspensi bakteri yang telah homogen ditetaskan ke dalam sumur *Microbact* sebanyak 100 µl, untuk sumur Lysin, Omitin, dan H<sub>2</sub>S, ditambah dengan tetesan *mineral oil* sebanyak 1-2 tetes. Setelah itu *Microbact* diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. *Microbact* yang telah diinkubasi diambil kemudian ditetaskan 2 tetes reagen Nitrat A dan B pada sumur 7, pada sumur 8 dengan *Indol Kovact* sebanyak 2 tetes, sumur nomor

10 dengan VP I dan VP II masing-masing satu tetes, dan sumur 12 dengan TDA sebanyak satu tetes.

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

### 3.6.6 Persiapan Kultur Inokulum

Sebanyak satu ose isolat bakteri hasil isolasi dari lumpur Lapindo yang berumur 24 jam dalam agar miring (*working culture*) diinokulasikan ke dalam 50 ml media NB steril dalam erlenmeyer. Selanjutnya diinkubasi dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 125 rpm dan temperatur 37°C selama 24 jam. Inokulum tersebut selanjutnya digunakan untuk uji resistensi dan penurunan kadar Pb oleh bakteri. Berikut jumlah konsentrasi Pb dan kultur inokulum yang ditambahkan pada media NB pada tabel 3.6. Adapun pembuatan sediaan Pb Asetat ( $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ) pada lampiran 3.

**Tabel 3.1** Pemberian volume kultur inokulum dan sediaan larutan Pb (volume total 40 ml)

Konsentrasi Pb	Volume Kultur Inokulum Bakteri yang diberikan	Volume Larutan Pb Asetat ( $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ )
0 ppm	4 ml	-
10 ppm	4 ml	0.4 ml
20 ppm	4 ml	0.8 ml
30 ppm	4 ml	1.2 ml

### 3.6.7 Uji Resistensi Bakteri terhadap Timbal (Pb)

Setelah didapatkan beberapa isolat murni, lalu bakteri diinokulasikan ke dalam medium cair *Nutrient Broth* (NB) yang telah diperkaya dengan timbal asetat ( $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ) dengan konsentrasi masing-masing 0, 10, 20, dan 30 ppm. Masing-masing perlakuan diberi ulangan tiga kali. Kemudian diinkubasikan ke dalam *incubator shaker* selama 18 jam pada suhu  $37^\circ\text{C}$  dengan kecepatan 220 rpm, untuk melihat ketahanan bakteri terhadap logam berat. Kemudian masing-masing bakteri setiap perlakuan diukur nilai *Optical Density* (OD) dengan panjang gelombang 600 nm untuk mengetahui tingkat kepadatan bakteri pada spektrofotometer. Semakin tinggi nilai yang ditunjukkan OD dengan panjang gelombang 600 nm pada berbagai konsentrasi, maka semakin tinggi pula kepadatan bakteri dan semakin tahan bakteri terhadap konsentrasi Pb. Setelah diketahui beberapa isolat yang bertahan terhadap logam berat berdasarkan tingkat kepadatan, dilanjutkan ke tahap uji penurunan kadar Pb (Lewaru *et al.*, 2012).

### 3.6.8 Uji Penurunan Kadar Timbal (Pb) oleh Bakteri

Setelah didapatkan bakteri tahan Pb, lalu bakteri diinokulasikan ke dalam medium cair *Nutrient Broth* (NB) yang telah diperkaya dengan timbal asetat ( $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ) dengan konsentrasi resistensi tertinggi, yaitu 30 ppm. Ulangan pada perlakuan ini adalah tiga kali. Kemudian diinkubasikan ke dalam *incubator shaker* selama  $\pm 24$  jam pada suhu  $37^\circ\text{C}$  dengan kecepatan 220 rpm, sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit kemudian dibuat kurva pertumbuhan bakteri dengan mengukur OD dan TPCnya setiap 4 jam sekali, selanjutnya diukur kadar timbal (Pb) dengan SSA. (Lewaru *et al.* 2012).

### 3.6.9 Pengukuran Kadar Timbal (Pb)

#### 3.6.9.1 Pengukuran Kadar Pb Menggunakan SSA

Dilakukan pengambilan 5 ml sampel lalu dimasukkan ke dalam gelas beaker ukuran 100 mL lalu ditambahkan dengan 10 ml HNO<sub>3</sub> dan 3 ml HClO<sub>4</sub>. Dipanaskan di atas *hot plate* dengan suhu 100°C hingga volumenya berkurang setengahnya dari volume awal, untuk menguapkan sebanyak mungkin zat organik yang ada. Jika masih keruh, maka ditambahkan HNO<sub>3</sub> dan zat pengoksidasi lain selain sesuai dengan komposisi, kemudian disaring dengan kertas saring Whatman nomor 42 ke dalam labu ukur 50 ml dan diencerkan dengan menggunakan HNO<sub>3</sub> 1 M hingga tanda batas dan diukur kadar timbal (Pb) dengan SSA (Afifah *et al*, 2014).

#### 3.6.9.2 Pengukuran Efisiensi Penurunan Kadar Pb oleh Bakteri

Menurut Fauziyah (2011), menyatakan bahwa perhitungan konsentrasi logam Pb terserap atau menggunakan metode Langmuir dengan persamaan sebagai berikut:

$$C_s = C_a - C_b$$

Perhitungan % Penurunan Kadar Logam Penentuan persentase logam berat Pb sesuai dengan persamaan (Husain dan Irna, 2005):

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

Keterangan: D = Daya penurunan kadar Pb

$C_s$  = Pb yang kadarnya berkurang (ppm)

$C(a)$  = Konsentrasi awal Pb (ppm)

$C(b)$  = Konsentrasi akhir Pb (ppm)

### 3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh disajikan secara deskriptif kualitatif meliputi jenis isolat bakteri dari lumpur Lapindo yang berpotensi sebagai agen bioremediasi timbal (Pb), serta karakteristik makroskopis, mikroskopis, dan hasil uji biokimia menggunakan *Microbact*. Hasil tersebut diperkuat dengan data uji penurunan kadar Pb oleh bakteri, serta analisis statistik menggunakan uji korelasi dan uji T.



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Karakterisasi Lingkungan Lumpur Lapindo

Lingkungan merupakan tempat berinteraksi antara makhluk hidup dengan habitatnya, baik berupa komponen abiotik maupun biotik. Komponen biotik merupakan komponen yang terdiri dari makhluk hidup seperti hewan, tumbuhan, manusia, dan mikroorganisme. Sedangkan faktor abiotik merupakan faktor pendukung yang mempengaruhi kondisi makhluk hidup di lingkungan tersebut, seperti air, tanah, udara, cahaya, suhu, pH dan mineral (Soemarwoto, 2004). Salah satu contoh mineral adalah logam berat Pb, dimana kadar Pb dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor abiotik lainnya seperti suhu dan pH. Pada penelitian tentang isolasi bakteri dari lumpur Lapindo ini, dilakukan pengukuran pada faktor abiotik tersebut, sehingga kondisi yang diperlukan (pada tahap isolasi) dapat diketahui. Hasil pengukuran dapat dilihat pada tabel 4.1.

**Tabel 4.1** Hasil pengukuran parameter lingkungan pada lumpur Lapindo

Sampel	Ambang Batas Pb (ppm) <sup>*)</sup>	Kadar Pb (ppm)	Suhu	pH
T1	0,05	22,88	35°C	8
T2	0,05	25,14	37°C	8
T3	0,05	26,51	43°C	8

<sup>\*)</sup> Keputusan Menteri Negara Lingkungan hidup No. 51 tahun 2004

Tabel 4.1 menunjukkan hasil analisis kadar Pb pada lumpur Lapindo yang berbeda-beda. T1 mengandung Pb sebesar 22,88 ppm, T2 sebesar 25,14 ppm, dan T3 sebesar 26,51 ppm. Berdasarkan Keputusan Menteri Negara Lingkungan hidup

No. 51 tahun 2004, ambang batas Pb yaitu 0,05 ppm (Dullah, 2009), sehingga dapat diketahui bahwa lumpur Lapindo mengandung logam berat timbal (Pb) yang kadarnya melebihi ambang batas.

Perbedaan kadar Pb pada masing-masing titik berhubungan dengan parameter suhu dan pH. Suhu pada T1 sebesar 35°C, T2 sebesar 37°C dan T3 sebesar 43°C. Hasil tersebut menunjukkan semakin tinggi suhu pada titik pengambilan sampel, semakin tinggi pula kadar Pb nya. Hal ini disebabkan karena pengaruh suhu terhadap kekuatan ion Pb. Pada saat suhu lingkungan rendah, kelarutan logam Pb semakin kecil, kerapatannya besar, dan lebih mudah mengendap, sehingga menyebabkan kadar Pb pada lumpur yang diambil di bagian permukaan menjadi rendah. Adapun pada saat suhu tinggi, kelarutan Pb semakin besar, kerapatannya kecil, dan lebih sukar mengendap, sehingga kadarnya menjadi tinggi (Vogel, 1990).

Berdasarkan penjelasan mengenai hubungan suhu dengan kadar Pb di atas, dapat diketahui bahwa pada T3 kelarutan Pb nya besar, sehingga kadar Pb pada lumpur di permukaan juga lebih tinggi daripada Pb yang berada di dasar lumpur. Adapun pada T1 dan T2 kelarutan Pb nya kecil, sehingga kemungkinan besar Pb banyak mengendap di bagian dasar lumpur, dan menyebabkan kadar Pb yang berada di permukaan lebih rendah. Menurut Juniawan *et al.* (2013), semakin dalam kedalaman lumpur Lapindo, semakin meningkat pula kandungan logam beratnya.

Selain suhu, parameter lain yang penting untuk diukur adalah pH. Menurut Nybakken (1992), salah satu faktor yang mempengaruhi pH suatu perairan adalah

konsentrasi garam-garam karbonat dan bikarbonat. Ketika garam-garam tersebut dalam konsentrasi rendah, maka konsentrasi ion natrium, kalium, dan kalsium menjadi tinggi. Ion-ion ini yang akan bereaksi dengan  $H_2O$  sehingga membentuk Hidroksida. Ion hidroksida yang yang dihasilkan akan berikatan dengan ion logam berat membentuk ikatan logam-hidroksida. Vogel (1990) menyatakan bahwa hidroksida merupakan ion yang membawa sifat basa pada suatu ikatan senyawa, sehingga dari penjelasan tersebut dapat diketahui bahwa semakin tinggi kadar ion hidroksida pada suatu lingkungan, maka kondisinya juga akan semakin basa.

Hasil pengukuran pada penelitian ini menunjukkan bahwa nilai pH lumpur Lapindo pada setiap titik baik T1, T2, maupun T3 memiliki kesamaan, yaitu 8, yang berarti bersifat basa. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Suprpto (2007), yang memperlihatkan pH pada lumpur Lapindo bersifat basa, dengan kisaran nilai pH 8-9. Hal ini disebabkan karena senyawa-senyawa yang terlarut dalam fluida termasuk Natrium dan Kalium mengalir bersama semburan lumpur Lapindo, kemudian menggenangi setiap titik, dan akhirnya dialirkan lagi ke sungai Porong. Hasil pengukuran nilai pH di sungai Porong adalah 8, sehingga dapat diketahui bahwa kandungan kimiawi dan pH pada sungai dan setiap titik tidak jauh berbeda.

Rochyatun & Rozak (2007) menyatakan bahwa pada pH basa, logam sukar terlarut dan akan mudah mengendap di dasar perairan. Berdasarkan pernyataan tersebut, dapat diketahui jika logam yang mengendap di dasar perairan banyak (kadarnya tinggi), maka logam yang terlarut di permukaan sedikit dan kadarnya menjadi rendah. Sebaliknya jika kadar logam yang mengendap di dasar perairan

sedikit (kadarnya rendah), maka logam yang terlarut di permukaan banyak dan kadarnya menjadi tinggi.

Selain pH, faktor yang mempengaruhi pengendapan logam adalah suhu. Jadi, meskipun hasil penelitian menunjukkan pH pada setiap titik sama (basa), namun suhu juga sangat berpengaruh, hal ini dapat dilihat pada T3 yang memiliki pH basa, tetapi logam yang mengendap di dasar lumpur sedikit. Hal ini dapat terjadi karena T3 memiliki suhu yang tinggi (43°C) sehingga akan meningkatkan kelarutan logam dan menyebabkan kadar Pb di permukaan lumpur menjadi tinggi. Adapun pada T1 dan T2 logam banyak mengendap di dasar lumpur, selain karena pHnya yang basa, pada kedua titik tersebut juga memiliki suhu yang rendah, yaitu 35°C dan 37°C, sehingga logam sukar untuk larut dan menyebabkan kadar Pb di permukaan lumpur menjadi rendah.

Perbedaan kadar Pb dan Suhu pada penelitian ini menyebabkan adanya mikroorganisme termasuk bakteri yang hidup pada setiap titik juga berbeda. Menurut Chen (1995), hal tersebut disebabkan karena setiap bakteri memiliki batas toleransi yang berbeda terhadap adanya variasi kondisi. Kurniasari (2005) menyatakan, jenis bakteri yang mampu hidup pada lingkungan yang mengandung logam berat termasuk lumpur Lapindo adalah dari kelompok Gram positif maupun Gram negatif .

Menurut Hughes & Rolle (1989), bakteri Gram negatif umumnya menunjukkan toleransi terhadap logam berat yang lebih besar. Hal ini disebabkan karena bakteri Gram negatif memiliki struktur kompleks tiga lapis, yaitu inter membran, lipopolisakarida, dan membran sitoplasma. Ketiga lapisan tersebut yang

menyebabkan bakteri Gram negatif mampu mengikat dan mengimobilisasi ion logam berat, termasuk Pb. Pada penelitian ini, kadar Pb tertinggi adalah pada T3, sehingga kemungkinan besar bakteri yang hidup di dalamnya adalah dari kelompok Gram negatif. Sedangkan pada T1 dan T2 kadar Pbnya lebih rendah, sehingga bakteri gram negatif maupun positif mampu hidup pada titik tersebut.

Suhu yang berbeda pada lumpur Lapindo juga menyebabkan adanya jenis bakteri yang berbeda pula. Menurut Pelczar & Chan (2008), jenis bakteri yang mampu hidup pada suhu 25-40°C adalah termasuk bakteri mesofilik, sedangkan pada suhu 40-50°C adalah termasuk bakteri termofilik. Berdasarkan penjelasan tersebut, dapat diketahui bahwa bakteri yang terdapat pada lumpur lapindo di T1 dan T2 adalah termasuk bakteri mesofilik, sedangkan pada T3 termasuk bakteri termofilik.

Adapun hasil pengukuran pH pada lumpur Lapindo yang menunjukkan nilai 8 (basa) di setiap titiknya (T1, T2, dan T3), adalah termasuk dalam batas optimum untuk pertumbuhan bakteri, sehingga jenis bakteri gram positif maupun gram negatif mampu hidup di dalamnya. Sebagaimana pendapat Pelczar & Chan (2008), pH optimum untuk bakteri adalah 6,5 dan 7,5, pH minimumnya adalah 4, sedangkan pH maksimumnya adalah 9,5. Jika bakteri berada di lingkungan dengan pH yang tidak sesuai, maka pertumbuhannya akan terhambat.

Adanya variasi kondisi pada lingkungan yang menyebabkan perbedaan mikroorganisme pada lumpur Lapindo tersebut sebagaimana yang telah disebutkan dalam hadits riwayat Imam Muslim berikut.

إِنَّ اللَّهَ قَدَّرَ مَقَادِيرَ الْخَلَائِقِ قَبْلَ أَنْ يَخْلُقَ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ بِخَمْسِينَ أَلْفَ سَنَةٍ  
وَكَانَ عَرْشُهُ عَلَى الْمَاءِ

Artinya:

“*Sesungguhnya Allah telah menentukan kadar-kadar bagi semua makhluk-Nya sebelum Dia menciptakan langit dan bumi dalam jangka waktu lima puluh ribu tahun, dan adalah ‘Arasnya masih berada di atas air’*” (HR. Muslim No. 2653).

