

UJI SENSITIVITAS BAKTERI TAHAN LOGAM BERAT PADA PERAIRAN SUNGAI DRIYOREJO GRESIK

Nurul Avidhah Elhany*, Uni Baroroh Husnudin

¹Program studi biologi, Fakultas pertanian, sains dan teknologi, Universitas Abdurachman Saleh
Situbondo.

JL.Pb. Sudirman No.7 Karangasem, Patokan, Situbondo 68312
Email: nurul_avidhah@unars.ac.id

Abstract

Heavy metal pollution is one of the problems that arise caused by large number of heavy metal contained in industrial waste. Efforts to control waste, especially heavy metals in waters must be implemented immediately, such as lead (Pb) and chromium (Cr) are toxic to humans. One way that can be done is by doing biomonitoring. Microbes can be used as bioindicators of the presence of pollutants/waste in waters. Microbes utilize organic, inorganic, and metallic wastes as substrates for their growth. The sensitivity test of Pb and Cr heavy metal-resistant microbes was carried out using the paper disc method. Paper discs with various concentrations of heavy metals Pb and Cr were placed in such a way on the surface of NA media that had been inoculated with Pb and Cr heavy metal-resistant microbial isolates. Incubated for 24 hours and measured the inhibition zone. The results showed that 3 heavy metal resistant bacteria were K1 (*Pseudomonas pseudomallei*), K2 (*Pseudomonas fluorescens*), and K3 (*Bacillus subtilis*). Overall, none of the inhibition zones exceeded 0.50 mm and this indicated that the sensitivity of the three bacteria to heavy metals Pb and Cr was low. They are can be used as bioindicators of the presence of heavy metals Pb and Cr because they are able to grow in an environment with heavy metal concentrations of Pb and Cr above the threshold. K1 (*Pseudomonas pseudomallei*), K2 (*Pseudomonas fluorescens*), and K3 (*Bacillus subtilis*) have potential as bioremoval agents for heavy metals Pb and Cr.

Key Words : Sensitivity, Bacteria, Heavy metal

Abstract

Pencemaran logam berat menjadi salah satu masalah yang timbul karena banyaknya limbah industri yang mengandung logam berat. Upaya penanggulangan limbah, khususnya logam berat di perairan perlu dilakukan dengan segera, dikarenakan logam berat, seperti timbal (Pb) dan kromium (Cr) bersifat toksik pada manusia. Salah satu cara yang dapat dilakukan adalah dengan melakukan biomonitoring. Mikroba dapat dijadikan sebagai bioindikator adanya polutan/limbah pada suatu perairan. Mikroba memanfaatkan limbah-limbah organik, anorganik, dan logam sebagai substrat untuk pertumbuhannya. Dilakukan uji sensitivitas mikroba tahan logam berat Pb dan Cr dengan metode kertas cakram. Kertas cakram dengan berbagai konsentrasi logam berat Pb dan Cr diletakkan sedemikian rupa pada permukaan media NA yang telah diinokulasi isolat mikroba tahan logam berat Pb dan Cr. Diinkubasi selama 24 jam dan dilakukan pengukuran zona hambat. Dari hasil penelitian didapatkan 3 bakteri tahan logam berat yaitu K1 (*Pseudomonas pseudomallei*), K2 (*Pseudomonas fluorescens*), dan K3 (*Bacillus subtilis*). Secara keseluruhan, zona hambat tidak ada yang melebihi 0,50 mm dan hal ini menunjukkan bahwa sensitivitas ketiga bakteri terhadap logam berat Pb dan Cr adalah rendah. Ketiganya dapat dijadikan sebagai bioindikator keberadaan logam berat Pb dan Cr karena mampu tumbuh pada lingkungan dengan konsentrasi logam berat Pb dan Cr di atas ambang batas. K1 (*Pseudomonas pseudomallei*), K2 (*Pseudomonas fluorescens*), dan K3 (*Bacillus subtilis*) memiliki potensi sebagai agen bioremoval logam berat Pb dan Cr.

Kata kunci : Sensitivitas, bakteri, logam berat

PENDAHULUAN

Pesatnya perkembangan bidang industri di Indonesia senantiasa meningkatkan penyediaan lapangan pekerjaan bagi masyarakat. Namun seiring perkembangan industri di berbagai wilayah Indonesia, tingkat pencemaran lingkungan khususnya di perairan juga semakin meningkat. Pencemaran perairan terjadi karena pembuangan limbah atau polutan industri yang di dalamnya terkandung bahan berbahaya dan beracun (B3) ke lingkungan perairan.

