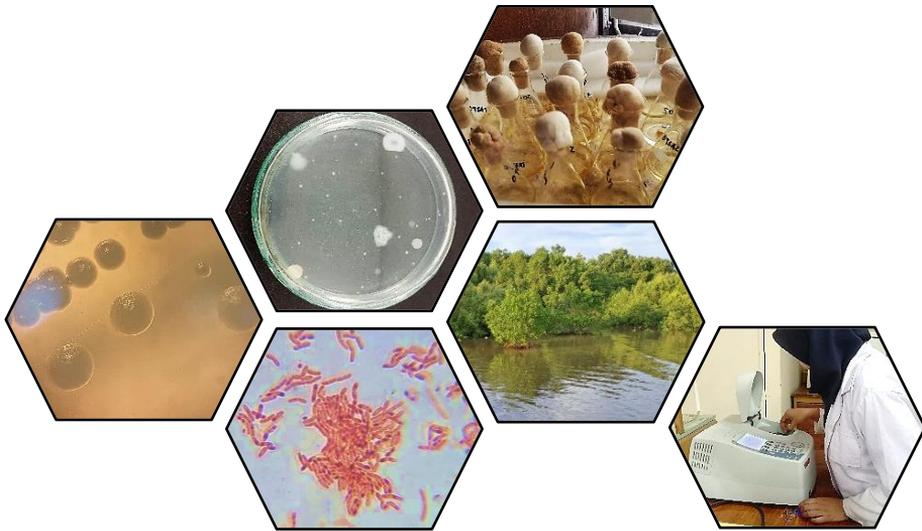


# ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENGAKUMULASI LOGAM BERAT TIMBAL (Pb) DARI SEDIMEN MANGROVE



**SITI ROFIQOH ATHIYYAH**  
**H041201078**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS HASANUDDIN**  
**MAKASSAR**  
**2024**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENGAKUMULASI LOGAM  
BERAT TIMBAL (Pb) DARI SEDIMEN MANGROVE**

**SITI ROFIQOH ATHIYYAH  
H041201078**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENGAKUMULASI LOGAM  
BERAT TIMBAL (Pb) DARI SEDIMEN MANGROVE**

SITI ROFIQOH ATHIYYAH

H041201078

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Biologi

pada

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
DEPARTEMEN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

SKRIPSI

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENGAKUMULASI LOGAM BERAT TIMBAL (Pb) DARI SEDIMEN MANGROVE

SITI ROFIQOH ATHIYYAH  
H041201078

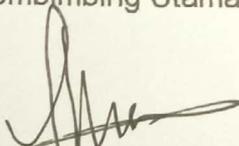
Skripsi,

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Sarjana Biologi pada tanggal  
12 November 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan  
Pada

Program Studi Biologi  
Departemen Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Hasanuddin

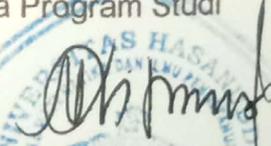
Mengesahkan,

Pembimbing Utama

  
Prof. Dr. Fahrudin, M.Si  
NIP. 196509151991031002

Mengetahui,

Ketua Program Studi

  
Dr. Magdalena Litaay, M.Sc.  
NIP. 19640929 198903 2 002

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Isolasi dan karakterisasi Bakteri Pengakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) Dari Sedimen Mangrove" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing Prof. Dr. Fahrudin, M.Si sebagai pembimbing utama. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 3 Oktober 2024



Siti Rofiqoh Athiyah  
H041201078

## UCAPAN TERIMA KASIH

*Bismillahirrahmanirrahim*

Puji syukur Penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat, hidayah, dan karunia-Nya, sehingga penulis diberikan kekuatan, kesehatan, serta kesabaran dalam menyelesaikan skripsi dengan judul **“Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pengakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) dari Sedimen Mangrove”** sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana Sains di Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. penulis menyadari bahwa tanpa kehendak-Nya, segala usaha dan upaya yang dilakukan tidak akan mencapai hasil yang diharapkan. Oleh karena itu, rasa syukur yang mendalam penulis sampaikan, karena dengan segala kemudahan yang diberikan oleh Allah SWT, penulis dapat menyelesaikan proses panjang penyusunan skripsi ini. Shalawat serta salam tak lupa pula turunkan kepada Rasulullah Muhammad Shallahu ‘alaihi wa Sallam selaku suri teladan yang telah menunjukkan jalan dari kegelapan menuju jalan yang terang benderang.