Lafadz **مَقَادِيرَ الْخَلَائِقِ** menjelaskan bahwa Allah SWT telah menciptakan makhluk hidup termasuk bakteri dan menetapkan kemampuan hidupnya. Maksud kemampuan hidup ini adalah kemampuan dalam beradaptasi pada kondisi lingkungan yang berbeda, dimana lingkungan tersebut akan memberikan dampak tertentu pada bakteri. Adapun kondisi berbeda yang ada pada lumpur Lapindo adalah berupa kadar Pb dan suhu, yang menyebabkan adanya jenis bakteri yang berbeda pula (Sudarmojo, 2008).

## 4.2 Isolasi dan Identifikasi Bakteri dari Lumpur Lapindo

Hasil isolasi bakteri dari lumpur Lapindo yaitu empat isolat yang memiliki perbedaan ciri morfologi koloni. Pada T1 terdapat dua koloni, sedangkan pada T2 dan T3 terdapat satu koloni. Isolat-isolat tersebut kemudian diberi kode serta diamati secara makroskopis dan mikroskopis.

### 4.2.1 Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Secara Makroskopis

Morfologi koloni bakteri dapat diketahui dengan mengamati secara makroskopis beberapa parameter. Parameter tersebut meliputi bentuk, permukaan, tepi, warna, dan ukuran koloni. Hasil pengamatan morfologi koloni bakteri pada penelitian ini disajikan pada tabel 4.2 dan gambar 4.1.

**Tabel 4.2** Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri Hasil Isolasi dari Lumpur Lapindo

Titik	Kode Isolat	Morfologi Koloni				
		Bentuk	Permukaan	Tepi	Warna	Diameter koloni (mm)
T1	S1T1	Bulat	Timbul	Rata	Kekuningan	1,03
	S2T1	Bulat	Datar	Ireguler	Putih	3,12
T2	S3T2	Bulat	Timbul	Ireguler	Kekuningan	2,84
T3	S4T3	Bulat	Timbul	Berombak	Kekuningan	1,07

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa isolat S1T1 berbentuk bulat, permukaan koloninya timbul, dengan tepi rata dan berwarna kekuning-kuningan. Isolat S2T1 berbentuk bulat, permukaan koloninya datar, dengan tepi ireguler, dan berwarna putih. Isolat S3T2 berbentuk bulat, permukaan koloninya timbul, dengan tepi ireguler, dan berwarna kekuning-kuningan. Adapun isolat S4T3 berbentuk bulat, permukaan koloninya timbul, dengan tepi berombak dan berwarna kekuning-kuningan.

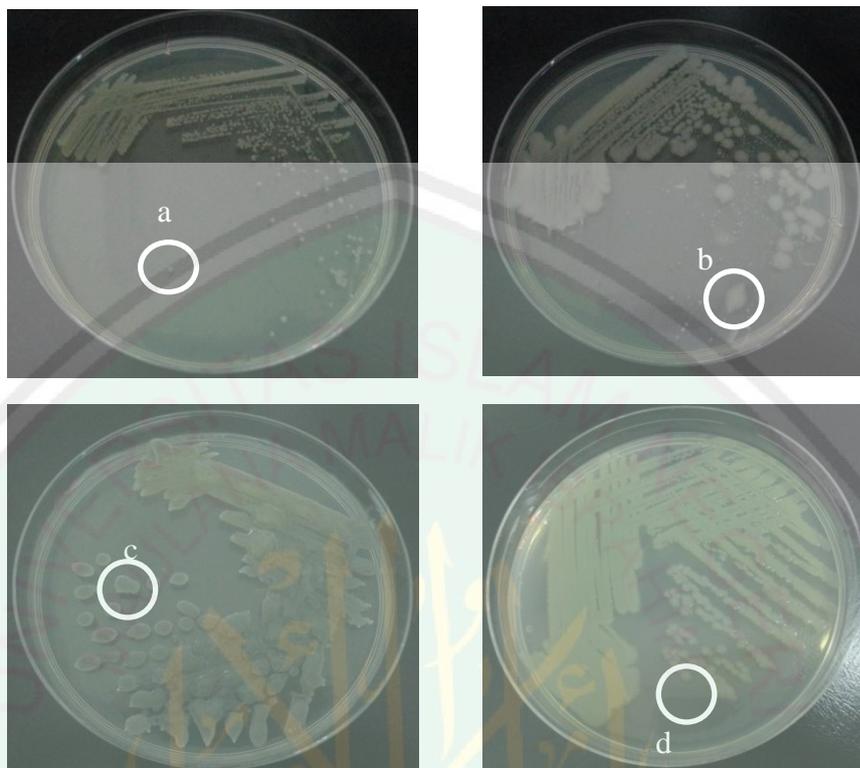
Berdasarkan hasil pengamatan morfologi koloni tersebut, dapat diketahui bahwa dari segi bentuk, semua koloni memiliki kesamaan, yaitu bulat. Jika dilihat dari segi permukaan, isolat S1T1, S3T2 dan S3T5 sama-sama timbul, sedangkan isolat S2T1 datar. Jika dilihat dari tepi, isolat yang memiliki kesamaan adalah S2T1 dan S3T2, keduanya memiliki tepi ireguler, sedangkan isolat S1T1 rata dan S4T3 berombak. Adapun warna semua isolat sama, yaitu kekuningan, kecuali isolat S2T1 yang terlihat berwarna putih.

Hasil penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Dagdag & Sukoso (2015) membuktikan bahwa koloni yang berbentuk bulat, berwarna kekuningan, dengan

tepi rata dan permukaan timbul termasuk bakteri Gram negatif. Penelitian lainnya dilakukan oleh Gurave *et al.* (2015), memperlihatkan bahwa koloni yang berbentuk bulat, dengan tepi tidak beraturan, dan permukaannya datar termasuk jenis bakteri Gram positif. Berdasarkan penjelasan yang telah disebutkan, dapat diketahui bahwa pada penelitian ini, isolat yang memiliki kesamaan dengan hasil penelitian Dagdag & Sukoso (2015) adalah isolat S1T1, sedangkan yang memiliki kesamaan dengan hasil penelitian Gurave *et al.* (2015) adalah isolat S2T1. Hasil tersebut menunjukkan kemungkinan besar isolat SIT1 adalah dari kelompok bakteri Gram negatif dan isolat S2T1 dari kelompok Gram positif.

Menurut Pardo *et al.* (2003), koloni bakteri yang berbentuk bulat, permukaannya timbul dengan tepi ireguler, dan berwarna kekuningan termasuk bakteri gram positif. Adapun pada penelitian ini, isolat yang memiliki kesamaan dengan ciri tersebut adalah isolat S3T2. Sedangkan menurut Lisdayanti (2013), koloni bakteri yang berbentuk bulat, permukaannya timbul dengan tepi berombak dan berwarna kekuningan adalah termasuk kelompok bakteri Gram negatif. Ciri-ciri tersebut sebagaimana isolat yang didapatkan pada penelitian ini, yaitu isolat S4T3. Hasil penelitian terdahulu tersebut mengindikasikan bahwa isolat S3T2 termasuk bakteri Gram positif, sedangkan isolat S4T3 termasuk Gram negatif. Berdasarkan hasil penelitian yang telah di sebutkan di atas, dapat diketahui bahwa kemungkinan besar pada penelitian ini didapatkan dua isolat bakteri Gram positif dan dua isolat Gram negatif.

Hasil pengamatan morfologi yang disajikan pada tabel 4.2 diperjelas dengan penampakan koloni tunggal isolat bakteri pada gambar 4.1 berikut.



**Gambar 4.1** Koloni tunggal isolat bakteri yang menggambarkan ukuran dan tepi  
Keterangan: (a) isolat S1T1 (b) isolat S2T1 (c) isolat S3T2 (d) isolat S4T3

Penampakan koloni tunggal pada gambar 4.1 menggambarkan ukuran dan tepi koloni setiap isolat. Hasil pengukuran diameter dan pengamatan tepi koloni menunjukkan bahwa setiap isolat memiliki perbedaan. Isolat S1T1 diameter koloninya sebesar 1,03 mm dengan tepi rata, S2T1 sebesar 3,12 mm dengan tepi ireguler, S3T2 sebesar 2,84 mm dengan tepi ireguler, dan S4T3 sebesar 1,07 mm dengan tepi berombak. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa isolat yang memiliki ukuran diameter koloni paling besar dengan tepi yang sama adalah S2T1 dan S3T2, sedangkan yang paling kecil adalah isolat S1T1 dan S4T3.

Hasil pengamatan yang telah disebutkan di atas mengindikasikan bahwa kemungkinan besar isolat S2T1 dan S3T2 berasal dari kelompok yang sama (Lihat hal. 65). Hal ini disebabkan karena jika dilihat dari penampakannya, kedua

isolat tersebut memiliki ukuran yang besar dibandingkan dengan dua isolat lainnya. Selain itu, isolat S2T1 dan S3T2 juga memiliki tepi yang sama, yaitu ireguler. Adapun S1T1 kemungkinan besar berasal dari kelompok yang sama dengan isolat S4T3, karena kedua isolat tersebut memiliki ukuran diameter koloni yang kecil. Meskipun isolat S1T1 dan S4T3 memiliki tepi yang berbeda, tetapi keduanya memiliki bentuk, permukaan, dan warna yang sama, sehingga kemungkinan besar masih dalam satu kelompok

Koloni yang memiliki ukuran besar kemungkinan berasal dari kelompok bakteri gram positif. Hal ini dapat dikaitkan dengan struktur dinding selnya. Menurut Pelczar & Chan (2008), bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang tebal, yaitu 15-80 nm, sehingga dapat menyebabkan strukturnya lebih padat dan memiliki ukuran yang besar. Adapun bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang tipis (10-15 nm), sehingga strukturnya kurang padat dan ukurannya menjadi lebih kecil.

Perbedaan ukuran koloni yang mengindikasikan perbedaan kelompok bakteri sebagaimana yang telah disebutkan dalam al Quran surat al Hijr (15):19.

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ ﴿١٩﴾

Artinya:

“Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran” (QS. al Hijr:19).

Lafadz مَوْزُونٍ (ukuran) dalam bahasa Arab berarti مَعْلُومٌ, artinya diketahui atau tertentu. Allah SWT telah menciptakan struktur makhluk-Nya sedemikian rupa berdasarkan ukuran dan kebutuhan tertentu, termasuk ukuran koloni yang

dapat menggambarkan kelompok bakteri, yaitu Gram positif dan negatif. Berdasarkan pengelompokan tersebut, dapat dianalisis perbedaan kemampuan adaptasinya terhadap lingkungan yang mengandung logam berat. Lingkungan yang dimaksud telah disebutkan dalam lafadz **فِيهَا** yang berarti padanya (bumi), termasuk di dalamnya adalah lumpur Lapindo yang diketahui tercemar Pb (Mubarakfuri, 2007).

#### 4.2.2 Pengamatan Mikroskopis dengan Pewarnaan Gram

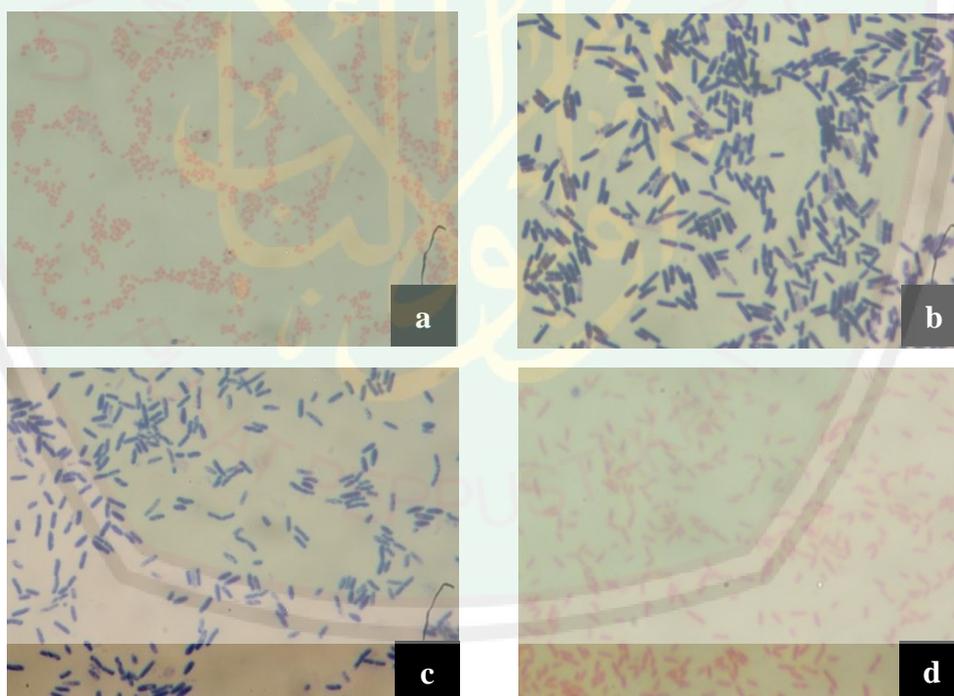
Selain pengamatan morfologi koloni bakteri, pada penelitian ini diamati pula bentuk sel dan jenis Gram dari isolat bakteri lumpur Lapindo. Menurut Lay (1994), pengujian pewarnaan Gram dilakukan untuk menentukan karakter isolat berdasarkan perbedaan struktur dinding sel antara bakteri Gram positif dan Gram Negatif. Hasil uji pewarnaan Gram dan bentuk sel bakteri disajikan pada tabel 4.3.

**Tabel 4.3** Hasil Uji Pewarnaan Gram Isolat Bakteri dari Lumpur Lapindo

Kode Isolat	Pewarnaan Gram	Bentuk Sel	Ukuran sel ( $\mu\text{m}$ )
S1T1	-	Kokus	1,07 x 0,92
S2T1	+	Batang	0,89 x 2,81
S3T2	+	Batang	0,64 x 2,27
S4T3	-	Batang	1,16 x 0,75

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa dari hasil pewarnaan Gram yang telah dilakukan, dapat diketahui bahwa terdapat dua isolat yang bersifat Gram positif dan dua isolat bersifat Gram negatif. Isolat bakteri yang termasuk Gram positif adalah S2T1 dan S3T2, ditandai dengan penampakan sel berwarna ungu. sedangkan isolat yang bersifat Gram negatif adalah S1T1 dan S4T3, ditandai dengan penampakan sel berwarna merah. Perbedaan warna tersebut disebabkan karena perbedaan komposisi dinding sel dari masing-masing bakteri.

Menurut Lay (1994), umumnya bakteri Gram negatif memiliki dinding sel dengan kandungan lipida yang tinggi. Lipida larut oleh aseton alkohol sehingga kompleks zat warna kristal violet pada dinding sel tidak dapat dipertahankan dan mengikat zat warna merah safranin pada waktu pewarnaan. Warna merah yang tetap dipertahankan mengindikasikan bakteri Gram negatif. Pada bakteri Gram positif, dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan yang tidak larut oleh aseton alkohol sehingga warna biru kompleks zat warna kristal violet tetap dipertahankan pada waktu pewarnaan. Adapun penampakan hasil pewarnaan gram pada penelitian ini dapat dilihat pada gambar 4.2



**Gambar 4.2** Hasil pewarnaan gram isolat bakteri dari lumpur Lapindo  
Keterangan: (a) isolat S1T1; (b) isolat S2T1; (c) isolat S3T2; (d) isolat S4T3

Gambar 4.2 menunjukkan bahwa setiap sel bakteri memiliki ukuran dan bentuk yang berbeda. Perbedaan ukuran tersebut dipengaruhi oleh ketebalan peptidoglikan pada dinding sel masing-masing kelompok bakteri. Bakteri Gram positif akan menunjukkan ukuran sel yang lebih besar, hal ini disebabkan karena

dinding selnya mengandung peptidoglikan yang tebal yaitu, sehingga menyebabkan struktur sel menjadi lebih kompak (Pelczar & Chan 2008). Penjelasan tersebut sesuai dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa isolat S2T1 dan S3T2 (termasuk bakteri Gram positif) yang memiliki ukuran lebih besar. Ukuran sel S2T1 sebesar  $0,89 \times 2,81 \mu\text{m}$ , sedangkan S3T2 sebesar  $0,64 \times 2,27 \mu\text{m}$ . Adapun isolat S1T1 dan S4T3 yang tergolong bakteri Gram negatif menunjukkan ukuran sel yang lebih kecil, yaitu  $1,07 \times 0,92 \mu\text{m}$  dan  $1,16 \times 0,75 \mu\text{m}$ . Hal ini disebabkan karena bakteri tersebut memiliki peptidoglikan yang tipis pada dinding sel, sehingga menyebabkan struktur sel menjadi kurang kompak.

