

## ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI TAHAN LOGAM BERAT PADA PERAIRAN SUNGAI DRIYOREJO GRESIK

Nurul Avidhah Elhany<sup>1\*</sup>, Uni Baroroh Husnudin<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Program 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](mailto:nurul_avidhah@unars.ac.id)

### Abstract

Heavy metal pollution is one of the problems that arise because of the large number of industrial wastes containing heavy metals. Heavy metals have a negative impact on human health and also causes of ecosystem damage. One of the industrial waste content which is very dangerous when discharged into the environment in high concentrations is lead (Pb) and chromium (Cr). This study aims to determine the type of bacteria resistant to heavy metal lead (Pb) in the waters of the river Driyorejo. Bacterial isolation was carried out using a pour plate method with NA medium containing Pb and Cr, Pb concentration is 0.03 mg/L and Cr concentration is 0.05 mg/L. Three types of bacteria were found that were resistant to heavy metals Pb and Cr isolated from samples of the Driyorejo River water contaminated with industrial ceramic waste, namely K1 (*Pseudomonas pseudomallei*), K2 (*Pseudomonas fluorescens*), and K3 (*Bacillus subtilis*).

**Keywords:** bacteria, heavy metal, river

### Abstrak

Pencemaran logam berat menjadi salah satu masalah yang timbul karena banyaknya limbah industri yang mengandung logam berat. Logam berat memiliki dampak negatif bagi kesehatan manusia dan merupakan salah satu penyebab rusaknya ekosistem. Salah satu kandungan limbah industri yang sangat berbahaya bila terbuang ke lingkungan dalam konsentrasi tinggi adalah timbal (Pb) dan kromium (Cr). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri tahan logam berat timbal (Pb) pada perairan sungai driyorejo. Isolasi Bakteri dilakukan dengan menggunakan metode *pour plate* 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. Hasil isolasi bakteri kemudian dikarakterisasi dengan cara mengamati morfologi koloni bakteri yang tumbuh pada media NA kemudian dilanjutkan dengan uji pewarnaan gram dan diamati karakteristik mikroskopiknya dengan menggunakan mikroskop. Ditemukan 3 jenis bakteri tahan logam berat Pb dan Cr hasil isolasi dari sampel air Sungai Driyorejo yang tercemar limbah industri keramik, diduga adalah K1 (*Pseudomonas pseudomallei*), K2 (*Pseudomonas fluorescens*), dan K3 (*Bacillus subtilis*).

**Kata Kunci:** bakteri, logam berat, sungai

### PENDAHULUAN

Indonesia adalah salah satu negara dengan perkembangan penduduk yang cukup tinggi. Sebagai bentuk usaha peningkatan kesejahteraan masyarakat, sejak tahun 1990-an banyak didirikan industri baik skala besar maupun kecil. Pesatnya perkembangan di bidang industri tersebut 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 seperti sungai, danau, dan laut.

Timbal (Pb) dan kromium (Cr) merupakan salah satu kandungan limbah industri yang sangat berbahaya, terutama apabila terbuang ke lingkungan perairan dalam konsentrasi tinggi. Timbal (Pb) dan kromium (Cr) dapat masuk ke dalam tubuh manusia melalui rantai makanan akuatik atau melalui air minum yang di konsumsi (Rajeshkumar, 2018). Pelepasan kromium terbesar ke lingkungan berasal dari industri. Industri yang memiliki kontribusi terbesar dalam pelepasan kromium ke lingkungan antara lain industri yang mengolah logam, industri yang memproduksi kromat, industri pengelasan stainless steel, dan industri yang memproduksi pigmen ferrokrom (ATSDR, 2019).

Beberapa bakteri mampu melakukan pengikatan logam berat, salah satunya, yaitu *Pseudomonas* sp., yang memiliki kemampuan resistan pada logam berat timbal (Pb), Kromium (Cr), besi (Fe), dan kadmium (Cd). Bakteri ini mampu menurunkan sifat toksik logam-logam tersebut melalui pengikatan pada membran sel. Selain itu, bakteri ini memproduksi hasil metabolit seperti asam-asam organik dan produk metabolit lain, seperti ligan dan H<sub>2</sub>S, yang berperan dalam menyisihkan ion-ion logam berat sehingga tidak heran jika bakteri *Pseudomonas* sp. sering digunakan dalam bioremediasi ion logam berat di lingkungan (Wulandari *et al.*, 2005 dalam Chellaiah, 2018).