Skripsi ini merupakan salah satu tahapan penting dalam menyelesaikan studi penulis di Universitas Hasanuddin, pada program studi Biologi, dan menjadi wujud nyata dari usaha, pengorbanan, serta pembelajaran yang penulis tempuh selama beberapa tahun terakhir. Tentunya, penyelesaian skripsi ini bukan hanya hasil dari kerja keras pribadi, tetapi juga berkat bantuan, dukungan, serta doa dari berbagai pihak yang telah dengan tulus memberikan kontribusi baik secara langsung maupun tidak langsung dalam proses penyelesaian skripsi ini. Tanpa dukungan mereka, penulis tidak akan mampu menyelesaikan tugas akademik ini dengan baik. Ucapan terima kasih yang setulusnya kepada keluarga besar, terkhusus pada kedua orang tua yang telah membesarkan dan mendidik penulis, Ayahanda Muhammad Iqbal dan Ibunda Muna S.pdi. Terima kasih telah senantiasa menemani, mendoakan dan selalu percaya kepada penulis di setiap langkah yang penulis ambil serta saudara penulis, Muhammad Irgy Al-Ghifary dan Muhammad Fatih Dzakwan, terima kasih ada dukungan dan doa yang selalu diberikan kepada penulis.

Penulis juga mengucapkan terima kasih banyak kepada Bapak Prof. Dr. Fahrudin M. Si. selaku pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu serta memberikan arahan dan motivasi berupa kritik dan sarannya selama proses penelitian hingga penyusunan skripsi ini. Penulis juga ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebanyak-banyaknya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Si., selaku Rektor Universitas Hasanuddin beserta staf dan jajarannya.
2. Bapak Dr. Eng Amiruddin, M.Sc. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin beserta seluruh staf yang telah membantu dalam hal akademik dan administrasi.
3. Ibu Dr. Magdalena Litaay, M.Sc selaku Ketua Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Penulis mengucapkan terima kasih atas ilmu, masukan, serta dukungan.

4. Ibu Prof. Dr. Hj. Dirayah Rauf Husain, DEA. selaku Penasehat Akademik (PA) sekaligus dosen penguji, terima kasih atas arahan, dukungan, dan motivasi, diberikan kepada penulis dari awal studi hingga penyusunan skripsi ini.
5. Ibu Dr. Juhriah, M.Si. selaku dosen penguji, terima kasih atas arahan dan bimbingannya baik berupa saran maupun kritik yang diberikan kepada penulis demi kesempurnaan skripsi ini.
6. Bapak/Ibu Dosen Departemen Biologi terima kasih atas ilmu serta bimbingan yang diberikan kepada penulis dari awal perkuliahan hingga penyelesaian skripsi ini.
7. Kak Fuad Gani S.Si selaku Laboran Laboratorium Mikrobiologi terima kasih atas bimbingan dan ilmunya selama proses perkuliahan, penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
8. Teman-teman Biologi Angkatan 2020, terima kasih telah menjadi teman yang sellau mendoakan dan saling mendukung serta memberamai penulis selama proses perkuliahan, tekhusus kepada Anisa Iriani, Ainun Saputri, Annisa, Siti Aulia Adila, Corezy Filadelfi Amba Salu, dan Intan Ramadhani, yang telah menemani, mendukung dan membantu penulis selama penelitian hingga penyusunan skripsi,
9. Teman-teman asisten laboratorium mikrobiologi sarwan, Doni, Ahmad Nurfakry Salim, Irsyad, dan Taswin Wijaya yang telah banyak membantu penulis selama proses penelitian di Laboratorium Mikrobiologi.
10. Teman seperjuangan selama penelitian, Mutmainnah dan Fatimah Az-Zahrah, terima kasih telah saling membantu dan menjadi teman diskusi selama proses penelitian hingga penyusunan skripsi.
11. Seluruh pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan yang tidak dapat Penulis sebutkan satu persatu.