Selain pengamatan reaksi bakteri terhadap pewarnaan Gram, pada penelitian ini dilakukan pula pengamatan bentuk selnya. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semua isolat bakteri (S2T1, S3T2 dan S4T3) memiliki bentuk sel yang sama, yaitu batang, kecuali S1T1 yang berbentuk kokus. Menurut Lay (1994), berdasarkan perbedaan bentuk, sifat Gram, serta ukuran sel tersebut, dapat diindikasikan bahwa kemungkinan besar setiap isolat bakteri dari lumpur Lapindo berasal dari genus yang berbeda.

Hasil penelitian terdahulu membuktikan, bakteri gram negatif yang resisten terhadap logam berat Pb dan berbentuk kokus adalah kemungkinan dari genus *Acinetobacter*, *Phenylobacterium*, dan *Morococcus*, sedangkan yang berbentuk batang kemungkinan berasal dari genus *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, dan *Xanthobacter* (El-Sayed, 2016; Hussein *et al.*, 2004; Wulandari 2005). Adapun pada penelitian ini, isolat bakteri Gram negatif yang berbentuk kokus adalah S1T1, sedangkan yang

berbentuk batang adalah S4T3. Penelitian lain tentang bakteri resisten logam berat juga dilakukan Zulaika *et al.* (2012), hasilnya menunjukkan bahwa terdapat bakteri gram positif yang berbentuk batang, setelah diidentifikasi bakteri tersebut berasal dari genus *Bacillus*. Pada penelitian ini, isolat bakteri Gram positif yang memiliki bentuk batang adalah S2T1 dan S3T2.

Bakteri merupakan makhluk yang berukuran sangat kecil dan penting untuk diteliti karena habitatnya yang kosmopolit, proses pertumbuhannya yang dapat diamati dalam waktu yang relatif singkat, hingga manfaatnya bagi kehidupan manusia. Allah SWT berfirman dalam surat Yunus (10): 61.

وَمَا تَكُونُ فِي شَأْنٍ وَمَا تَتْلُوا مِنْهُ مِنْ قُرْآنٍ وَلَا تَعْمَلُونَ مِنْ عَمَلٍ إِلَّا كُنَّا عَلَيْكُمْ شُهُودًا إِذْ تُفِيضُونَ فِيهِ وَمَا يَعْزُبُ عَنْ رَبِّكَ مِنْ مِثْقَالِ ذَرَّةٍ فِي الْأَرْضِ وَلَا فِي السَّمَاءِ وَلَا أَصْغَرَ مِنْ ذَلِكَ وَلَا أَكْبَرَ إِلَّا فِي كِتَابٍ مُبِينٍ ﴿٦١﴾

Artinya:

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

Lafadz dzarrah (ذَرَّةٌ) dalam bahasa Arab berarti benda kecil yang tidak dapat dibagi lagi. Adapun maksud lafadz ذَرَّةٌ dalam ilmu biologi adalah makhluk paling kecil yang tidak dapat diamati dengan menggunakan mata telanjang, termasuk bakteri yang terdapat di lumpur Lapindo. Bakteri dapat dilihat menggunakan mikroskop dengan adanya suatu teknik pengamatan, salah satunya

adalah pewarnaan gram. Berdasarkan Penjelasan tersebut, dapat disimpulkan bahwa keberadaan bakteri yang sedemikian rupa merupakan kehendak Allah SWT, sebagaimana yang diuraikan pada kalimat *وَمَا يَعْزُبُ عَنْ رَبِّكَ مِنْ مِثْقَالِ ذَرَّةٍ*, maksud kalimat ini adalah tidak ada satupun di bumi ini yang luput dari pengetahuan dan penglihatan Allah SWT, meskipun sebesar dzarrah (*ذَرَّةٍ*) yang paling kecil termasuk bakteri atau yang lebih besar darinya, kecuali yang telah Allah SWT catat dalam *Lauh Mahfudz* (Shihab, 2002).

#### 4.3 Identifikasi Bakteri dengan Uji Biokimia Menggunakan *Microbact*

Berdasarkan hasil pewarnaan gram yang telah dilakukan, dapat diketahui bahwa empat isolat yang didapatkan terdiri dari dua isolat Gram positif (S2T1 dan S3T2) dan dua isolat Gram negatif (S1T1 dan S4T3). Selanjutnya isolat tersebut diidentifikasi sampai tingkat spesies dengan uji biokimia menggunakan *Microbact*. Menurut Cowan (2004), uji biokimia bakteri merupakan suatu cara atau perlakuan yang dilakukan untuk mengidentifikasi dan mendeterminasi suatu biakan murni bakteri hasil isolasi melalui sifat-sifat fisiologinya.

Sifat metabolisme bakteri dalam uji biokimia biasanya dilihat dari interaksi metabolit-metabolit yang dihasilkan dengan reagen-reagen kimia. Uji lain dapat dilakukan dengan cara melihat kemampuannya menggunakan senyawa tertentu sebagai sumber karbon dan sumber energi. Uji-uji biokimia ditujukan untuk memastikan bakteri yang dianalisa benar-benar bakteri yang diharapkan. Uji biokimia bertujuan untuk memperkecil kesalahan, karena beberapa spesies memiliki sifat-sifat yang hampir sama (MacFaddin, 1980). Hasil uji biokimia disajikan pada tabel 4.6.

**Tabel 4.4** Hasil Uji Biokimia Isolat Bakteri Lumpur Lapindo Menggunakan *Microbact*

No.	Uji Biokimia	Isolat Bakteri			
		S1T1	S2T1	S3T2	S4T3
1.	Spora	-	+	+	-
2.	Motilitas	+	+	+	+
3.	Glukosa	+	+	-	-
4.	Sukrosa	-	-	-	-
5.	Laktosa	-	-	-	-
6.	Arabinosa	-	+	-	+
7.	Manitol	+	+	-	-
8.	Xylosa	-	+	+	+
9.	Oksidase	+	+	+	+
10.	Katalase	-	+	+	-
11.	Urease	-	-	+	-
12.	V-P	-	+	+	-
13.	Indol	-	-	-	-
14.	Lysin	-	-	-	+
15.	Ornithin	-	-	-	+
16.	Nitrat	+	-	-	-
17.	Sitrat	+	-	-	+
	Spesies	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Brevibacillus laterosporus</i>	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>

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

Tabel 4.6 menunjukkan bahwa masing-masing isolat bakteri memberikan respon yang berbeda terhadap uji biokimia yang dilakukan. Hasil selengkapnya dari uji biokimia tersebut dapat dilihat pada Lampiran 8. Pada uji motilitas, semua isolat memperlihatkan hasil positif, sedangkan pada uji spora, isolat yang terbukti positif (berspora) adalah S2T1 dan S3T2, dimana keduanya termasuk kelompok Gram positif. Adapun isolat S1T1 dan S4T3 yang termasuk Gram negatif

menunjukkan hasil uji negatif (tidak berspora). Hasil tersebut sesuai dengan penelitian terdahulu yang membuktikan bahwa pada lumpur Lapindo ditemukan bakteri gram positif berspora dan Gram negatif yang tidak berspora (Habibie *et al.*, 2014; Hussein *et al.*, 2004).

Uji biokimia selanjutnya adalah uji fermentasi gula-gula. Menurut Adam (2001), uji ini digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasi masing-masing gula membentuk asam. Pada penelitian ini, uji gula-gula yang digunakan adalah glukosa, sukrosa, laktosa, arabinosa, xylosa, dan manitol. Pada uji glukosa dan manitol, isolat yang menunjukkan hasil positif adalah S1T1 dan S2T1, sedangkan S3T2 dan S4T3 hasilnya negatif. Pada uji sukrosa dan laktosa, semua isolat hasilnya negatif, sedangkan pada uji arabinosa isolat yang terbukti positif adalah S1T1 dan S3T2, dan negatif pada S2T1 dan S4T3. Adapun pada uji xilosa, semua isolat menunjukkan hasil positif, kecuali S1T1 yang hasilnya negatif.

Selain uji fermentasi gula-gula, dilakukan pula uji enzim, yaitu oksidase, katalase, dan urease. Hasil penelitian menunjukkan semua isolat positif pada uji oksidase, sedangkan pada uji urease, yang positif hanya isolat S3T2. Adapun pada uji katalase, isolat S1T1 dan S4T3 yang merupakan bakteri Gram negatif menunjukkan hasil negatif, sedangkan S2T1 dan S3T2 (Gram positif) menunjukkan hasil positif.

Uji *Voges Proskauer* (VP) memperlihatkan hasil negatif pada isolat bakteri Gram negatif (S1T1 dan S4T3), dan positif pada bakteri Gram positif (S2T1 dan S3T2). Pada uji indol, semua isolat menunjukkan hasil negatif,

sedangkan pada uji lysin dan ornithin, hasil positif hanya terdapat pada isolat S4T3. Uji nitrat yang positif terlihat pada isolat S1T1, sedangkan isolat lainnya negatif. Adapun uji Sitrat terbukti positif pada isolat S1T1 dan S4T3, dan negatif pada isolat S2T1 dan S3T2. Hasil tersebut didukung dengan hasil penelitian Dagdag dan Sukoso (2015) yang membuktikan bahwa pada lumpur Lapindo ditemukan bakteri yang positif pada uji oksidase, lysin, ornithin, dan sitrat, sedangkan pada uji katalase, V-P, nitrat, indol, dan urease terbukti negatif. Hasil identifikasi menggunakan *Microbact* memperlihatkan bahwa isolat bakteri tersebut merupakan spesies *Pseudomonas pseudomallei*.

Jenis Gram dan hasil uji biokimia menggunakan *Microbact* selanjutnya digunakan untuk penentuan isolat bakteri sampai tingkat spesies. Bila termasuk gram negatif, maka hasil uji *Microbact* langsung dimasukkan dalam *software microbact*, dan bila termasuk Gram positif, maka hasil pengujian *microbact* dijadikan rujukan dalam mengidentifikasi spesies di buku *Bergey's Manual of Determination Bacteriology 9<sup>th</sup>*. Berdasarkan hasil karakterisasi uji biokimia, dapat teridentifikasi isolat S1T1 sebagai spesies *Acinetobacter baumannii*, isolat S2T1 sebagai spesies *Bacillus subtilis*, isolat S3T2 sebagai spesies *Brevibacillus laterosporus*, dan isolat S5T3 sebagai spesies *Pseudomonas pseudomallei*.

Hasil identifikasi di atas menunjukkan bahwa keempat isolat bakteri dari lumpur Lapindo berasal dari spesies yang berbeda, dan dua di antaranya sudah pernah ditemukan pada penelitian terdahulu, yaitu *Bacillus sbtilis* pada penelitian Santosa (2008), sedangkan *Pseudomonas pseudomallei* pada penelitian Dagdag dan Sukoso (2015). Adapun *Acinetobacter baumannii* dan *Brevibacillus*

*laterosporus* adalah isolat baru yang berhasil diisolasi. Keempat isolat tersebut selanjutnya diuji resistensi serta penurunannya terhadap kadar Pb.

Perbedaan nama spesies bakteri pada penelitian ini sebagaimana firman Allah SWT dalam al Quran surat al Baqarah (2):31.

وَعَلَّمَ آدَمَ الْأَسْمَاءَ كُلَّهَا ثُمَّ عَرَضَهُمْ عَلَى الْمَلَائِكَةِ فَقَالَ أَنْبِئُونِي بِأَسْمَاءِ هَٰؤُلَاءِ  
 إِنْ كُنْتُمْ صَادِقِينَ ﴿٣١﴾

Artinya:

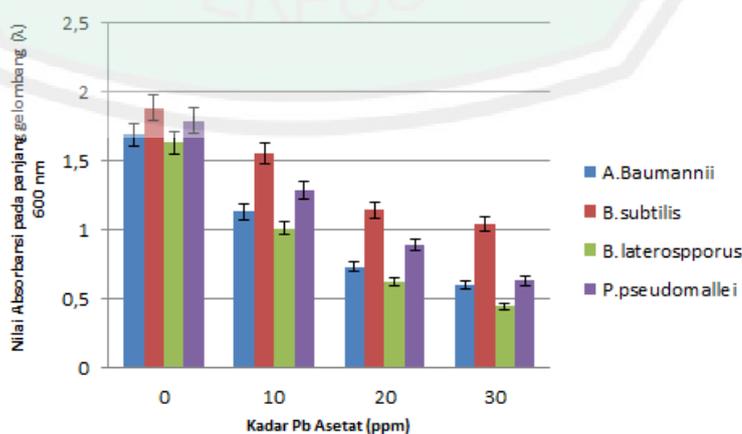
*Dan Dia ajarkan kepada Adam nama-nama (benda) semuanya, kemudian Dia perlihatkan kepada para malaikat seraya berfirman, "Sebutkanlah kepada-Ku nama semua (benda) ini, jika kamu yang benar!"*

Makna وَعَلَّمَ آدَمَ الْأَسْمَاءَ pada ayat di atas adalah Allah SWT memberi keutamaan kepada Adam atas malaikat berupa ilmu tentang nama-nama sesuatu, sedangkan maksud lafadz عَرَضَهُمْ adalah setelah Allah SWT memberi tahu nama sesuatu itu kepada Adam, lalu mengemukakannya kepada para malaikat dan menyuruhnya untuk menyebutkannya kembali, hal ini diungkapkan dalam lafadz أَنْبِئُونِي yang artinya sebutkanlah. Jika malaikat tidak mengetahui nama sesuatu itu padahal Allah SWT telah memperlihatkannya, maka malaikat tidaklah lebih tahu akan sesuatu tersebut kecuali dengan kehendak-Nya, dan terbukti bahwa atas kehendak Allah SWT, ilmu yang dimiliki Adam lebih utama dibandingkan dengan malaikat. Adam pada ayat tersebut adalah perwakilan dari manusia (Katsir, 2007), sehingga jika dikaitkan dengan penelitian ini, maka manusia yang diberi pengetahuan lebih utama perlu mengeksplorasi adanya makhluk hidup pada lumpur lapindo, terutama bakteri yang terbukti memiliki nama yang berbeda-beda. Adapun malaikat tidaklah lebih mampu untuk mengeksplorasinya.

Penjelasan di atas sebagaimana menurut tafsir Ibnu Katsir, bahwa nama sesuatu yang dimaksud adalah nama-nama yang dikenal manusia, misalnya hewan, langit, bumi, dan nama-nama makhluk lainnya, termasuk bakteri (Mubarakfuri, 2007). Pada penelitian ini, bakteri yang didapatkan terbukti memiliki nama yang berbeda, hal ini disebabkan karena perbedaan karakteristiknya. Karakteristik tersebut dapat dilihat dari penampakan makroskopis, mikroskopis, uji biokimia, serta resistensi dan kemampuannya dalam menurunkan Pb.

#### 4.4 Uji Resistensi Bakteri terhadap Timbal (Pb)

Uji resistensi bakteri dilakukan untuk mengetahui ketahanan hidupnya pada media yang mengandung Pb. Menurut Lewaru *et al.* (2012), ketahanan hidup bakteri tersebut dapat dilihat berdasarkan nilai absorbansi (OD) pada spektrofotometer dengan panjang gelombang ( $\lambda$ ) 600 nm. Pada dasarnya 600 nm digunakan karena sel-sel bakteri menyerap pada panjang gelombang ini. Adapun Hasil uji resistensi bakteri yang ditambahkan timbal asetat ( $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ) dengan tiga kali ulangan dapat dilihat pada gambar 4.3. (Lampiran 4 tabel 1).



**Gambar 4.3** Hasil uji resistensi bakteri dari lumpur Lapindo terhadap Pb berdasarkan OD  $\lambda$  600 nm

Hasil uji resistensi pada gambar 4.3 menunjukkan bahwa keempat isolat dari lumpur Lapindo memiliki nilai OD yang berbeda. Perbedaan nilai OD pada setiap kadar menunjukkan tingkat kepadatan sel bakteri yang berbeda pula. Hal ini sebagaimana pendapat Lewaru *et al.* (2012), semakin tinggi nilai yang ditunjukkan OD dengan panjang gelombang 600 nm, semakin tinggi pula kepadatan sel bakteri dan semakin resisten terhadap Pb. Pada penelitian ini, bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan Pb Asetat 0 ppm menunjukkan nilai OD yang lebih tinggi daripada *Brevibacillus laterosporus*, akan tetapi jika dibandingkan dengan *Pseudomonas pseudomallei*, maka *Acinetobacter baumannii* menunjukkan nilai OD yang lebih rendah. Adapun isolat *Bacillus subtilis* memiliki nilai OD yang lebih tinggi dari pada *Pseudomonas pseudomallei*, sehingga dapat diketahui bahwa isolat yang memiliki nilai OD tertinggi adalah *Bacillus subtilis*.