Peraturan pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air yang terdapat dalam PP RI No. 82 Tahun 2001 menyebutkan bahwa kualitas air yang akan digunakan sebagai peruntukan air minum, sarana rekreasi dan untuk pembudidayaan ikan tawar tidak mengandung logam Pb dan Cr melebihi 0,03 mg/L dan 0,05 mg/L. Sedangkan air yang digunakan sebagai peruntukan mengairi tanaman tidak mengandung logam Pb dan Cr dengan konsentrasi lebih dari 1 mg/L. Sungai driyorejo merupakan aliran sungai brantas dimana sungai ini adalah sungai kedua terpanjang di Pulau Jawa, setelah Bengawan Solo. Sungai ini berperan besar dalam pertumbuhan kehidupan dan kebudayaan masyarakat di Pulau Jawa, sehingga perlu diketahui kualitas pencemaran di lingkungan sungai brantas yang ada di kawasan driyorejo. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri tahan logam berat timbal (Pb) dan kromium (Cr) pada perairan sungai driyorejo yang terpapar limbah industri keramik.

## **METODE PENELITIAN**

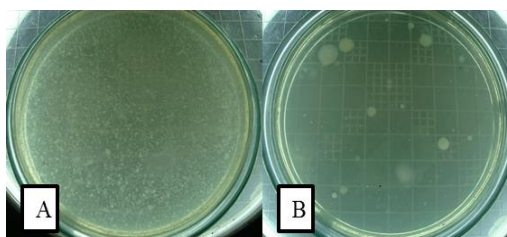
Penelitian ini dilakukan secara kualitatif dan eksploratif pada bulan Mei 2022. Lokasi pengambilan sampel air adalah perairan sungai yang lokasinya dekat dengan saluran

pembuangan limbah pabrik keramik di Driyorejo Gresik. Ditentukan 3 titik sampling dengan jarak antar titik adalah 5 m. Isolasi dan identifikasi bakteri dilakukan pada Laboratorium Mikrobiologi Universitas PGRI Adi Buana Surabaya.

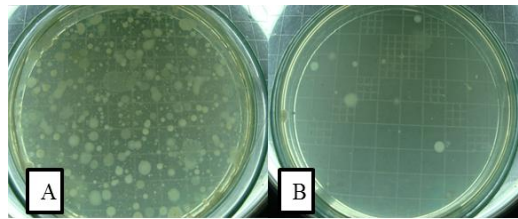
Isolasi Bakteri dilakukan dengan menggunakan metode cawan tuang yang berisi media Nutrient Agar yang diperkaya Pb (NAPb) dan Nutrient Agar yang diperkaya Cr (NACr) dengan konsentrasi Pb 0,03 mg/L dan konsentrasi Cr 0,05mg/L. Isolasi Bakteri dilakukan dengan cara mengencerkan sampel air sampai pengenceran  $10^{-5}$ . Sampel kemudian dituang menggunakan metode *pour plate* 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 kemudian dikarakterisasi dengan cara mengamati morfologi koloni bakteri yang tumbuh pada media NA kemudian dilanjutkan dengan uji pewarnaan gram dan diamati karakteristik mikroskopiknya dengan menggunakan mikroskop. Karakterisasi bakteri dilakukan dengan berpegang pada Bergey's Manual of Determinative Bacteria dan Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria (3rd Ed) (Barrow & R.K.A, 1993).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Keberadaan mikroba tahan logam berat Pb dan Cr dapat diketahui dengan melakukan skrining mikroba tahan logam berat, dengan menginokulasikan sampel air sungai tercemar limbah industri keramik ke dalam media selektif, yaitu media *Nutrient agar* yang diperkaya Pb (NAPb) dan media *Nutrient Agar* yang diperkaya Cr (NACr) dimana logam berat yang ditambahkan adalah nilai maksimal ambang batas logam berat pada air bersih. Berdasarkan hasil skrining, diperoleh adanya pertumbuhan mikroba pada media NAPb dan NACr seperti pada Gambar 1 dan Gambar 2. Karakterisasi secara makroskopis menunjukkan bahwa mikroba yang tumbuh pada kedua media tersebut termasuk dalam kelompok bakteri.



**Gambar 1.** Hasil skrining mikroba tahan logam berat Pb pada media NAPb pada pengenceran  $10^{-1}$ (A) dan pengenceran  $10^{-5}$ (B)



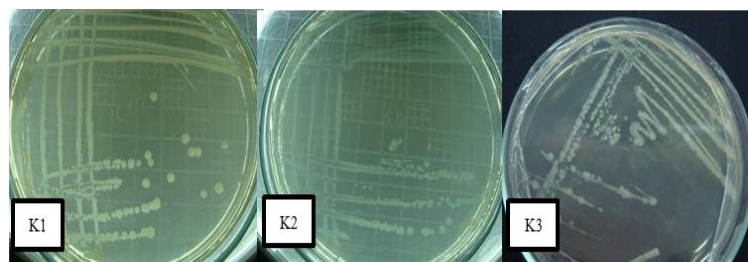
**Gambar 2.** Hasil skrining mikroba tahan logam berat Cr pada media NACr pada pengenceran  $10^{-1}$ (A) dan pengenceran  $10^{-5}$ (B)

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 (Tabel 1) 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.