Upaya penanggulangan limbah, khususnya logam berat di perairan perlu dilakukan dengan segera. Hal ini dikarenakan logam berat, seperti timbal (Pb) dan kromium (Cr) bersifat toksik yang menyebabkan keracunan akut dan kronis pada manusia (Khoiroh, 2014). Salah satu upaya degradasi dapat dilakukan dengan metode secara biologi (bioremediasi). Bioremediasi adalah proses degradasi sampah/limbah menjadi suatu senyawa yang tidak berbahaya secara biologis. Namun sebelum proses bioremediasi dilakukan, perlu pengujian pendahuluan (monitoring) mengenai kualitas air di perairan tercemar limbah. Selain secara fisika dan kimia, aktivitas monitoring dapat dilakukan secara biologi (biomonitoring). Menurut Komarawidjaja dan Titiresmi (2006), biomonitoring perairan merupakan upaya memanfaatkan respon organisme perairan secara sistematis untuk mengevaluasi dan mengkaji berbagai perubahan di lingkungan perairan.

Di dalam biomonitoring, mikroba dapat dijadikan sebagai bioindikator adanya polutan/limbah pada suatu perairan. Mikroba memanfaatkan limbah-limbah organik, anorganik, dan logam sebagai substrat untuk pertumbuhannya. Pada perairan yang tercemar biasanya terjadi akumulasi jumlah mikroba pendegradasi limbah. Mikroba pendegradasi limbah ini berpotensi sebagai remediator alami dalam menurunkan konsentrasi limbah pada suatu perairan. Pada penelitian ini akan dilakukan biomonitoring pada air sungai Driyorejo, Gresik yang sudah tercemari limbah industri keramik dengan cara melakukan uji sensitivitas mikroba tahan logam berat, khususnya timbal (Pb) dan kromium (Cr).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan secara kualitatif dan eksploratif pada bulan Mei 2022. Lokasi pengambilan sampel air adalah perairan sungai yang lokasinya dekat dengan saluran pembuangan limbah pabrik keramik di Driyorejo Gresik. Ditentukan 3 titik sampling dengan jarak antar titik adalah 5 m. Pengambilan sampel air dilakukan dengan cara menyiapkan 3 botol sampling steril ukuran 350 ml, masing-masing botol diisi hingga penuh sampai tidak ada rongga udara. Kemudian diukur pH sampel air pada masing-masing botol. Masing-masing sampel di pipet sebanyak 25 ml, kemudian dicampur pada botol sampling steril dan diukur pHnya. Isolasi dan identifikasi bakteri dilakukan pada Laboratorium Mikrobiologi Universitas PGRI Adi Buana Surabaya.

Isolasi Bakteri dilakukan dengan menggunakan metode cawan tuang yang berisi media Nutrient Agar yang diperkaya Pb (NAPb) dan Nutrient Agar yang diperkaya Cr (NACr) dengan konsentrasi Pb 0,03 mg/L dan konsentrasi Cr 0,05mg/L. Isolasi Bakteri dilakukan dengan cara mengencerkan sampel air sampai pengenceran 10^{-5} . Sampel kemudian dituang sebanyak 1 ml ke dalam cawan petri yang berisi media Nutrient Agar yang diperkaya Pb (NAPb) dan Nutrient Agar yang diperkaya Cr (NACr). Kemudian diinkubasi selama \pm 1-2 hari. Hasil isolasi bakteri diidentifikasi dengan cara mengamati morfologi koloni bakteri yang tumbuh pada media tersebut, kemudian dilanjutkan dengan pewarnaan gram bakteri untuk diamati karakteristik mikroskopiknya dengan menggunakan mikroskop (Hasyimuddin, 2018). Konsentrasi (ppm) Pb dan Cr ditentukan berdasarkan nilai ambang batas baku mutu air sungai dan sejenisnya menurut peraturan pemerintah Republik Indonesia nomor 22 tahun 2021 yaitu untuk Pb adalah 0,03 mg/L dan Cr adalah 0,05 mg/L.