Keempat bakteri yang ditambahkan Pb Asetat 10, 20, dan 30 ppm menunjukkan pola resistensi yang sama sebagaimana pada kadar 0 ppm, akan tetapi nilai OD nya mengalami penurunan. Penurunan tersebut dapat diketahui dari hasil penelitian yang memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi Pb asetat yang diberikan, maka semakin rendah nilai ODnya. Menurut Zulaika (2014), hal tersebut dimungkinkan karena pertumbuhan bakteri terhambat oleh adanya logam berat yang ada dalam media, sehingga mempengaruhi proses metabolisme sel yang mengakibatkan kepadatan sel menurun. Berdasarkan hasil pengamatan pola resistensi bakteri yang telah dilakukan, dapat disimpulkan

bahwa *Bacillus subtilis* merupakan bakteri yang memiliki nilai OD tertinggi dan paling resisten terhadap setiap kadar Pb Asetat.

Hasil penelitian di atas dibuktikan dengan hasil penelitian Murthy *et al.* (2014), yang memperlihatkan bahwa nilai OD *Bacillus* pada media yang mengandung Pb 30 ppm (jam ke-24) adalah pada kisaran 0,8. Pada penelitian ini, nilai OD jam ke-24 pada konsentrasi 30 ppm adalah sebesar 1,043, sehingga dapat disimpulkan bahwa hasil penelitian tidak jauh berbeda dengan penelitian sebelumnya. Menurut Zulaika *et al.*, (2012), *Bacillus* merupakan bakteri gram positif berbentuk batang yang memiliki resistensi tinggi terhadap Pb.

Isolat berikutnya yang memiliki nilai OD tertinggi kedua setelah *B. subtilis* adalah *P. pseudomallei*. Hussein *et al.* (2004) menyatakan, *P. pseudomallei* merupakan bakteri Gram negatif yang memiliki resistensi tinggi terhadap Pb. Penjelasan tersebut didukung dengan hasil penelitian Canovas *et al.* (2003) yang membuktikan bahwa pada konsentrasi 30 ppm dalam waktu 24 jam, *Pseudomonas* menunjukkan nilai OD kisaran 0,6. Adapun pada penelitian ini, nilai OD *P. pseudomallei* adalah sebesar 0,630, hal ini berarti hasil penelitian sesuai dengan penelitian sebelumnya.

Adapun bakteri yang menunjukkan nilai OD terendah adalah *B. laterosporus* dan *A. baumannii*. Hal ini berarti kedua isolat tersebut memiliki kepadatan sel dan resistensi yang rendah pula. Menurut hasil penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Kamika dan Momba (2013), *B. laterosporus* merupakan bakteri yang tingkat resistensinya terhadap logam berat Pb rendah. Adapun *A. baumannii* yang tingkat resistensinya lebih tinggi dari pada *B. laterosporus*

didasarkan pada penelitian El Sayed (2016) yang membuktikan bahwa *Acinetobacter baumannii* merupakan spesies yang 100% resisten Pb.

Perbedaan tingkat resistensi terhadap Pb pada masing-masing bakteri di atas didasarkan pada pendapat Chen (1995), setiap bakteri memiliki perbedaan batas toleransi terhadap adanya variasi konsentrasi Pb. Toleransi tersebut disebabkan karena adanya mekanisme resistensi dan penurunan kadar Pb oleh bakteri. Menurut Jarostawiecka & Seget (2014), mekanisme resistensi bakteri terhadap Pb berdasarkan lokasinya dibagi menjadi dua, yaitu ekstraseluler dan intraseluler.

Pada mekanisme resistensi ekstraseluler, Pb (II) yang ada pada lingkungan dapat dikurangi toksisitasnya dengan membentuk endapan polifosfat atau membentuk ikatan dengan polisakarida ekstraseluler (polimer alami) yang ada pada dinding sel (Jarostawiecka & Seget, 2014). Menurut Gadd (1993), bakteri yang resisten (tahan) terhadap logam berat disebabkan kemampuan untuk mendetoksifikasi pengaruh logam berat dengan adanya materi granuler, seperti polifosfat di dinding sel yang mampu mengikat Pb. Menurut Yani dan Kurniasari (2008), polimer ekstraseluler dapat berikatan dengan Pb karena memiliki gugus yang bermuatan negatif, seperti sulfidril (-SH), fosforil ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), karboksil ( $\text{COO}^-$ ) maupun hidroksil ( $\text{OH}^-$ ) yang akan beraksi dengan ion logam Pb yang bermuatan positif. Pb yang telah berikatan dengan gugus negatif pada polimer ekstraseluler akan menjadi Pb (0) yang bersifat nontoksik.

Kemudian apabila dinding sel bakteri telah jenuh oleh pengikatan Pb dengan polimer ekstraseluler, maka akan terjadi mekanisme detoksifikasi

intraseluler. Pb (II) yang tidak mengalami pengikatan ekstraseluler akan memasuki sel melalui transporter logam. Pada mekanisme resistensi intraseluler, Pb (II) dinonaktifkan dengan pengendapan oleh polifosfat, pengikatan Metallothienins (MTs), dan sistem efflux (Jarostawiecka & Seget, 2014).

Selain pada mekanisme ekstraseluler, Pb (II) juga dapat mengalami pengendapan menjadi fosfat pada mekanisme intraseluler. Pengendapan intraseluler dikatalis oleh enzim fosfatase yang aktivitasnya melepas fosfat inorganik (Naik *et al.*, 2012). Endapan Pb (II) fosfat intraseluler inilah yang kemudian membentuk *Poliposphat Body* (PPB). PPB berperan dalam pengendapan ion logam (termasuk Pb) dan menetralisasi efek toksiknya (Pereira *et al.* 2012). Selain mengalami pengendapan menjadi timbal polifosfat, Pb juga dapat mengalami pengikatan oleh protein intraseluler yaitu Metallothienins (MTs). MTs merupakan protein yang sering disebut sebagai protein yang terlibat dalam perlindungan sel terhadap logam berat (Naik *et al.*, 2012).

Apabila konsentrasi Pb pada lingkungan terlalu tinggi, maka sel bakteri akan mengalami kejenuhan. Kejenuhan ini yang menyebabkan mekanisme resistensi yang disebutkan di atas tidak dapat berjalan efektif, sehingga bakteri akan menggunakan mekanisme sistem efflux untuk menjaga agar toksisitas Pb tidak mengganggu metabolisme sel. Pada sistem efflux, Pb akan diangkut oleh transporter superfamili P-type ATPases dari famili P<sub>1B</sub>, yang juga terlibat dalam transport Zn dan Cd (Bruins *et al.* 2000). Selain transporter tersebut, terdapat pula dari famili CBA dan CDF. *Cation Diffusion Facilitator* (CDF) merupakan transporter yang membawa ion dari sitoplasma ke periplasma, sedangkan

*Coumarin Boronic Acid* (CBA) berperan dalam mengeluarkan Pb dari sel (Hynninen, 2010).

#### 4.5 Uji Penurunan Kadar Timbal (Pb) oleh Bakteri

Mekanisme resistensi Pb (II) yang telah dijelaskan pada pembahasan sebelumnya dapat menurunkan kadar pencemar logam berat, khususnya timbal yang ada di lingkungan. Hal ini sebagaimana hasil penelitian Lewaru *et al.* (2012) yang membuktikan bahwa bakteri yang mampu bertahan hidup (resisten) pada media dengan logam berat juga terbukti dapat menurunkan kadarnya, yaitu dari konsentrasi awal 700 ppm menjadi 80 ppm. Selain itu, terdapat pula penelitian lain yang dilakukan oleh Satya & Larashati (2012), yang membuktikan bahwa bakteri yang resisten terhadap Pb juga dapat menurunkan kadar Pb dari konsentrasi 15 ppm menjadi 0 ppm, hal ini berarti efisiensi penurunan kadarnya mencapai 100%. Adapun hasil analisis kemampuan bakteri lumpur Lapindo dalam menurunkan kadar Pb pada penelitian ini dengan tiga ulangan dapat dilihat pada tabel 4.4 dan lampiran 7.

**Tabel 4.5** Kemampuan bakteri dari lumpur Lapindo dalam menurunkan kadar Pb dengan waktu inkubasi 24 jam

Bakteri	Kadar Pb Awal (ppm)	Kadar Pb yang Terakumulasi Oleh sel bakteri (ppm)	Kadar Pb Akhir (ppm)	Persentase Penurunan
<i>A.baumannii</i>	30	23,16	6,84	77,2%
<i>B.subtilis</i>	30	27,90	2,10	93%
<i>B.laterosporus</i>	30	20,76	9,24	69,2%
<i>P.pseudomallei</i>	30	25,84	4,16	86,13%

Tabel 4.4 menunjukkan bahwa pada uji penurunan kadar Pb oleh bakteri lumpur Lapindo, masing-masing isolat pada media hidupnya diberi kadar Pb yang sama, yaitu 30 ppm. Namun, setelah diinkubasi selama 24 jam, terdapat perbedaan kadar Pb yang berhasil terakumulasi oleh sel bakteri. Akumulasi Pb tersebut dapat diketahui dari kadar Pb pada pellet atau biomassa bakteri berdasarkan analisis menggunakan SSA (Lampiran 7).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diketahui bahwa bakteri yang memiliki total penurunan kadar Pb tertinggi adalah *Bacillus subtilis*. Hal ini dapat diketahui dari kadar Pb yang terakumulasi dalam selnya, yaitu sebesar 27,90 ppm sehingga kadar Pb mengalami penurunan menjadi 2,10 ppm, dengan efisiensi mencapai 93%. Efektifitas penurunan kadar Pb ini didukung dengan adanya faktor lingkungan tempat *Bacillus subtilis* hidup, yaitu pada titik 1. Titik 1 memiliki suhu dan pH optimum yang mengakibatkan kadar Pb menjadi rendah, sehingga dapat mendukung aktivitas bakteri dalam menurunkan logam berat Pb. Hasil tersebut didukung dengan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Cabuk *et al.* (2006) yang membuktikan bahwa *Bacillus* sp. mampu menurunkan logam berat Pb dengan efisiensi mencapai 91,7%.

Bakteri selanjutnya yang memiliki nilai penurunan kadar Pb tertinggi kedua adalah *Pseudomonas pseudomallei*, yang selnya mampu mengakumulasi Pb sebesar 25,84 ppm, sehingga dapat diketahui kadar Pbnya menurun menjadi 4,16 ppm dengan efisiensi mencapai 86,13%. Menurut Hassen *et al.* (1998), genus *Pseudomonas* mampu menurunkan kadar logam berat dengan efisiensi mencapai 95%. Meskipun *P. pseudomallei* termasuk bakteri Gram negatif, dan umumnya

memiliki kemampuan dalam menurunkan kadar logam berat lebih tinggi, namun pada penelitian ini efisiensi penurunannya lebih rendah dibanding *B.subtilis*. Hal ini disebabkan karena pengaruh faktor lingkungan yang sebelumnya telah diukur, yaitu kadar Pb, suhu, dan pH. *P. pseudomallei* berasal dari titik yang memiliki kadar Pb yang tinggi, yaitu 26, 51 ppm, suhu yang tinggi (43°C), serta pH 8 (basa), sehingga menyebabkan kemampuan bakteri dalam menurunkan kadar Pb menjadi lebih rendah.

Adapun *B. subtilis* meskipun berasal dari kelompok Gram positif, tetapi nilai efisiensinya dalam menurunkan kadar Pb tinggi. Hal ini disebabkan karena kadar Pbnya yang rendah serta kondisi suhu dan pH yang optimum, sehingga menunjukkan hasil yang paling efektif. Penjelasan tersebut sesuai dengan pendapat El-Shanshoury *et al.* (2013) suhu optimum untuk penurunan logam berat adalah 35°C, sedangkan nilai pH optimumnya antara 7-8.

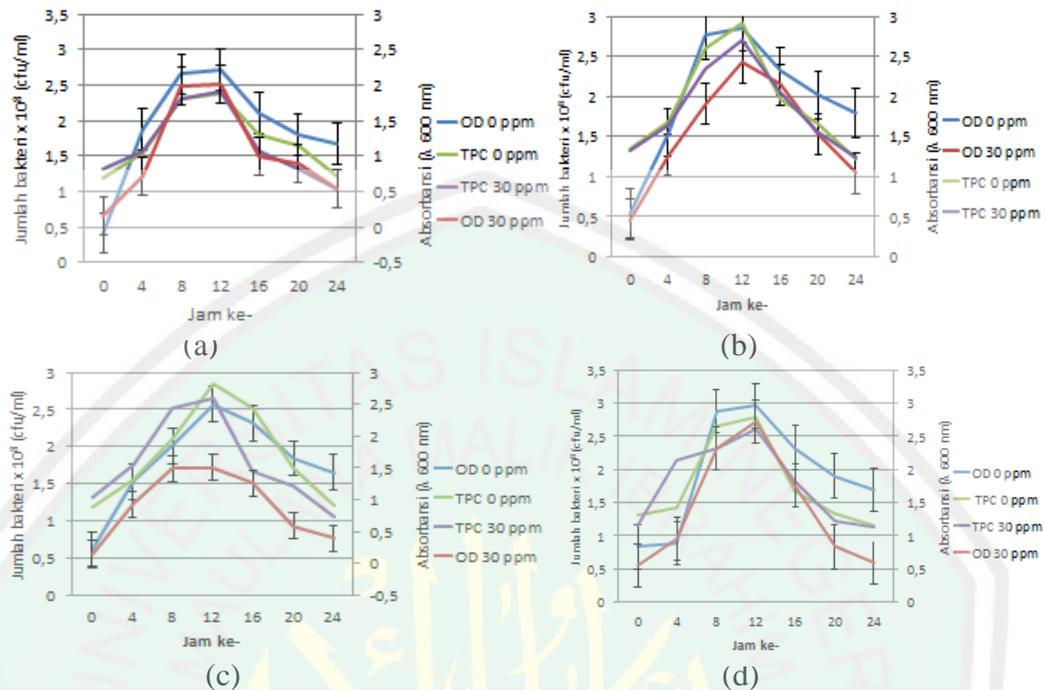
Bakteri *A. Baumannii* terbukti memiliki nilai penurunan Pb yang lebih rendah dibandingkan *B. subtilis* dan *P. pseudomallei*, yaitu mampu mengakumulasi Pb sebesar 23,16 ppm, sehingga dapat diketahui kadar Pb menurun menjadi 6,84 ppm, dengan efisiensi penurunan sebesar 77,2%. Hasil tersebut didukung dengan penelitian El Sayed (2016) yang membuktikan bahwa *Acinetobacter baumannii* merupakan spesies yang 100% resisten Pb.

Adapun bakteri *Brevibacillus laterosporus* selnya menunjukkan nilai akumulasi Pb terendah, yaitu sebesar 20,76 ppm, sehingga kadar Pb mengalami penurunan menjadi 9,24 ppm, dengan efisiensi 69,2%. Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Kamika dan Momba (2013) memperlihatkan, *Brevibacillus*

*laterosporus* dapat menurunkan kadar Pb hanya sebesar 31%. Perbedaan efisiensi penurunan tersebut kemungkinan disebabkan karena kadar Pb yang diberikan pada penelitian terdahulu lebih besar, yaitu sebesar 100 ppm, sehingga kemampuan dalam menurunkan kadar Pbnya pun lebih rendah. Menurut Chihomvu *et al.* (2015), *Brevibacillus laterosporus* merupakan bakteri resisten logam berat yang juga berpotensi dalam mengatasi toksisitasnya.