**Tabel 1.** Hasil pengukuran pH sampel air sungai tercemar limbah industri keramik

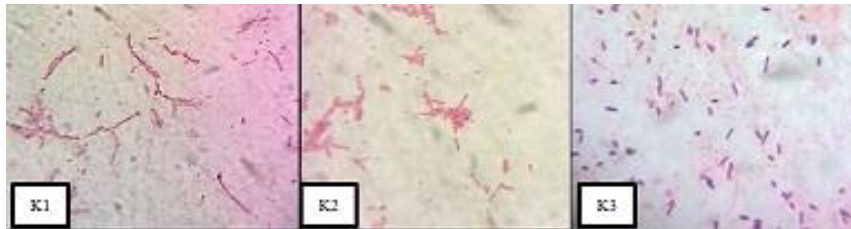
Sampel	pH
Lokasi sampling 1	7,0
Lokasi sampling 2	7,0
Lokasi sampling 3	7,0
Campuran lokasi sampling 1-2-3 @ 25 ml	7,0

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat tiga jenis koloni bakteri (Gambar 3) 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 3.** Koloni mikroba tahan logam berat Pb dan Cr hasil isolasi dari sampel air sungai tercemar limbah industri keramik

Tahap karakterisasi dilakukan dengan mengamati karakteristik makroskopik dan mikroskopik dari koloni bakteri K1, K2, dan K3. Hasil karakterisasi ditunjukkan pada Gambar 4 dan Tabel 2. Berdasarkan hasil identifikasi yang telah dilakukan, koloni bakteri dengan kode K1 diduga 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.



**Gambar 4.** Hasil pewarnaan Gram koloni mikroba tahan logam berat Pb dan Cr (perbersaran 10x100)

Koloni bakteri dengan kode K2 diduga 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<sub>2</sub>S, sistein, glutathione, asam askorbat dan sebagainya. Pada hasil karakterisasi untuk koloni bakteri dengan kode K3 diduga 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.

**Tabel 2.** Hasil identifikasi koloni mikroba tahan logam berat Pb dan Cr dari sampel air sungai tercemar limbah industri keramik

Karakteristik	K1	K2	K3
Gram	Negatif	Negatif	Positif
Bentuk sel	Batang	Batang	Batang
Warna koloni	Putih kusam	Kuning bening dan berpendar biru	Putih kusam
Tepi koloni	Tidak rata	Tidak rata	Tidak rata
Bentuk koloni	Bulat	Bulat	Bulat
Permukaan koloni	Licin	Mengkilap	Licin
Elevasi koloni	Datar	Cembung	Datar
Dugaan genus	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Bacillus</i>
Dugaan spesies	<i>P. pseudomallei</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>B. subtilis</i>

## KESIMPULAN

Sampel air Sungai Driyorejo yang tercemar limbah industri keramik mengandung tiga jenis bakteri tahan logam berat timbal dan kromium. Bakteri tahan logam berat timbale dan kromium hasil isolasi dari sampel air Sungai Driyorejo yang tercemar limbah industri keramik diduga adalah K1 (*Pseudomonas pseudomallei*), K2 (*Pseudomonas fluorescens*), dan K3(*Bacillus subtilis*).

## REFERENSI

- Arinda, T., Maya S., & 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*, 1(2).
- Agency For Toxic Substances And Disease Registry (ATSDR). (2019). *Toxicological Profile For Chlorine*. Atlanta. Ga: U.S. Department Of Health And Human Services. Public Health Service.
- Barrow, G. I. & Feltham, R. K. A. (1993). *Cowan and Steel's Manual for The Identification of Medical Bacteria*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Chellaiah, E.R. (2018) Cadmium (Heavy Metals) Bioremediation by *Pseudomonas aeruginosa*: A Minireview. *Applied Water Science*, 8(154), 1-10.
- Ghasemidehkordi, B., Malekirad, A. A., & Nazem, H. (2018). Concentration of Lead And Mercury In Collected Vegetables and Herbs From Marzaki Province, Iran: A Non-Carcinogenic Risk Assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 113, 204-210.
- Khoiroh, Z. (2014). *Bioremediasi Logam Berat Timbal (Pb) dalam Lumpur Lapindo Menggunakan Campuran Bakteri (Pseudomonas pesudomallei dan Pseudomonas aeruginosa)*. Skripsi. Jurusan Biologi. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Rajeshkumar, Sivakumar., Li, Xiaoyu. (2018). *Bioaccumulation of heavy metals in fish species from Meiliang Bay, Taihu Lake, China*. Henan Norman University. China.
- Spain, A. (2003). *Implications of Microbial Heavy Metal Tolerance in The Environment*. Reviews in Undergraduate Research 2, 1-6.
- Suriawiria, U. (2008). *Mikrobiologi Air*. Edisi Kedua. Alumni. Bandung.
- Wulandari, S., Dewi, N.F. & Suwondo. (2005) Identifikasi Bakteri Pengikat Timbal (Pb) Pada Sedimen Di Perairan Sungai Siak. *Jurnal Biogenesis*, 1(2), 62-65.