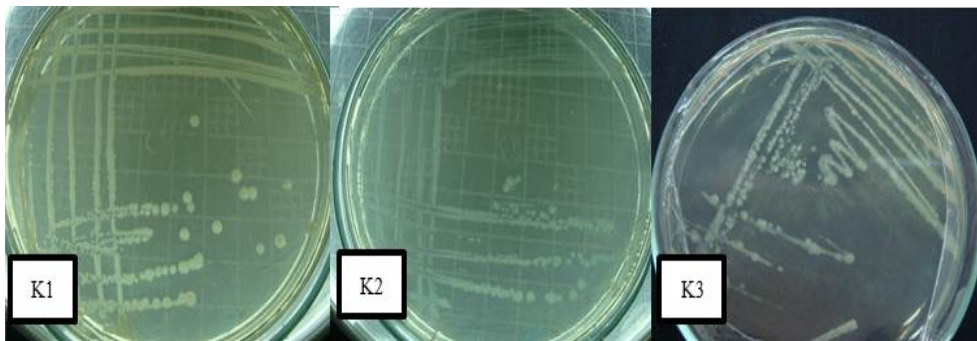
Analisis data dilakukan dengan metode deskriptif yang meliputi karakteristik mikroskopik dan makroskopik bakteri yang diisolasi dari lokasi penelitian. Kemudian dilanjutkan dengan uji sensitivitas mikroba tahan logam berat Pb dan Cr dengan metode kertas cakram. Kertas cakram dengan berbagai konsentrasi logam berat Pb dan Cr diletakkan sedemikian rupa pada permukaan media NA yang telah

diinokulasi isolat mikroba tahan logam berat Pb dan Cr dan diinkubasi selama 24 jam. Diameter zona bening dan paper disc diukur dengan menggunakan jangka sorong dan dilakukan pengukuran zona hambat dengan rumus berikut: zona hambat (mm) = diameter zona bening – diameter paper disc (Afiyatul, 2020).

HASIL DAN PEMBAHASAN

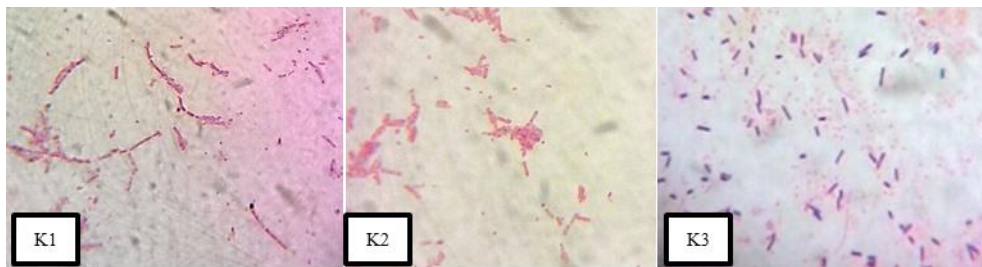
Berdasarkan hasil isolasi dan identifikasi, diperoleh adanya pertumbuhan mikroba pada media NAPb dan NACr. Adanya bakteri yang ditemukan di lingkungan yang mengandung logam berat Pb dan Cr ini menunjukkan sifat toleran bakteri terhadap toksisitas logam berat dengan konsentrasi tertentu. Adanya bakteri yang ditemukan di lingkungan yang mengandung logam berat Pb dan Cr ini menunjukkan sifat toleran bakteri terhadap toksisitas logam berat dengan konsentrasi tertentu. Menurut Spain (2003), mikroba yang hidup pada lingkungan yang tercemar logam berat mempunyai beberapa mekanisme toleransi terhadap logam berat dengan cara *efflux* metal ke luar sel, dengan reduksi logam berat, dengan kompleksasi, atau menggunakan logam berat sebagai penerima terakhir elektron pada proses respirasi anaerob. Disamping itu, nilai pH sampel air sungai adalah 7,0 dimana menurut Suriawiria (2008) bakteri membutuhkan nilai derajat keasaman atau pH sekitar 6,5 - 7,5 sebagai batasan terhadap aktivitas enzim dalam pertumbuhan bakteri. Ariono (1996) juga menjelaskan bahwa aktivitas mikroba yang mempunyai kemampuan akumulasi logam berat cenderung memerlukan suasana netral.