Setiap bakteri, termasuk yang diisolasi dari lumpur Lapindo memiliki perbedaan pola pertumbuhan yang digambarkan dalam bentuk kurva. Menurut Purwoko (2007), pertumbuhan bakteri merupakan penambahan sel dan kemampuan bakteri untuk berkembang biak, yang dapat divisualisasikan dengan kurva pertumbuhan. Kurva pertumbuhan tersebut akan menggambarkan pola pertumbuhan bakteri yang terbagi menjadi empat fase yaitu lag, eksponensial, stasioner, dan kematian. Harley & Prescott (2002) menyatakan, keempat fase pertumbuhan bakteri dapat diketahui dari pengukuran turbiditas populasi bakteri pada kultur cair menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm (OD).

Selain OD, fase pertumbuhan bakteri dari lumpur Lapindo juga dapat diketahui menggunakan metode TPC dengan melakukan perhitungan CFU (*Colony Forming Unit*). Menurut Zulaika *et al.* (2012), CFU bertujuan untuk mengetahui daya hidup bakteri menggunakan metode *pour plate* dengan pengenceran bertingkat. Adapun Hasil pengukuran kurva pertumbuhan bakteri dari lumpur Lapindo berdasarkan nilai OD dan TPC pada uji penurunan kadar Pb dapat dilihat pada gambar 4.4



**Gambar 4.4** Kurva Petumbuhan bakteri dari lumpur Lapindo berdasarkan hasil OD dan TPCnya

Keterangan: (a) *A. Baumannii* (b) *B. subtilis* (c) *B. laterosporus*  
(d) *P. pseudomallei*

Data pada gambar 4.4 di atas menunjukkan bahwa jumlah populasi bakteri sejalan dengan nilai OD sel-selnya, artinya jika jumlah sel bakteri tersebut meningkat, maka nilai OD juga mengalami peningkatan. Sebaliknya, jika jumlah populasi bakteri menurun, maka nilai ODnya juga mengalami penurunan. Hal ini dibuktikan dengan hasil uji korelasi (Lampiran 10) yang memperlihatkan bahwa antara OD dan TPC keduanya berkorelasi positif. Adapun fase pertumbuhan dari keempat isolat yang ditambahkan Pb Asetat 0 dan 30 ppm terjadi pada waktu yang berbeda. Perbedaan tersebut dapat dilihat pada tabel 4.5.

Tabel 4.6 Perbedaan waktu terjadinya fase pertumbuhan pada empat isolat bakteri lumpur Lapindo

Bakteri	Waktu Terjadinya Fase (jam ke-)							
	Lag		Log (akhir)		Stasioner		Kematian	
	0 ppm	30 ppm	0 ppm	30 ppm	0 ppm	30 ppm	0 ppm	30 ppm
<i>A. Baumannii</i>	TK	TK	8	8	8-12	8-12	16-24	16-24
<i>B. subtilis</i>	TK	TK	8	12	8-12	TK	16-24	16-24
<i>B. laterosporus</i>	TK	TK	12	8	TK	8-12	16-24	16-24
<i>P. pseudomallei</i>	0-4	TK	8	8	8-12	8-12	16-24	16-24

Keterangan:

TK: Tidak Kelihatan

Tabel 4.5 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan waktu terjadinya setiap fase dari keempat bakteri. Bakteri *P. pseudomallei* yang ditambahkan Pb Asetat 0 ppm pada awal inkubasi memperlihatkan kenaikan pertumbuhan yang relatif lambat, hal ini dikarenakan bakteri dalam fase lag dimana pertumbuhannya masih dalam keadaan adaptasi. Fase lag bakteri *P. pseudomallei* diketahui pada jam ke-0 sampai ke-4. Adapun bakteri *A. Baumannii*, *B. subtilis* dan *B. laterosporus* fase lagnya tidak kelihatan. Adapun ketika ditambahkan Pb Asetat 30 ppm, keempat bakteri tersebut fase lagnya juga tidak kelihatan, hal ini disebabkan karena pengamatan pertumbuhannya setiap empat jam sekali, sehingga perubahan yang terjadi dalam rentang waktu kurang dari empat jam tidak diketahui. Menurut Pratiwi (2008), fase lag merupakan fase adaptasi, yaitu fase penyesuaian stasioner mikroorganisme pada suatu lingkungan baru, dan dicirikan dengan tidak adanya peningkatan jumlah sel.

Populasi sel bakteri terlihat meningkat pada jam ke-8, keadaan ini disebut dengan fase log. Pada perlakuan yang ditambahkan Pb Asetat 0 ppm maupun 30 ppm, awal fase log setiap bakteri tidak kelihatan, diperkirakan fase log bakteri *A. baumannii* dan *B. subtilis* terjadi pada jam ke-3 sampai jam ke-8, *B. laterosporus* pada jam ke-3 sampai jam ke-12, dan *P. pseudomallei* pada jam ke-5 sampai jam ke-8. Adapun puncak fase log bakteri dari kedua perlakuan tersebut menunjukkan perbedaan. Pada perlakuan 0 ppm, puncak fase log bakteri *A. Baumannii*, *B. subtilis*, dan *P. pseudomallei* terjadi pada jam ke-8, sedangkan *B. laterosporus* pada jam ke-12. Adapun ketika ditambahkan Pb Asetat 30 ppm, puncak fase log yang terjadi pada jam ke-12 adalah *B. subtilis*, sedangkan bakteri lainnya pada jam ke-8. Menurut Pratiwi (2008), fase log (fase eksponensial) merupakan fase dimana mikroorganisme tumbuh dan membelah pada kecepatan maksimum. Sel baru terbentuk dengan laju konstan dan massa yang bertambah secara eksponensial.

Fase berikutnya setelah fase log adalah fase stasioner. Pada perlakuan 0 ppm Pb Asetat, fase stasioner bakteri *A. Baumannii*, *B. subtilis*, dan *P. pseudomallei* terjadi pada jam ke-8 sampai jam ke-12. Adapun *B. laterosporus* fase stasionernya tidak kelihatan dan diperkirakan terjadi pada jam ke 12 sampai jam ke-14. Adapun ketika ditambahkan Pb Asetat 30 ppm, bakteri yang tidak kelihatan fase stasionernya adalah *B. subtilis*, sedangkan bakteri lainnya pada jam ke-8 sampai jam ke-12. Pratiwi (2008) menyatakan, pada fase stasioner, pertumbuhan mikroorganisme cenderung berhenti dan terjadi keseimbangan antara jumlah sel yang membelah dengan jumlah sel yang mati.

Pertumbuhan masing-masing bakteri yang ditambahkan 0 ppm maupun 30 ppm Pb Asetat pada jam ke-16 sampai jam ke-24 mengalami penurunan. Penurunan tersebut memperlihatkan bahwa bakteri memasuki fase kematian. Meskipun keempat isolat tersebut menunjukkan waktu terjadinya fase kematian yang sama (jam ke-16 sampai jam ke-24), namun jumlah selnya berbeda, sehingga dapat dibedakan tingkat kepadatan sel yang menunjukkan kemampuan hidup bakteri pada fase kematian tersebut. Menurut Pratiwi (2008), pada fase kematian terjadi ketidaktersediaan nutrisi dan akumulasi produk buangan yang toksik, sehingga banyak sel yang mati.

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa pada waktu tertentu, fase pertumbuhan bakteri tidak kelihatan, termasuk di antaranya adalah fase stasioner dari isolat *B. subtilis* dan *B. laterosporus*. Hal ini berarti menunjukkan rentang perpindahan fase pertumbuhannya sempit. Meskipun demikian, bakteri masih memiliki kemampuan dalam menurunkan logam berat, karena fase stasionernya tetap ada, hanya saja pada pengamatan tidak kelihatan. Adanya fase stasioner tersebut diperkirakan pada waktu antara puncak fase log dan awal fase kematian.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah disebutkan (Lampiran 4 dan 5), dapat disimpulkan bahwa jumlah bakteri pada media yang ditambahkan Pb Asetat 30 ppm memiliki nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan 0 ppm. Hal ini dimungkinkan karena pertumbuhan bakteri terhambat oleh adanya logam berat yang ada dalam media. Secara umum efek logam terhadap sel mikroorganisme adalah dengan menghambat aktivitas enzim, misal enzim yang tersusun oleh asam amino sistein, gugus sulfhidrilnya akan tergantikan oleh ion logam Pb, sehingga

enzim tersebut kehilangan aktivitasnya (Purwoko, 2007). Keadaan tersebut mempengaruhi proses metabolisme sel yang mengakibatkan jumlah sel yang dihasilkan menurun. Adapun setelah dianalisis menggunakan uji T untuk membandingkan dua perlakuan, didapatkan hasil bahwa bakteri yang ditambahkan Pb 0 ppm dan 30 ppm berkorelasi negatif, artinya keduanya tidak saling berhubungan. Hasil tersebut diperkuat dengan nilai signifikansi yang nilainya  $>0,05$ , artinya tidak ada perbedaan pengaruh antara bakteri yang ditambahkan Pb 0 ppm dengan 30 ppm.

Perbedaan jumlah bakteri dari lumpur Lapindo pada setiap fase tersebut disebabkan karena mekanisme resistensi terhadap Pb yang berbeda pula. Mekanisme resistensi ini yang menyebabkan bakteri mampu menurunkan kadar logam berat. Adapun fase optimum penyerapan logam berat dimungkinkan pada fase stasioner. Fase stasioner merupakan suatu keadaan seimbang antara laju pertumbuhan dan laju kematian. Penyerapan logam berat paling tinggi pada fase stasioner dimungkinkan karena sel bakteri yang hidup mampu memanfaatkan logam berat pada media pertumbuhan yang digunakan untuk aktivitas metabolisme. Menurut Suhendrayatna (2001), sel bakteri yang mati mengalami proses *passive uptake* karena pada mekanisme tersebut terjadi pengikatan logam pada permukaan membran sel, sehingga penyerapan logam berat lebih tinggi dibanding pada fase eksponensial.

Kadar logam berat di lingkungan dapat berubah seiring dengan aktivitas manusia. Oleh karena itu, manusia sebagai khalifah di bumi harus menjaga, memelihara, membimbing dengan baik serta menghargai atas semua yang

dititipkan Allah pada seluruh umatnya. Allah SWT berfirman dalam al Quran surat al Baqarah (2):30.

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلٰٓئِكَةِ إِنِّي جَاعِلٌ فِي الْأَرْضِ خَلِيفَةً ۗ قَالُوا أَتَجْعَلُ فِيهَا مَن يُفْسِدُ فِيهَا وَيَسْفِكُ الدِّمَآءَ وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ ۗ قَالَ إِنِّي أَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُونَ



Artinya:

*Ingatlah ketika Tuhanmu berfirman kepada Para Malaikat: "Sesungguhnya aku hendak menjadikan seorang khalifah di muka bumi." mereka berkata: "Mengapa Engkau hendak menjadikan (khalifah) di bumi itu orang yang akan membuat kerusakan padanya dan menumpahkan darah, Padahal Kami Senantiasa bertasbih dengan memuji Engkau dan mensucikan Engkau?" Tuhan berfirman: "Sesungguhnya aku mengetahui apa yang tidak kamu ketahui" (QS.Al Baqarah:30)*

Makna khalifah pada ayat ini adalah manusia diberi tugas dan tanggung jawab untuk menggali potensi-potensi yang terdapat di bumi ini, mengelolanya, dan menggunakannya dengan baik. Contoh dari tindakan tersebut adalah dengan memanfaatkan potensi bakteri dari lumpur Lapindo sebagai agen pengendali zat pencemar, terutama Pb. Selain itu, manusia juga berkewajiban untuk senantiasa menjaga lingkungan, jangan sampai merusaknya, agar tidak menimbulkan bencana bagi manusia dan lingkungannya (Zar, 1994)

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, dapat disimpulkan bahwa spesies-spesies bakteri dari lumpur Lapindo yang berpotensi sebagai agen bioremediasi Timbal (Pb) adalah *Acinetobacter baumannii*, dengan persentase penurunan kadar Pb sebesar 77,2%, *Bacillus subtilis* sebesar 93%, *Brevibacillus laterosporus* 69,2%, dan *Pseudomonas pseudomallei* 86,13%.

#### **5.2 Saran**

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan, dapat dikemukakan beberapa saran sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan identifikasi bakteri dari lumpur Lapindo secara molekuler untuk mengkonfirmasi hasil identifikasi dengan uji biokimia.
2. Mengidentifikasi enzim yang terdapat pada masing-masing bakteri dari lumpur Lapindo.
3. Uji resistensi bakteri menggunakan kadar Pb yang lebih tinggi, sehingga dapat dipastikan bakteri tersebut benar-benar berpotensi sebagai agen bioremediasi Pb.
4. Melakukan sentrifugasi sebelum analisis kadar logam dengan AAS, sehingga dapat diketahui perbedaan kadar Pb yang terdapat pada pellet dan supernatan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adam, M.R. 2001. *Microbiology of Fermented Food*. New York: Elsevier Applied Science Publisher, Ltd.
- Adi S.E. dan Nana D.S. 2010. Pengurangan Konsentrasi Ion Pb dalam Limbah Air Elektroplating Dengan Proses Biosorpsi dan Pengadukan. *Jurnal Teknik Kimia*. Vol 5, No. 1.
- Afifah, S.N., Diana C.D., A. Ghanaim F. dan Rachmawati N. 2014. Analisis Kadar Timbal (Pb) pada Permen Berkemasan Secara Spektrofotometri Serapan Atom (Ssa) dengan Variasi Larutan Pendestruksi. *Alchemy*. Vol. 3, No. 2. Hal:125-132.
- Aiyen, 2005. *Ilmu Remediasi untuk atasi Pencemaran Tanah di Aceh dan Sumatera Utara, Peneliti Fitoremediasi Dosen pada Fakultas Pertanian Universitas Tadulako, Palu*. Diakses dari [http://www.kompas.com/kompas-cetak/0503/04/ilpeng/15928\\_21.htm](http://www.kompas.com/kompas-cetak/0503/04/ilpeng/15928_21.htm), pada tahun 2016.
- Andriani, A. N. 2001. Biodegradasi Minyak pada Air Buangan Kilang Minyak dengan Lumpur Aktif. *Jurnal Purifikasi*. Vol. 2, No. 4: 235-240.
- Arguello, J. M. 2003. Identification of Ion-Selectivity Determinants in Heavy Metal Transport PIB-Type ATPases. *J Membr Biol*. 195: 93-108.
- Arisandi P. 2006. *Menebar Bencana di Kali Porong*. Ecological Observation and Wetlands Conservation.
- Arrizal, S., Rachmadiarti, F. dan Yuliani. 2013. Identifikasi Rhizobacter pada Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) yang Terpapar Logam Berat Timbal (Pb). *Lentera Bio*. Vol. 1, No. 2, Hal: 165-169.
- Atlas R.M., and R. Bartha. 1993. *Microbiol Ecology: Fundamental and Application*. California: The Benjamin/ Cummings Publishing.
- Baldi, F., A.M. Vaughan, and G.J. Olson. 1990. Chromium (VI)- Resistant Yeast Isolated From a Sewage Treatment Plant Receiving Tanneri Wastes. *Appl. Environ. Microbiol*. 56: 913-918.
- Beveridge, T. J. & Fyfe, W. S. 1985. Metal fixation by bacterial cell walls. *Can J Earth Sci* 22, 1892–1898.