Akhir kata penulis mengucapkan permohonan maaf atas kesalahan dalam penyusunan skripsi ini, penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam skripsi ini, baik dari segi penulisan maupun substansi. Oleh arena itu, penulis menerima segala kritikan dan saran yang membangun untuk penyempurnaan di masa mendatang. Penulis berharap dapat menjadi sumbangsih bagi perkembangan ilmu pengetahuan serta bermanfaat bagi pihak-pihak yang membutuhkan.

Makassar, 3 Oktober 2024

Siti Rofiqoh Athiyyah

## ABSTRAK

SITI ROFIQOH ATHIYYAH. **Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Pengakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) Dari Sedimen Mangrove** (Dibimbing oleh Fahrudin).

**Latar belakang.** Timbal menjadi salah satu logam berat yang mencemari lingkungan serta berdampak buruk bagi Kesehatan. Salah satu cara penanggulangan yaitu dengan cara biologi, menggunakan mikroorganisme yang mampu melakukan bioakumulasi timbal (Pb). Mangrove merupakan salah satu lokasi pencemaran logam berat yang kebanyakan berasal dari limbah rumah tangga, sehingga pada sedimennya berpotensi mengandung bakteri yang dapat mengakumulasi logam berat timbal (Pb). **Tujuan.** Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan isolat bakteri sedimen mangrove yang mampu mengakumulasi logam berat timbal dan mengetahui karakteristik bakteri yang mampu mengakumulasi logam berat timbal (Pb). **Metode.** Sampel yang telah diisolasi dari sedimen mangrove diuji resistensinya terhadap logam berat timbal, kemudian diuji kemampuan akumulasinya serta dilakukan uji biokimia untuk mengetahui karakteristik bakteri tersebut. **Hasil.** Hasil yang diperoleh yaitu 6 isolat yang didapatkan dari 3 titik sampling merupakan bakteri yang mampu mengakumulasi logam berat timbal yang berbentuk circular, elevasi convex/flat/pulvinate, tepian entire/undulate, berwarna putih, ada yang termasuk bakteri gram negatif basil, dan bakteri gram positif basil. **Kesimpulan.** Setelah dilakukan uji kemampuan akumulasi timbal (Pb) dan Karakterisasi, didapatkan hasil bahwa semua isolat bakteri merupakan bakteri yang mampu mengakumulasi logam berat timbal (Pb).

**Kata Kunci:** Timbal (Pb), Bioakumulasi, Mangrove, Pencemaran, Isolasi, Karakterisasi,

## ABSTRACT

SITI ROFIQOH ATHIYYAH. **Isolation and Characterization of Lead (Pb) Heavy Metal Accumulating Bacteria from Mangrove Sediment** (Supervised by Fahrudin).

**Background.** Lead has become one of the heavy metals that contaminates the environment and has adverse effects on health. One method of addressing this issue is through biological means, utilizing microorganisms capable of bioaccumulating lead (Pb). Mangroves are one of the locations of heavy metal contamination, primarily originating from household waste, making their sediments potentially contain bacteria that can accumulate lead (Pb). **Objective.** This research was conducted to obtain bacterial isolates from mangrove sediment that can accumulate heavy metal lead and to determine the characteristics of the bacteria capable of accumulating lead (Pb). **Methods.** Samples isolated from mangrove sediment were tested for their resistance to lead heavy metal, followed by testing their accumulation capacity, and biochemical tests were conducted to determine the characteristics of the bacteria. **Results.** The results obtained include six isolates collected from three sampling points, which are bacteria capable of accumulating heavy metal lead, characterized by circular shape, convex/flat/pulvinate elevation, entire/undulate margins, white color, including gram-negative bacilli and gram-positive bacilli. **Conclusion.** After conducting tests for lead (Pb) accumulation capability and characterization, it was found that all bacterial isolates are capable of accumulating heavy metal lead (Pb).