Dari hasil penelitian diperoleh bahwa terdapat tiga jenis koloni bakteri (Gambar 1) dimana ditemukan pada kedua media selektif. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga jenis koloni bakteri toleran terhadap logam berat Pb maupun Cr. Ketiga jenis koloni bakteri ini selanjutnya diberi kode K1, K2, dan K3.



Gambar 1. Koloni mikroba tahan logam berat Pb dan Cr hasil isolasi dari sampel air sungai tercemar limbah industri keramik.

Setelah isolasi ketiga bakteri tahan logam berat Pb dan Cr dilakukan, dilanjutkan dengan tahap identifikasi bakteri. Tahap identifikasi dilakukan dengan mengamati karakteristik makroskopik dan mikroskopik dari koloni bakteri K1, K2, dan K3. Dari hasil identifikasi, ditemukan 3 jenis bakteri yaitu K1 adalah *Pseudomonas pseudomallei*, K2 adalah *Pseudomonas fluorescens* dan K3 adalah *Bacillus subtilis*. Hasil identifikasi ditunjukkan pada gambar 2.

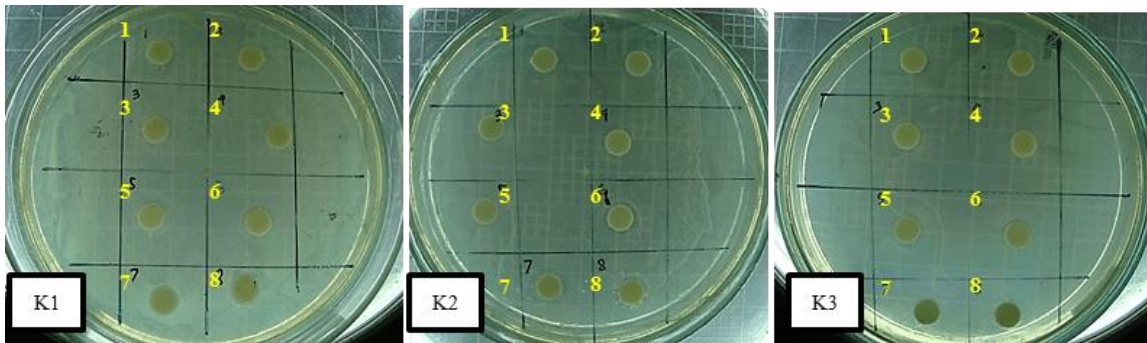


Gambar 2. Hasil pewarnaan Gram koloni mikroba tahan logam berat Pb dan Cr (perbersaran 1000x).

Setelah isolasi ketiga bakteri tahan logam berat Pb dan Cr dilakukan, dilanjutkan dengan tahap identifikasi bakteri. Tahap identifikasi dilakukan dengan mengamati karakteristik makroskopik dan mikroskopik dari koloni bakteri K1, K2, dan K3. Hasil identifikasi ditunjukkan pada Gambar 2. Berdasarkan hasil identifikasi yang telah dilakukan, koloni bakteri dengan kode K1 adalah *Pseudomonas pseudomallei* karena memiliki karakteristik batang negatif, koloni bulat, putih kusam, tepi tidak rata, permukaan datar dan licin. Menurut Khoiroh (2014), *P.pseudomallei* mampu mengadsorpsi logam berat timbal (Pb) melalui dinding selnya.

Selanjutnya koloni bakteri dengan kode K2 adalah *Pseudomonas fluorescens* karena memiliki karakteristik batang negatif, koloni bulat, kuning bening, permukaan cembung dan mengkilat, serta memiliki karakter khusus yaitu berpendar biru. Menurut Baldi *et al.* (1990) *P. fluorescens* memiliki kemampuan untuk merubah kromium tetravalen menjadi kromium trivalen dengan adanya senyawa yang mendukung proses metabolisme seperti H_2S , sistein, glutathione, asam askorbat dan sebagainya. Pada hasil identifikasi untuk koloni bakteri dengan kode K3 adalah *Bacillus subtilis* karena memiliki karakteristik batang positif, koloni bulat, putih kusam, tepi tidak rata, permukaan datar dan licin. Menurut Arinda dkk. (2012), seluruh bakteri genera *Bacillus* menunjukkan pertumbuhan pada media yang mengandung logam berat Pb dengan kisaran konsentrasi 30-50 ppm.