- Bridson, E.Y. 1998. *The Oxoid Manual 8th Edition*. England: Oxoid Limited Hampsire.
- Brock,TD. & Madigan,MT.,1991. *Biology of Microorganisms*. Sixth ed. Prentice-Hall International,Inc
- Brooks, G.F., Janet S.B., Stephen, A. M. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Bruins, M.R. Kapil. S. & Oehme, F.W. 2000. Microbial Resistance to Metals in The Environment. *Ekotoxicol Environ Saf*. 45: 198-207.
- Bryan, G.W. 1989. *Heavy Metal Contamination in the Sea Marine Pollution*. London: London Academic Press.
- Buchanan,RE. & Gibbons,NE. 2003. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. USA: The William & Wilkins Company Baltimore.
- Buckle, K. A., Edwards, R. A., Fleet, G. H., and Wotton, M. 1987. *Ilmu Pangan. Penerjemah Hari Purnomo dan Adiono*. Jakarta: Universitas Indonesia Press. .
- Budiharjo, A. 1996. *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pengikat Logam Berat Pb dari Sedimen Muara Sungai Banjir Kanal Timur Semarang*. Undergraduate Thesis. FMIPA Undip.
- BPLS (Badan Penanggulangan Lumpur Sidoarjo).2013. <http://www.bpls.go.id> (diakses tanggal 22 Maret 2016).
- Burrows, W., J.M. Moulder, and R.M. Lewert. 2004. *Texbook of Microbiology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Cabuk, A., Akar, T.,Tunali, S. & Tabak, O. 2006. Biosorption characteristics of Bacillus sp. ATS-2 immobilized in silica gel for removal of Pb(II). *J Hazard Mater* 136, 317–323.
- Canovas, D., Cases, I., & De Lorenzo, V. 2003. Heavy metal tolerance and metal homeostasis in *Pseudomonas putida* as revealed by complete genome analysis. *Environmental microbiology*, 5(12), 1242-1256.
- Cappuccino, J.G. & Sherman, N. 2000. *Microbiology: A Laboratory Manual*. California: The Benjamin/Cummings Publishing Company,Inc.
- Chen, J.H., Lion, L.W., Ghiorse, W.C. & Shuler, M.L. 1995. Mobilization of adsorbed cadmium and lead in aquifer material by bacterial extracellular polymers. *Water Res*. 29: 421-430

- Chihomvu P., Peter Stegmann and Michael Pillay. 2015. Characterization and Structure Prediction of Partial Length Protein Sequences of *pcoA*, *pcoR* and *chrB* Genes from Heavy Metal Resistant Bacteria from the Klip River, South Africa. *International Journal of Molecular Sciences*. Vol. 16. Hal: 7352-7374.
- Chojnacka, K. 2010. Biosorption dan Bioaccumulation, the prospect of partial application. *Environment International*. 36: 299-307
- Cowan, S.T. 2004. *Manual for the Identification of Medical Fungi*. London: Cambridge University Press.
- Crawford R.L. and Don, L.C. 1998. *Bioremediation: Principles and Applications*. Melbourne: Cambridge University Press.
- Dagdag E.A dan Sukoso. 2015. Isolation and Characterization of A3 and S3 Isolate Thermophilic Bacteria from Lapindo Sidoarjo Mud, East Java. *International Journal of ChemTech Research*. Vol.8, No.2. Hal: 541-548.
- Dahuri, R. dan Arumsyah, S. 1994. *Ekosistem Pesisir*. Makalah pada Marine and Management Training. PSL UNDANA Kupang, NTT.
- DepKes RI. 2001. Kerangka Acuan Uji Petik Kadar Timbal (Pb) pada Spesimen Darah Kelompok Masyarakat Berisiko Tinggi Pencemaran Timbal. Ditjen PPM dan PLP Departemen Kesehatan RI Jakarta.
- Dharmawibawa, I.D. 2004. *Isolasi, Identifikasi dan Uji Kemampuan Bakteri Pengurai Minyak Solar dari Perairan Pelabuhan Benoa Bali*. Bali :Universitas Udayana.
- Diponegoro, W.M. 1997. *Padi Bengawan Solo Mengandung Logam Berat*. Kompas. 1 Desember 1998. Jakarta.
- Dullah A.A.M. 2009. Kadar Logam Merkuri dan Timbal Dalam Air Laut di Sepanjang Anjungan Pantai Losari Sampai Golden Hotel Makassar Tahun 2009. *Skripsi*. Universitas Hasanuddin Makassar.
- Dwidjoseputro, D. 1989. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Surabaya: Djambatan.
- Dwipayana dan Hertto D. Ariesyady. 2009. *Identifikasi Keberagaman Bakteri pada Lumpur Hasil Pengolahan Limbah Cat dengan Teknik Konvensional*. Bandung: Fakultas Teknik Sipil dan Lingkungan Institut Teknologi Bandung.

- El-Shanshoury, and P.S. Ateya. 2014. Accumulation of some heavy metals by metal resistant avirulent *Bacillus anthracis* PS2010 isolated from Egypt. *African Journal of Microbiology Research*. Vol 8: 1266-1276.
- El-Sayed M.H. 2016. Multiple Heavy Metal and Antibiotic Resistance of *Acinetobacter baumannii* Strain HAF – 13 Isolated from Industrial Effluents. *American Journal of Microbiological Research*. Vol.4, No. 1. Hal: 26-36.
- Fardiaz, S. 2001. *Polusi Udara dan Air*. Yogyakarta: Kanisius.
- Farida, A. 2013. Jalan Panjang Penyelesaian Konflik Kasus Lumpur Lapindo. *Jurnal Ilmu Sosial dan Ilmu Politik*, Vol. 17, No. 2, Hal: 144-162.
- Feliatra. 1996. Isolasi, identifikasi dan tingkat penguraian produk minyak bumi oleh bakteri pada Perairan Selat Malaka”. *Prosiding Seminar “Bioteknologi Kelautan Indonesia I ‘98”* Jakarta 14-15 Oktober 1998: 291- 303.
- Gadd, G. M., & White, C. 1993. Microbial treatment of metal pollution a working biotechnology?. *Trends in biotechnology*, 11(8), 353-359.
- Gurave N.A., Vrishali V.K., Sneal S.D. and Mahesh D. 2015. Isolation and identification of heavy metal resistant bacteria from petroleum soil of Loni, Ahmednagar. *European Journal of Experimental Biology*. Vol. 5, No. 12. Hal: 6-11.
- Habibie, F.M., Agustin K. W., Mochamad N. 2014. Isolasi dan Identifikasi Molekuler Mikroorganisme Termofilik Penghasil Xilanase dari Lumpur Panas Lapindo. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol. 2, No. 4, Hal: 231-238.
- Hadioetomo, R.S. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek: Teknik dan. Prosedur Dasar Laboratorium*. PT Gramedia Pustaka Utama.
- Harley, J.P., dan Prescott, L.M. 2002. *Laboratory Exercises in Microbiology, Fifth Edition*. The McGraw-Hil
- Hassen, A. N. Saidi and M. Cherif, A.B. Resistance of Environmental Bacteria to Heavy Metals. *Bioresource Technology*. Vol.7, No. 15
- Herawati, N. 2007. Analisis Resiko Lingkungan Aliran Air Lumpur Lapindo ke Badan Air. *Tesis*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Holt, et al. 1994. *Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition*. USA: Williams and Wilkins Baltimore

- Huckle, J. W., Morby, A. P., Turner, J. S. & Robinson, N. J. 1993. Isolation of a prokaryotic metallothionein locus and analysis of transcriptional control by trace metal ions. *Mol Microbiol* 7, 177–187.
- Hughes, M.N. & Rolle, R.K. 1989. *Metals and Micro-organisms*, p. 277. London, UK: Chapman & Hall.
- Hussein H., Ibrahim SF, Kandeel K, Moawa H. 2004. Biosorption of heavy metals from waste water using *Pseudomonas* sp. *Electronic J. Biotechnol.*, 7(1).
- Hynninen, A. 2010. *Zinc, cadmium and lead resistance mechanisms in bacteria and their contribution to biosensing*. Academic Dissertation in Microbiology, Department of Food and Environmental Sciences, Faculty of Agriculture and Forestry, University of Helsinki.
- Jarostawiecka, A. and Zofia P.Seget. 2014. Lead Resistance in Microorganism. *Microbiology*. 160: 12-25.
- Jazairi, Abu Bakar Jabir. 2007. *Tafsir Al-Qur'an Al-Aisar*. Jakarta: Darus Sunnah Press.
- Juniawan, A., B. R., Bambang I. 2013. Karakteristik Lumpur Lapindo dan Fluktuasi Logam Berat Pb dan Cu pada Sungai Porong dan Aloo. *Sains dan Terapan Kimia*, Vol. 7, No. 1, Hal: 50-59.
- Kamika, L and Momba N.M. 2013 Assessing the resistance and bioremediation ability of selected bacterial and protozoan species to heavy metals in metal-rich industrial wastewater *BMC Microbiology*. 13:28
- Kurniasari, R.M. 2005. Pengaruh Logam Berat Terhadap Pertumbuhan Mikroorganisme Pendegradasi Minyak diesel. *Skripsi tidak diterbitkan*. Bogor: IPB
- Lay. B. W. 1994. *Analisis Mikrobiologi da Laboraorium*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Levinson, H.S., Mahler, I., Blackwelder, P. & Hood, T. 1996. Lead resistance and sensitivity in *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett* 145, 421–425.
- Levinson, H.S. and Mahler, I. 1998. Phosphatase activity and lead resistance in *Citrobacter freundii* and *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett* 161, 135–138.

- Lewaru, S. 2012. *Identifikasi Bakteri Indigenous Pereduksi Logam Berat Cr (VI) dengan Metode Molekuler di Sungai Cikijing Rancaekek, Jawa Barat*. Universitas Padjajaran.
- MacFaddin, J.F. 1980. *Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria Second Ed.* Baltimore: Williams & Wilkins.
- Mallick, N. and I.C. Rai. 1992. Removal and Assesment to Toxicity of Cu and Fe to *Anabaena doliolum* and *Chlorella vulgaris* Using Free and Immobilized Cells. *World Journal of Microbiol & Biotech.* 8: 110-114.
- Manzur, Ibnu. 2003. *Lisanul Arab*. Kairo: Darul Hadis.
- McEldowney. 1994. Effect of Cadmium and Zinc on Attachment and Detachment Interactions of *Pseudomonas fluorescens* H2 with Glass. *Appl. Environ.Microbiol.*60: 2759-2765.
- McLean R.J.C., Campbell A.M, Khu P.T. Persand A.T. Bickerton, L.E., Beauchemin, D. 1994. Repeated Use of *Bacillus subtilis* cell walls for Copper binding. *World Journal of Microbiol. & Biotech.* 10: 472-474.
- Milton R.J. Salton dan Kwang-Shin Kim, 2001. *Structur of Bacteria*. [www.bact.wisc.edu](http://www.bact.wisc.edu). Departement of Bacteriology University of Wisconsin-Madison.USA
- Mire, C. E., Tourjee, J. A., O'Brien, W. F., Ramanujachary, K. V. & Hecht, G. B. 2004. Lead precipitation by *Vibrio harveyi*: evidence for novel quorum-sensing interactions. *Appl Environ Microbiol* 70, 855–864.
- Moore, J.W. 1991. *Living in the Environment*, 7<sup>th</sup> edition. California: Wadsworth Publishing Company.
- Mubarakfuri, S. 2007. *Tafsir Ibnu Katsir*. Bogor: Pustaka Ibnu Katsir.
- Munawar, A. 2012. *Tinjauan Proses Bioremediasi Melalui Pengujian Tanah Tercemar Minyak*. Surabaya : UPN press.
- Munir, E. 2006. Pemanfaatan Mikroba dalam Bioremediasi: Suatu Teknologi Alternatif Untuk Pelestarian Lingkungan. *Pidato Pengukuhan* jabatan guru besar tetap dalam bidang mikrobiologi pada Fakultas Mateamatika dan Ilmu Pengetahuan Alam, diucapkan dihadapan rapat terbuka Universitas Sumatra Utara.

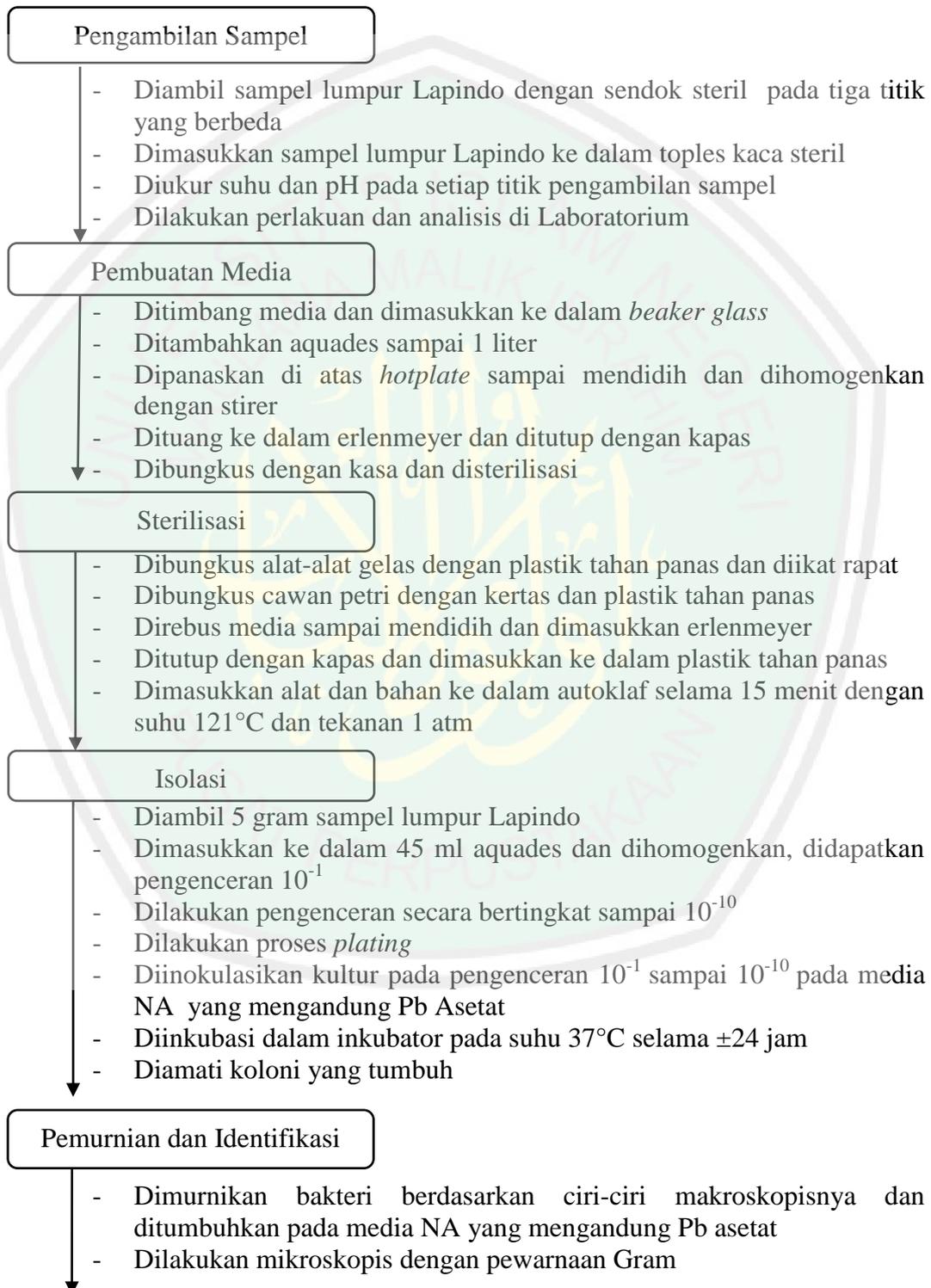
- Murthy, S., Geetha, B. & Sarangi, S. K. 2011. Effect of lead on metallothionein concentration in lead-resistant bacteria *Bacillus cereus* isolated from industrial effluent. *Afr J Biotechnol* 10, 15966–15972.
- Naik, M. M., Pandey, A. & Dubey, S. K. 2012. *Pseudomonas aeruginosa* strain WI-1 from Mandovi estuary possesses metallothionein to alleviate lead toxicity and promotes plant growth. *Ecotoxicol Environ Saf* 79, 129–133.
- Naria, E. 2005. Mewaspada Dampak Bahan Pencemar Timbal (Pb) di Lingkungan Terhadap Kesehatan. *Jurnal Komunikasi Penelitian*. Vol. 17, No. 4.
- Nath, A., Dutta, S., Chowdhury, R., Bhattacharjee, C. 2012. Micro and macro-kinetics of di-auxic microbial growth in the presence of lactose and glucose-Experimental and modeling. *World Congress on Biotechnology*. Hyderabad, India.
- Nybakken, J.W. 1992. *Biologi Laut: Suatu Pendekatan Ekologis*. Jakarta: PT. Gramedia.
- Palar, H. 2008. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Parawita, D., Insafitri., Nugraha, Wahyu, A. 2009. Analisis Konsentrasi Logam Berat Timbal (Pb) Di Muara Sungai Porong. *Jurnal Kelautan*, Vol. 2, No.2.
- Pardo R., Mar H., Enrique B., and Marisol V. 2003. Biosorption of cadmium, copper, lead and zinc by inactive biomass of *Pseudomonas Putida*. *Anal Bioana Chem*. No. 376. Hal: 26-32.
- Pelczar, M.J. dan E.C.S. Chan. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: UI Press.
- Pereira, S., Micheletti, E., Zille, A., Santos, A., Moradas-Ferreira, P., Tamagnini, P. & De Philippis, R. 2011. Using extracellular polymeric substances (EPS)-producing cyanobacteria for the bioremediation of heavy metals: do cations compete for the EPS functional groups and also accumulate inside the cell? *Microbiology* 157, 451–458.
- Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga, 137-138.
- Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Qardhawi, Y. 2002. *Islam Agama Ramah Lingkungan*. Terj. oleh Abdullah H. Shah *et al*. Jakarta: Pustaka Al-Kautsar.