**Keywords:** Lead (Pb), Bioaccumulation, Mangrove, Pollution, Isolation, Characterization.

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PENGANTAR.....	iii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI .....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang .....	1
1.2 Dasar Teori .....	2
1.2.1 Logam Berat Timbal (Pb).....	2
1.2.2 Bakteri pengakumulasi logam berat.....	4
1.3 Tujuan .....	4
1.4 Manfaat penelitian .....	4
BAB II METODE PENELITIAN.....	5
2.1 Tempat dan Waktu.....	5
2.2 Alat dan Bahan .....	5
2.2.1 Alat.....	5
2.2.2 Bahan .....	5
2.3 Metode Kerja.....	5
2.3.1 Pengambilan sampel .....	5
2.3.2 Sterilisasi alat dan media .....	6
2.3.3 Isolasi bakteri.....	6
2.3.4 Pemurnian isolat bakteri .....	6
2.3.5 Pembuatan kultur bakteri .....	7
2.3.6 Karakterisasi Bakteri .....	7
2.3.7 Uji Biokimia .....	7
2.3.8 Uji resistensi bakteri terhadap timbal (Pb) .....	8

2.3.9 Uji kemampuan akumulasi timbal (Pb) oleh bakteri .....	8
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN .....	10
3.1 Isolasi Bakteri.....	10
3.2 Pemurnian Isolat Bakteri.....	11
3.3 Resistensi Bakteri Terhadap Timbal (Pb) .....	12
3.4 Uji Kemampuan Akumulasi Timbal Oleh Bakteri.....	14
3.5 Pengamatan morfologi koloni dan morfologi sel Bakteri .....	15
Pengamatan Morfologi Sel.....	16
3.6 Uji Biokimia .....	17
3.6.1 Uji <i>Triple Sugar Iron Agar</i> (TSIA) .....	17
3.6.2 Uji <i>Sulfid Indol Motility</i> (SIM) .....	18
3.6.3 Uji <i>Simmons Citrate Agar</i> (SCA) .....	20
3.6.4 Uji <i>Methyl Red</i> (MR).....	20
3.6.5 Uji <i>Voges-Proskauer</i> (VP).....	21
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN .....	23
4.1 Kesimpulan .....	23
4.2 Saran .....	23
DAFTAR PUSTAKA.....	24
LAMPIRAN .....	28

**DAFTAR TABEL**

<b>Nomor Urut</b>	<b>Halaman</b>
1. Perhitungan Total Plate Count .....	10
2. Nilai OD isolat TS11, TS12, TS13, TS31, TS32 dan TS34 .....	12
3. Hasil Pengamatan Morfologi Koloni dan Sel Isolat Bakteri.....	15

**DAFTAR GAMBAR**

<b>Nomor Urut</b>	<b>Halaman</b>
1. Lokasi titik pengambilan sampel sedimen mangrove di Untia, Kota Makassar .....	5
2. Hasil Isolasi bakteri.....	10
3. Hasil pemurnian isolat bakteri .....	12
4. Pertumbuhan bakteri dalam media NB dengan konsentrasi 10 ppm, 30 ppm, 50 ppm, dan 0 ppm sebagai kontrol .....	13
5. Pengukuran sisa kadar timbal pada isolat TS34 .....	14
6. Hasil Pengamatan morfologi koloni pada perbesaran 3x10.....	16
7. Hasil pengamatan morfologi secara makroskopis.....	16
8. Hasil pengamatan uji Triple Sugar Iron Agar (TSIA) .....	17
9. Hasil pengamatan uji motilitas bakteri .....	18
10. Hasil pengamatan uji indol dan kemampuan mengurai sulfur .....	19
11. Hasil pengamatan uji Simmons Citrate Agar (SCA) .....	20
12. Hasil pengamatan uji Methyl Red (MR) .....	21
13. Hasil pengamatan uji Voges-Proskauer (VP) .....	21

**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Alur Penelitian.....	28
2. Skema Kerja Pengambilan Sampel, Isolasi, dan Pemurnian Isolat.....	29
3. Skema Kerja Uji Resistensi Isolat Bakteri .....	30
4. Skema Kerja Pengukuran Sisa Kadar Timbal .....	31
5. Pengambilan Sampel.....	32
6. Isolasi Bakteri.....	32
7. Pemurnian kultur bakteri .....	33
8. Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri.....	33
9. Uji Pewarnaan Gram.....	34
10. Uji Biokimia .....	34
11. Uji Resistensi Isolat Bakteri terhadap Timbal (Pb) .....	38
12. Uji Sisa Kadar Timbal dalam media .....	39