Uji sensitivitas dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui batas maksimal konsentrasi logam berat Pb dan Cr yang mampu menghambat pertumbuhan ketiga mikroba tahan logam berat hasil isolasi dari sampel air sungai tercemar limbah industri keramik. Pada uji sensitivitas ini dilakukan dengan mengujikan berbagai konsentrasi logam berat Pb dan Cr sebanyak 20 μ l terhadap masing-masing koloni bakteri, yaitu K1 (*Pseudomonas pseudomallei*), K2 (*P. fluorescens*), dan K3 (*Bacillus subtilis*). Hasil uji sensitivitas mikroba tahan logam berat Pb dan Cr ditunjukkan pada Gambar 2. Pada Gambar 2 terlihat adanya keberagaman hasil uji dari masing-masing konsentrasi logam berat baik Pb maupun Cr. Terbentuknya zona bening di sekitar paper disc menandakan adanya penghambatan logam berat terhadap pertumbuhan mikroba. Zona bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat (Vandepitte, 2005). Untuk mengetahui daya hambat logam berat terhadap mikroba atau tingkat sensitivitas mikroba terhadap logam berat, dilakukan penghitungan zona hambat melalui selisih antara diameter zona bening dengan diameter paper disc. Hasil penghitungan zona hambat untuk masing-masing konsentrasi logam berat Pb dan Cr ditampilkan pada Tabel 1.



Gambar 2. Hasil uji sensitivitas mikroba tahan logam berat Pb dan Cr dari sampel air sungai tercemar limbah industri keramik. (1) Pb 0,03 ppm, (2) Pb 0,3 ppm, (3) Pb 3 ppm, (4) Pb 30 ppm, (5) Cr 0,05 ppm, (6) Cr 0,5 ppm, (7) Cr 5 ppm, (8) 50 ppm.

Tabel 1. Zona hambat hasil uji sensitivitas mikroba tahan logam berat Pb dan Cr dari sampel air sungai tercemar limbah industri keramik.

Logam Berat	Konsentrasi (ppm)	Zona Hambat (mm)		
		K1	K2	K3
Pb	0,03	0,00	0,00	0,00
	0,3	0,14	0,14	0,15
	3	0,17	0,17	0,17
	30	0,09	0,14	0,43
Cr	0,05	0,00	0,00	0,15
	0,5	0,01	0,00	0,21
	5	0,01	0,09	0,32
	50	0,12	0,11	0,35

Berdasarkan Tabel 1, logam berat Pb pada konsentrasi 0,03 ppm (ambang batas) tidak menunjukkan adanya zona hambat terhadap ketiga bakteri (K1, K2, K3). Sedangkan logam berat Cr 0,05 ppm (ambang batas) juga tidak menunjukkan adanya zona hambat pada K1 dan K2, tetapi ada penghambatan pada K3 dengan zona hambat 0,15 mm yang relatif rendah. Hal ini seperti pada hasil skrining dimana ketiga bakteri tersebut mampu tumbuh pada media selektif yang mengandung logam berat Pb dan Cr dengan konsentrasi sesuai ambang batas. Pada Pb 0,3 ppm dan 3 ppm memiliki daya hambat yang relatif sama pada K1, K2, dan K3. Berbeda dengan Cr 0,5 ppm dan 5 ppm yang memiliki daya hambat kisaran 0,20 – 0,35 mm terhadap K3, tetapi terhadap K1 dan K2 daya hambat sangat kecil, yaitu kisaran 0,00 – 0,10 mm. Pada Pb 30 ppm zona hambat terhadap K1 dan K2 mengalami penurunan, tetapi terhadap K3 memiliki zona hambat 0,43 mm. Penurunan zona hambat pada K1 dan K2 diduga karena tidak meratanya penyebaran suspensi sel bakteri pada permukaan media atau tidak tepatnya proses injeksi larutan logam berat pada paper disc. Pada Cr 50 ppm terdapat peningkatan zona hambat terhadap ketiga bakteri dimana zona hambat pada K3 paling besar, yaitu 0,35 mm.