- Ratna, Siri .2012. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek: Teknik dan Prosedur dasar Laboratorium*. Jakarta: PT Gramedia.
- Ridhowati, S. 2013. *Mengenal Pencemaran Ragam Logam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Riyadina, W. 1997. *Pengaruh Pencemaran Plumbum Terhadap Kesehatan*. Jakarta: MediaLitbangkes Balitbang Dep. Kes RI.
- Rochyatun, E dan Rozak, A. 2007. Pemantauan Kadar Logam Berat dalam Sedimen di Perairan Teluk Jakarta. *Makara Sains*. Vol. 11. No. 1.
- Ross, S.M. 1994. *Toxic metals in Soil-Plant Systems*. New York: Ed. Wiley.
- Santosa, D. A. 2008. *Isolat Bakteri Luapan Lumpur Lapindo dan Analisa Dampak Kesehatan*. Malang.
- Satya, A. dan Larashati, S. 2012. Kemampuan Isolat Bakteri Dari Sedimen Situ Sebagai *Aquatic Bioremoval Agent* Ion Logam Timbal (Pb). *Prosiding Seminar Nasional Limnologi IV*.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati Press.
- Soemarwoto, O. 2004. *Analisis Mengenai Dampak Lingkungan*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Subandi H.M. 2010. *Mikrobiologi Perkembangan, Kajian, dan Pengamatan Dalam Perspektif Islam*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.
- Sudarmojo, Agus Haryo. 2008. *Menyibak Rahasia Sains Bumi*. Bandung: PT. Mizan Pustaka.
- Sugiyarto, K.H., Retno, D.S. 2010. *Kimia Anorganik Logam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Suhendrayatna. 2001. Bioremoval logam berat dengan menggunakan microorganisme: suatu kajian kepustakaan. *Disampaikan pada seminar on-Air Bioteknologi untuk Indonesia Abad 21*. 1-14 Februari 2001. Sinergy Forum-PPI Tokyo Institute of Technology
- Sumardjo, D. 2009. *Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran Cetakan Pertama*. Jakarta: EGC.
- Sumardjo, D. 2009. *Pengantar Kimia : Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta*. Jakarta: EGC.

- Suriyani, Irma dan Kotijah, Siti. 2013. Kajian Islam Dalam Masalah Lingkungan Hidup Di Kota Samarinda. *Risalah Hukum Fakultas Hukum Unmul. Vol. 9. No. 1.* Kalimantan Timur. Hal: 71-78.
- Surtikanti, H.K. 2011. *Toksikologi Lingkungan dan Metode Uji Hayati.* Bandung: Rizqi Press.
- Sutedjo, M. M. 1996. *Mikrobiologi Tanah.* Jakarta: PT. Rineka Cipta.
- Thoha, H. 1991. Pencemaran Laut dan Dampaknya Terhadap Lingkungan. *Amerta VI (2) : 10-13.*
- United Nation Disaster Assessment and Coordination (UNDAC). 2006. *Environment Assessment Hot Mud Flow East Java, Indonesia,* UNEP/OCHA Environment Unit, Switzerland.
- Usman, E., S, M., Ranawijaya DAS., Hutagol, J.P. 2006. Paper Pendukung, *Simposium Nasional: Pembuangan Lumpur Porong-Sidoarjo Laut.* Surabaya.
- Vidali, M. 2001. Bioremediation. *Pure Appl. Chem.* 73: 1163-1172.
- Vijayaraghavan, K.and Yun, Y.S. 2008. Bacterial Biosorbents and Biosorption. *Biotechnology Advances.* 26: 266-291.
- Vogel, 1990. *Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro.* Jakarta: PT. Kalman Media Pustaka.
- Waluyo, L. 2005. *Mikrobiologi Lingkungan.* Malang: UMM Press.
- Wulandari, S., Dewi, N. F., Suwondo. 2005. Identifikasi Bakteri Pengikat Timbal (Pb) Pada Sedimen Di Perairan Sungai Siak. *Jurnal Biogenesis.* Vol. 1(2):62-65, 2005. ISSN : 1829-5460.
- Yani, M. dan Ratna M. K.. 2008. Pengaruh Logam Berat Terhadap Pertumbuhan Bakteri Pendegradasi Minyak Diesel. *Seminar Nasional Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia (PERMI)* Hal, 22-23.
- Zulaika, E. Arif L., Tutut A., dan Umi S. 2012. Bakteri Resisten Logam Berat yang Berpotensi sebagai Biosorben dan Bioakumulator. *Seminar Nasional Waste Management for Sustainable Urban Development. Teknik Lingkungan.* Surabaya: FTSP-Institute Teknologi Surabaya
- Zar JH. 1994. *Field and Laboratory Methods for General Ecology.* Third Editon. Dubuque, Iowa: C. Brown Publisher.

## LAMPIRAN

## Lampiran 1. Diagram Alir Metode Kerja





**Lampiran 2. Komposisi Media yang digunakan dalam penelitian (Sumber :  
Manual Oxford)**

1. Medium Nutrient Agar (NA)
  - Beef Extract 3 gram
  - Bacto Pepton 5 gram
  - Agar 15 gram
  - Aquadest 1000 ml
  
2. Medium Nutrient Broth (NB)
  - Beef Extract 3 gram
  - Bacto Pepton 5 gram
  - Aquadest 1000 ml

### Lampiran 3. Persiapan Sediaan Larutan Pb Asetat ( $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ )

#### 1. Pembuatan Larutan Stok Pb Asetat ( $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ )

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

$$\text{Larutan stok } 1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ mg/L dalam } 10 \text{ mL pelarut}$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{10 \times 10^{-3} \text{ L}}$$

$$\text{mg} = 1000 \text{ mg/L} \times 10 \cdot 10^{-3}$$

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

Jadi, cara pembuatan larutan stok 1000 ppm adalah dengan mengambil Pb Asetat ( $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ) sebanyak 10 mg, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 ml. Selanjutnya ditambahkan aquades sebagai pelarut masing-masing sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

Untuk mendapatkan volume larutan Pb Asetat ( $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ) yang harus dimasukkan ke dalam NB (pada uji resistensi dan uji reduksi) sampai mencapai volume total 40 ml, dengan menggunakan rumus:

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

$V_1$  = Volume total media dalam erlenmeyer

$V_2$  = Volume larutan Pb asetat yang akan digunakan (ml)

$M_1$  = Konsentrasi larutan Pb yang ditentukan (mg/L)

$M_2$  = Konsentrasi larutan Pb yang digunakan (1000 mg/L)

#### 2. Pembuatan Larutan Pb Asetat ( $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ) 10 ppm

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

$$40 \cdot 10 = V_2 \cdot 1000$$

$$V_2 = \frac{40 \times 10}{1000} = 0.4 \text{ ml larutan Pb}$$

**3. Pembuatan Larutan Pb Asetat ( $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ) 20 ppm**

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

$$40 \cdot 20 = V_2 \cdot 1000$$

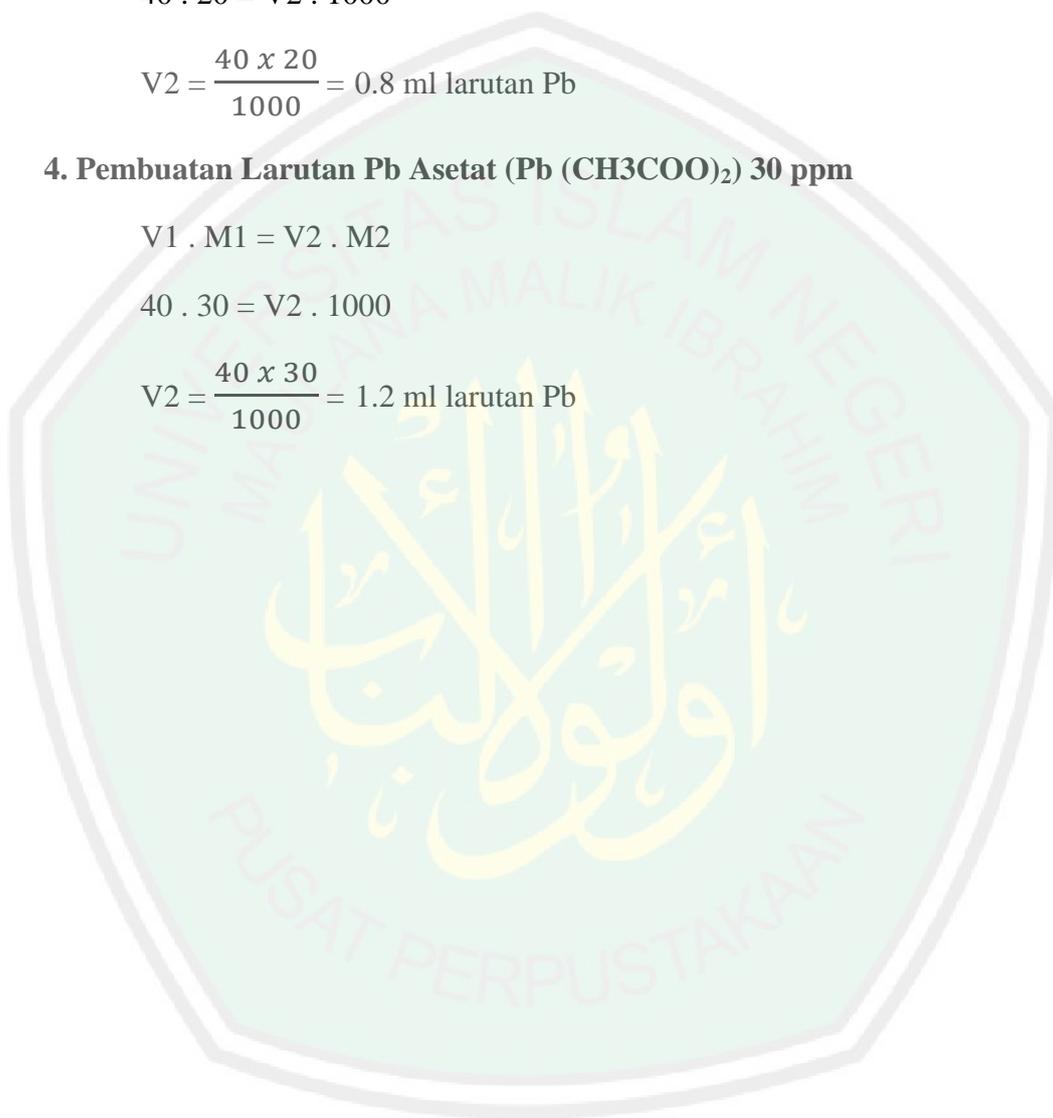
$$V_2 = \frac{40 \times 20}{1000} = 0.8 \text{ ml larutan Pb}$$

**4. Pembuatan Larutan Pb Asetat ( $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ) 30 ppm**

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

$$40 \cdot 30 = V_2 \cdot 1000$$

$$V_2 = \frac{40 \times 30}{1000} = 1.2 \text{ ml larutan Pb}$$



**Lampiran 4. Hasil Identifikasi dengan Uji Biokimia Isolat Bakteri Lumpur Lapindo**

Tabel 1

Kode Isolat : S1T1

Nama spesies : *Acinetobacter baumannii*

No.	Uji Biokimia	Hasil
1	Spora	-
2	Oksidase	+
3	Motilitas	+
4	Nitrat	+
5	Lysin	-
6	Ornithin	-
7	H <sub>2</sub> S	-
8	Glukosa	+
9	Manitol	+
10	Xylosa	-
11	ONPG	+
12	Indole	-
13	Urease	-
14	V-P	-
15	Sitrat	+
16	TDA	-
17	Gelatin	-
18	Malonat	-
19	Inositol	-
20	Rhamnosa	-
21	Sukrosa	-
22	Lactosa	-
23	Arabinosa	-
24	Adonitol	-
25	Raffinosa	-
26	Salicin	-
27	Arginin	-
28	Katalase	-
29	Koagulase	-
30	Beta hemolisa	-
31	Uji sensitive penicillin	-
32	Starch hydrolysis	-
33	Casein hydrolysis	-

**Keterangan :**

+ : hasil uji positif

- : hasil uji negatif

Td : tidak diuji

Tabel 2

Kode Isolat : S2T1

Nama spesies : *Bacillus subtilis*

No.	Uji Biokimia	Hasil
1	Spora	+
2	Oksidase	+
3	Motilitas	+
4	Nitrat	-
5	Lysin	-
6	Ornithin	-
7	H <sub>2</sub> S	-
8	Glukosa	+
9	Manitol	+
10	Xylosa	+
11	ONPG	+
12	Indole	-
13	Urease	-
14	V-P	+
15	Sitrat	-
16	TDA	-
17	Gelatin	-
18	Malonat	-
19	Inositol	-
20	Rhamnosa	-
21	Sukrosa	-
22	Lactosa	-
23	Arabinosa	+
24	Adonitol	-
25	Raffinosa	-
26	Salicin	-
27	Arginin	-
28	Katalase	+
29	Koagulase	-
30	Beta hemolisa	+
31	Uji sensitive penicillin	-
32	Starch hydrolysis	+
33	Casein hydrolysis	+

**Keterangan :**

+ : hasil uji positif  
 - : hasil uji negatif

Td : tidak diuji

Tabel 3

Kode Isolat : S3T2

Nama spesies : *Brevibacillus laterosporus*

No.	Uji Biokimia	Hasil
1	Spora	+
2	Oksidase	+
3	Motilitas	+
4	Nitrat	-
5	Lysin	-
6	Ornithin	-
7	H <sub>2</sub> S	-
8	Glukosa	-
9	Manitol	-
10	Xylosa	+
11	ONPG	+
12	Indole	-
13	Urease	+
14	V-P	+
15	Sitrat	-
16	TDA	-
17	Gelatin	-
18	Malonat	-
19	Inositol	+
20	Rhamnosa	-
21	Sukrosa	-
22	Lactosa	-
23	Arabinosa	-
24	Adonitol	-
25	Raffinosa	-
26	Salicin	-
27	Arginin	-
28	Katalase	+
29	Koagulase	-
30	Beta hemolisa	+
31	Uji sensitive penicillin	-
32	Starch hydrolysis	+
33	Casein hydrolysis	+

**Keterangan :**

+ : hasil uji positif

- : hasil uji negatif

Td : tidak diuji

Tabel 4

Kode Isolat : S4T3

Nama spesies : *Pseudomonas pseudomallei*

No.	Uji Biokimia	Hasil
1	Spora	-
2	Oksidase	+
3	Motilitas	+
4	Nitrat	-
5	Lysin	+
6	Ornithin	+
7	H <sub>2</sub> S	-
8	Glukosa	-
9	Manitol	-
10	Xylosa	+
11	ONPG	+
12	Indole	-
13	Urease	-
14	V-P	-
15	Sitrat	+
16	TDA	-
17	Gelatin	-
18	Malonat	-
19	Inositol	-
20	Rhamnosa	-
21	Sukrosa	-
22	Lactosa	-
23	Arabinosa	+
24	Adonitol	-
25	Raffinosa	-
26	Salicin	-
27	Arginin	-
28	Katalase	-
29	Koagulase	-
30	Beta hemolisa	+
31	Uji sensitive penicillin	-
32	Starch hydrolysis	-
33	Casein hydrolysis	+

**Keterangan :**

+ : hasil uji positif

- : hasil uji negatif

Td : tidak diuji

### Lampiran 5. Nilai Absorbansi (OD) pada Uji Resistensi dan Uji Penurunan Kadar Pb

Tabel 1. Hasil uji resistensi bakteri dari lumpur Lapindo terhadap Pb berdasarkan OD  $\lambda$  600 nm