Namun secara keseluruhan, zona hambat tidak ada yang melebihi 0,50 mm dan hal ini menunjukkan bahwa sensitivitas ketiga bakteri terhadap logam berat Pb dan Cr adalah rendah. Rendahnya sensitivitas mikroba terhadap logam berat menandakan adanya penggunaan logam berat

untuk pertumbuhan mikroba. Suhendrayatna (2001) menjelaskan bahwa mikroba dapat menjadi agen bioremoval karena mampu mengadsorpsi logam timbal melalui mekanisme *passive uptake* dan *active uptake*. *Passive uptake* terjadi ketika ion logam berat terikat pada dinding sel biosorben, dimana akan terjadi pertukaran ion dinding sel dengan ion logam berat atau melalui pembentukan senyawa kompleks antara ion logam berat dengan gugus fungsional, seperti karbonil, thiol, amino, hidroksi, fosfat, dan hidroksi-karboksil secara cepat dan bolak-balik. Sedangkan *active uptake* adalah mekanisme masuknya logam berat ke dalam sel mikroba melewati membran sel melalui transpor membran karena adanya kemiripan sifat fisika-kimia antara logam berat dan logam esensial (Cossich, *et al.*, 2002).

KESIMPULAN

Logam berat Pb dan Cr memiliki daya hambat yang rendah terhadap K1 (*Pseudomonas pseudomallei*), K2 (*Pseudomonas fluorescens*), dan K3 (*Bacillus subtilis*). Ketiganya dapat dijadikan sebagai bioindikator keberadaan logam berat Pb dan Cr karena mampu tumbuh pada lingkungan dengan konsentrasi logam berat Pb dan Cr di atas ambang batas. K1 (*Pseudomonas pseudomallei*), K2 (*Pseudomonas fluorescens*), dan K3 (*Bacillus subtilis*) memiliki potensi sebagai agen bioremoval logam berat Pb dan Cr.

DAFTAR PUSTAKA

- Afiyatul dawaiyah. 2020. Identifikasi dan uji resistensi logam berat timbale (Pb) pada bakteri yang diisolai dari perairan paciran Lamongan. Skripsi program studi biologi. UIN Sunan Ampel Surabaya.
- Arinda, T., Maya S., dan Enny Z. 2012. *Heavy Metal Resistance of Bacillus*. Scientific Conference of Environmental Technology IX. Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya.
- Ariono, D. 1996. *Bioremediasi Logam Berat di Lingkungan Perairan dengan Bantuan Mikroba*. Biota. Vol. 1 (2).
- Baldi, F., AM. Vaughan, and GJ. Olson. 1990. *Chromium (IV)-Resistant Yeast Isolated from a Sewage Treatment Plant Receiving Tanneri Wastes*. Appl. Environ. Microbiol. 56: 913-918.
- Cossich, E.S., C.R.G Tavares., T.M.K.Ravagnani. 2002. *Biosorption of Chromium(III) by Sargassum sp. Biomass*. Universidad Catolica de Valparaiso. Chile, Vol. 5 (2).
- Hasyimuddin, Fatmawati nur, Indriani. 2018. Isolasi bakteri pengakumulasi logam berat timbale (Pb) pada saluran pembuangan limbah industri di Kabupaten Gowa. Biotropic Vol 2 (2).
- Khoiroh, Z. 2014. *Bioremediasi Logam Berat Timbal (Pb) dalam Lumpur Lapindo Menggunakan Campuran Bakteri (Pseudomonas pseudomallei dan Pseudomonas aeruginosa)*. Skripsi. Jurusan Biologi. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Komarawidjaja, W. dan Titiresmi. 2006. *Teknik Biomonitoring-sebagai Alternatif "Tool" Pemantauan Kualitas Lingkungan Perairan*. J.Tek.Ling Edisi Khusus: 144-147.
- Peraturan Pemerintah Republik Indonesia No. 22 Tahun 2021 tentang Penyelenggaraan Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup
- Spain, A. 2003. *Implications of Microbial Heavy Metal Tolerance in The Environment*. Reviews in Undergraduate Research 2: 1-6.
- Suhendrayatna. 2001. *Bioremoval Logam Berat dengan Menggunakan Mikroorganisme*. Kajian Kepustakaan. Institute for Science and Technology Studies (ISTECS). Japan.
- Suriawiria, U, Prof. Drs. 2008. *Mikrobiologi Air*. Edisi Kedua. Alumni. Bandung.
- Vandepitte, S. 2005. *Prosedur Laboratorium Dasar untuk Bakteriologi Klinis*. Edisi 2. Buku Kedokteran EGC, Jakarta.