Konsentrasi Pb Asetat (ppm)	Isolat	OD pada Ulangan ke-			Standar Deviasi	Rata-rata
		I	II	III		
0	S1T1	1,713	1,687	1,674	$\pm 0,019$	1,702
	S2T1	1,875	1,890	1,884	$\pm 0,007$	1,871
	S3T2	1,642	1,596	1,671	$\pm 0,037$	1,644
	S4T3	1,784	1,801	1,791	$\pm 0,008$	1,785
10	S1T1	1,138	1,129	1,137	$\pm 0,004$	1,133
	S2T1	1,552	1,536	1,570	$\pm 0,017$	1,562
	S3T2	1,027	0,995	1,014	$\pm 0,016$	1,021
	S4T3	1,257	1,302	1,296	$\pm 0,024$	1,273
20	S1T1	0,697	0,715	0,783	$\pm 0,045$	0,761
	S2T1	1,145	1,137	1,148	$\pm 0,005$	1,141
	S3T2	0,625	0,634	0,622	$\pm 0,006$	0,631
	S4T3	0,878	0,902	0,896	$\pm 0,012$	0,891
30	S1T1	0,573	0,611	0,607	$\pm 0,020$	0,564
	S2T1	1,029	1,047	1,043	$\pm 0,009$	1,043
	S3T2	0,446	0,439	0,461	$\pm 0,011$	0,442
	S4T3	0,633	0,626	0,631	$\pm 0,003$	0,627

Tabel 2. Hasil uji Penurunan Kadar Pb oleh Bakteri berdasarkan OD  $\lambda$  600 nm

Isolat	Konsentrasi Pb Asetat	Jam ke-	OD pada Ulangan ke-			Rata-rata	SD
			I	II	III		
S1T1	0 ppm (kontrol)	0	0,393	0,425	0,418	0,412	0,016
		4	1,892	1,875	1,891	1,886	0,009
		8	2,640	2,674	2,642	2,652	0,019
		12	2,733	2,693	2,716	2,714	0,020
		16	2,079	2,128	2,114	2,107	0,025
		20	1,791	1,786	1,802	1,793	0,008
		24	1,661	1,659	1,672	1,664	0,007
	30 ppm	0	0,161	0,161	0,152	0,158	0,005
		4	0,724	0,732	0,710	0,722	0,011
		8	1,925	2,084	1,976	1,995	0,081
		12	1,987	2,014	2,032	2,011	0,022
		16	0,982	0,976	1,009	0,989	0,017
		20	0,881	0,934	0,873	0,896	0,033
		24	0,590	0,528	0,517	0,545	0,039

S2T1	0 ppm (kontrol)	0	0,560	0,529	0,534	0,541	0,551
		4	1,557	1,546	1,538	1,547	0,665
		8	2,751	2,748	2,787	2,762	0,055
		12	2,850	2,855	2,872	2,859	0,298
		16	2,319	2,305	2,321	2,315	0,163
		20	2,013	2,020	2,015	2,016	0,123
		24	1,797	1,786	1,790	1,791	0,730
	30 ppm	0	0,460	0,460	0,451	0,457	0,444
		4	1,263	1,283	1,261	1,269	0,348
		8	1,934	1,896	1,885	1,905	0,282
		12	2,421	2,425	2,411	2,419	0,140
		16	2,154	2,415	2,139	2,146	0,397
		20	1,533	1,526	1,537	1,532	0,266
		24	1,038	1,055	1,042	1,045	0,008
S3T2	0 ppm (kontrol)	0	0,618	0,597	0,621	0,612	0,013
		4	1,528	1,530	1,544	1,534	0,008
		8	1,975	2,043	2,021	2,013	0,034
		12	2,561	2,551	2,595	2,569	0,023
		16	2,333	2,320	2,298	2,317	0,017
		20	1,841	1,837	1,851	1,843	0,007
		24	1,650	1,662	1,662	1,652	0,006
	30 ppm	0	0,146	0,157	0,159	0,154	0,007
		4	0,926	0,919	0,924	0,923	0,003
		8	1,472	1,482	1,513	1,489	0,021
		12	1,524	1,483	1,496	1,501	0,020
		16	1,265	1,250	1,271	1,262	0,010
		20	0,583	0,582	0,575	0,580	0,004
		24	0,392	0,411	0,388	0,397	0,012
S4T3	0 ppm (kontrol)	0	0,839	0,841	0,816	0,832	0,013
		4	0,875	0,891	0,871	0,879	0,010
		8	2,879	2,886	2,878	2,881	0,004
		12	2,951	2,949	2,968	2,956	0,010
		16	2,326	2,336	2,319	2,327	0,008
		20	1,914	1,892	1,897	1,901	0,011
		24	1,695	1,704	1,677	1,692	0,013
	30 ppm	0	0,554	0,552	0,541	0,549	0,007
		4	0,936	0,956	0,961	0,951	0,013
		8	2,311	2,313	2,324	2,316	0,007
		12	2,732	2,720	2,699	2,717	0,016
		16	1,748	1,759	1,758	1,755	0,006
		20	0,830	0,835	0,828	0,831	0,003
		24	0,601	0,581	0,594	0,592	0,010

**Lampiran 6. Hasil Perhitungan Jumlah Bakteri dengan Metode TPC pada Uji Penurunan Kadar Pb**

Isolat	Konsentrasi Pb Asetat (ppm)	Jam ke-	Jumlah Bakteri x 10 <sup>8</sup> (CFU/ml)
S1T1	0	0	1,19
		4	1,54
		8	2,32
		12	2,39
		16	1,81
		20	1,65
		24	1,21
	30	0	1,32
		4	1,57
		8	2,31
		12	2,41
		16	1,56
		20	1,31
		24	1,03
S2T1	0	0	1,34
		4	1,68
		8	2,59
		12	2,91
		16	1,96
		20	1,67
		24	1,22
	30	0	1,32
		4	1,65
		8	2,35
		12	2,71
		16	2,05
		20	1,55
		24	1,23
S3T2	0	0	1,18
		4	1,55
		8	2,11
		12	2,85
		16	2,53
		20	1,71
		24	1,20
	30	0	1,32
		4	1,75
		8	2,52
		12	2,65
		16	1,67

		20	1,47
		24	1,06
S4T3	0	0	1,32
		4	1,42
		8	2,65
		12	2,78
		16	1,66
		20	1,33
		24	1,15
		30	0
	4		2,13
	8		2,31
	12		2,61
	16		1,82
	20		1,22
	24		1,13

**Lampiran 7. Hasil Pengukuran Kadar Timbal (Pb) Lumpur Lapindo**

**BALAI PENELITIAN DAN KONSULTASI INDUSTRI**



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

**REPORT**

**Certificate of Analysis**

No : 06189/KI/W/III-2016  
Code : Penelitian  
Sample Sender : Nhs. Bio UIN Malang  
Sample Name : Gas Bio  
Test : CH<sub>4</sub>  
Sample Brand :  
Sample Identity : Gas tak berwarna  
Sample Accepted : 8 Agustus 2016

Chemical laboratory test result is :

Kode	Pb, ppm
T1	22,88
T2	25,14
T3	26,51
T4	0,56
T5	0,56



Surabaya, 12 August 2016  
Head of Chemical Laboratory Researcher

*[Signature]*  
Drs M. Fatoni, M.S.

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

**Lampiran 8. Hasil Analisis Penurunan Kadar Timbal (Pb) oleh Bakteri**

**BALAI PENELITIAN DAN KONSULTASI INDUSTRI  
LABORATORIUM**



**PENELITIAN DAN KONSULTASI INDUSTRI  
SURABAYA – JAWA TIMUR**

**REPORT**

**Certificate of Analysis**

No : 06294/KI/I-2017  
Code : Penelitian  
Sample Sender : Mhs.Bio UIN Malang  
Sample Name : Air Sungai  
Test : Pb  
Sample Brand :  
Sample Identity : Cairan keruh  
Sample Accepted :

Chemical laboratory test result is :

Kode	Pb,ppm	Kode	Pb,ppm
S1 T1 1	21,80	S3 T2 1	20,75
2	23,65	2	21,10
3	24,05	3	20,45
S2 T1 1	28,30	S4 T3 1	25,71
2	27,89	2	26,62
3	27,52	3	25,19



Surabaya, .....  
Head of Chemical Laboratory Researcher

Dr. M. Fatoni, M.S.

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

## Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian



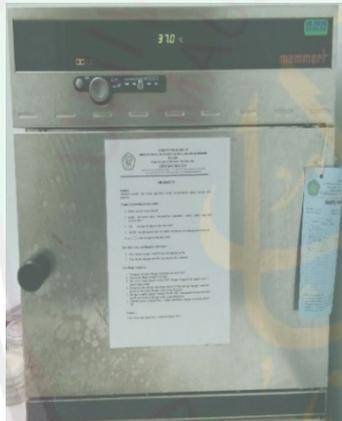
Gambar 1. LAF (*Laminar Air Flow*)



Gambar 2. *Rotary Shaker Incubator*



Gambar 3. Neraca Analitik



Gambar 4. Inkubator



Gambar 5. Hotplate



Gambar 6. Autoklaf



Gambar 7. Alat Destruk



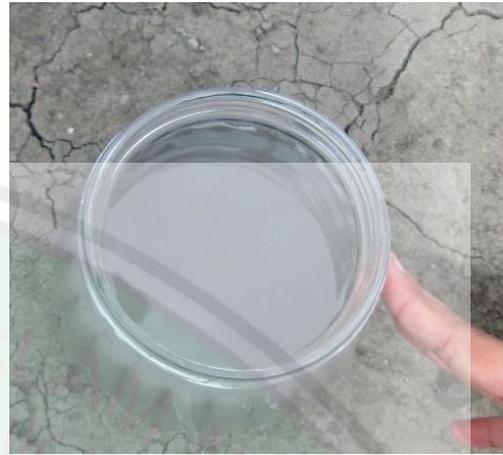
Gambar 8. Mikropipet



Gambar 9. Spektrofotometer



Gambar 10. Lokasi semburan Lumpur Lapindo



Gambar 11. Sampel Lumpur Lapindo



Gambar 12. Proses Isolasi Bakteri dengan metode pengenceran



Gambar 13. Inokulum Bakteri pada Media NB



Gambar 14. Larutan Stok Pb Asetat



Gambar 15. Hasil Pengenceran

## Lampiran 10. Hasil Analisis Statistik

### 1. Uji Korelasi (TPC dan OD)

#### a. Isolat S1T1

##### Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
od	1.46743	.834374	14
tpc	1.68714	.484902	14

##### Correlations

		od	tpc
od	Pearson Correlation	1	.805**
	Sig. (2-tailed)		.001
	N	14	14
tpc	Pearson Correlation	.805**	1
	Sig. (2-tailed)	.001	
	N	14	14

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

#### b. Isolat S2T1

##### Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
OD	1.75743	.745446	14
TPC	1.87357	.569664	14

### Correlations

		OD	TPC
OD	Pearson Correlation	1	.829**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	14	14
TPC	Pearson Correlation	.829**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	14	14

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

### c. Isolat S3T2

#### Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
OD	1.34614	.730484	14
TPC	1.82643	.600251	14

### Correlations

		OD	TPC
OD	Pearson Correlation	1	.732**
	Sig. (2-tailed)		.003
	N	14	14
TPC	Pearson Correlation	.732**	1
	Sig. (2-tailed)	.003	
	N	14	14

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

**d. Isolat S4T3****Descriptive Statistics**

	Mean	Std. Deviation	N
OD	1.65564	.881049	14
TPC	1.76357	.615350	14

**Correlations**

		OD	TPC
OD	Pearson Correlation	1	.800**
	Sig. (2-tailed)		.001
	N	14	14
TPC	Pearson Correlation	.800**	1
	Sig. (2-tailed)	.001	
	N	14	14

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

## 2. Uji T

### a. Isolat S1T1

#### Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 perlakuan	1.50	42	.506	.078
OD	1.46743	42	.814132	.125623

#### Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 perlakuan & OD	42	-.525	.000

#### Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 perlakuan - OD	.032571	1.162537	.179383	-.329701	.394844	.182	41	.857

### b. Isolat S2T1

#### Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 perlakuan	1.50	42	.506	.078
OD	1.76386	42	.731798	.112919

### Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 perlakuan & OD	42	-.293	.059

### Paired Samples Test

	Paired Differences					T	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 perlakuan - OD	-.263857	1.004388	.154981	-.576847	.049132	-1.703	41	.096

### c. Isolat S3T2

### Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 perlakuan	1.50	42	.506	.078
OD	1.34657	42	.712759	.109981

### Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 perlakuan & OD	42	-.633	.000

### Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 perlakuan - OD	.153429	1.104857	.170483	-.190869	.497726	.900	41	.373

**d. Isolat S4T3****Paired Samples Statistics**

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 perlakuan	1.50	42	.506	.078
OD	1.65564	42	.859335	.132598

**Paired Samples Correlations**

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 perlakuan & OD	42	-.316	.041

**Paired Samples Test**

	Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference					
				Lower	Upper				
Pair 1 perlakuan - OD	-.15564	1.126701	.173854	-.506748	.195462	-.895	41	.376	



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

Jl. Gajayana No. 50 Telp. (0341) 558933, Fax. (0341) 558933 Malang

**KARTU KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Nita Shilfiani Rohmah  
NIM : 12620101  
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/ Biologi  
Judul Skripsi : Isolasi dan Identifikasi Bakteri yang Berpotensi sebagai Agen Bioremediasi Timbal (Pb) dari Lumpur Lapindo  
Dosen Pembimbing Biologi : Kholifah Holil, M.Si

No	Tanggal	Perihal	Tanda Tangan
1	15 Februari 2016	Konsultasi Judul	
2	18 Februari 2016	Konsultasi Bab I dan III	
3	19 Februari 2016	Revisi Bab I dan III	
4	22 Februari 2016	Revisi Bab I	
5	29 Februari 2016	Revisi Bab I dan Konsultasi Bab II	
6	09 Maret 2016	Revisi Bab II dan III	
7	17 Mei 2016	ACC Bab I, II dan III	
8	9 November 2016	Konsultasi Bab IV	
9	15 November 2016	Revisi Bab IV	
10	28 November 2016	Revisi dan Konsultasi Bab IV	
11	01 Desember 2016	Revisi dan Konsultasi Bab IV dan V	
12	06 Desember 2016	Konsultasi Bab I, II, III, IV dan V	
13	09 Desember 2016	Revisi Bab I, II, III, IV dan V	
14	16 Desember 2016	Konsultasi Naskah Keseluruhan	
15	30 Desember 2016	ACC Naskah Keseluruhan	

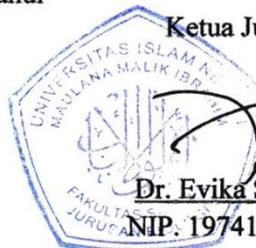
Malang, 30 Desember 2016

Mengetahui

Pembimbing Biologi

Kholifah Holil, M.Si  
NIP. 19751106 200912 2 002

Ketua Jurusan Biologi



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



**KEMENTERIAN AGAMA RI**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**  
**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**  
**JURUSAN BIOLOGI**  
Jl. Gajayana No. 50 Telp. (0341) 558933, Fax. (0341) 558933 Malang

**KARTU KONSULTASI AGAMA**

Nama : Nita Shilfiani Rohmah  
NIM : 12620101  
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/ Biologi  
Judul Skripsi : Isolasi dan Identifikasi Bakteri yang Berpotensi sebagai Agen Bioremediasi Timbal (Pb) dari Lumpur Lapindo  
Dosen Pembimbing Agama : Umaiyatus Syarifah, M.A.

No	Tanggal	Perihal	Tanda Tangan
1	22 Februari 2016	Konsultasi Bab I	
2	29 Februari 2016	Revisi Bab I	
3	09 Maret 2016	Konsultasi Bab I dan II	
4	18 Maret 2016	Revisi Bab I dan II	
5	17 Mei 2016	ACC Bab I, II, III	
6	9 November 2016	Konsultasi Bab IV	
7	15 November 2016	Konsultasi Bab IV	
8	21 Desember 2016	Konsultasi Naskah Keseluruhan	
9	30 Desember 2016	ACC Naskah Keseluruhan	

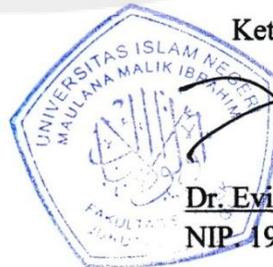
Malang, 30 Desember 2016

Mengetahui,

Pembimbing Agama

Umaiyatus Syarifah, M.A  
NIP. 19820925 200901 2 005

Ketua Jurusan Biologi



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