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar belakang

Pencemaran lingkungan telah menjadi isu global yang semakin mendesak, hal ini disebabkan salah satunya oleh aktivitas manusia yang seringkali berdampak negatif terhadap lingkungan hidup baik secara langsung maupun tidak langsung. Hasil aktifitas manusia menjadi limbah yang mengandung berbagai zat yang dapat membahayakan lingkungan dan makhluk hidup sekitarnya. Limbah–limbah ini banyak yang berakhir di lautan. Seperti pernyataan Akbar dan Aqila (2023) bahwa laut merupakan tempat yang dianggap menjadi pembuangan akhir limbah bagi masyarakat. Namun, sebelum sampai ke lautan, limbah-limbah tersebut akan melewati kawasan mangrove yang berada disekitar pesisir.

Sanadi *et al* (2018) menyatakan bahwa mangrove juga merupakan penampungan bagi limbah dari aktivitas perkotaan yang terbawa oleh aliran sungai ke muara sungai. Limbah padat dan cair yang terlarut dalam air sungai terbawa arus menuju muara sungai dan laut lepas.

Mangrove merupakan tumbuhan tingkat tinggi di kawasan pantai yang dapat menyerap bahan-bahan organik dan non-organik, membuatnya menjadi bioindikator logam berat. Sedimen mangrove dapat menyimpan sejumlah besar polutan yang tersedia secara hayati tergantung pada kondisi lingkungan. Jika dalam bentuk yang tersedia, unsur-unsur ini dapat tunduk pada penyerapan oleh biota mangrove, sehingga dapat menjadi masalah bagi kesehatan manusia (Thanh-Nho *et al.*, 2018).

Salah satu zat yang banyak terdapat dalam limbah yaitu logam berat, seperti timbal (Pb). Logam berat Pb merupakan logam berat yang paling umum ditemukan dalam limbah rumah tangga, baik melalui limbah domestik langsung maupun melalui air limbah domestik yang masuk ke dalam sistem perairan. WHO menyatakan bahwa timbal dapat mengontaminasi lingkungan dan tubuh manusia dari berbagai macam sumber seperti, udara, air minum yang mengalir dalam pipa yang mengandung Pb (Timbal), baterai, cat, krayon, kosmetik, tinta cetak, solder, pemberat pancing, peluru senapan angin, furniture, pernis, tanah beberapa jenis obat tradisional dan juga berbagai sumber lainnya, seperti dalam pestisida dan herbisida golongan organoposfat serta pada alat-alat dapur yang digunakan untuk memasak setiap hari (Ahmad *et al.*, 2021). Kehadiran Pb dalam lingkungan dapat menyebabkan pencemaran tanah, air, dan udara, serta mengganggu keseimbangan ekosistem secara keseluruhan.

Logam timbal adalah logam berat yang beracun dan dapat menyebabkan berbagai kerusakan pada kesehatan manusia dan lingkungan logam timbal dapat masuk ke dalam tubuh melalui respirasi, kulit, dan sistem pencernaan. (Febria *et al.*, 2023). Semakin lama terpapar, kadar timbal dalam tubuh makin meninggi. Dampak negatif dari paparan logam berat Pb bagi lingkungan dan kesehatan manusia sangat beragam. Pb dapat menumpuk dalam tanah dan air, serta masuk ke dalam rantai makanan melalui berbagai organisme, termasuk tumbuhan dan hewan. Beberapa dampak yang ditimbulkan yaitu dapat mensintesa hemoglobin, dapat mengikis otak,

kerusakan pada saluran ginjal, mengalami hambatan pada pertumbuhan sistem reproduksi, terjadinya perut kolik dan sembelit yang lebih parah, pengurangan pengeluaran steroid dan terjadinya hipotonia. Keracunan akibat senyawa logam timbal dapat terjadi karena masuknya senyawa logam timbal tersebut ke dalam tubuh (Nuradi *et al.*, 2023). Oleh karena itu, penting untuk mengidentifikasi dan mengembangkan metode yang efektif untuk mengurangi konsentrasi Pb dalam lingkungan, salah satunya melalui penggunaan bioakumulasi oleh bakteri.

Bioakumulasi adalah penumpukan atau akumulasi senyawa kimia yang terjadi dalam tubuh mikroorganisme secara aktif dengan keadaan bakteri hidup (Hakim, 2016). Bioakumulasi merupakan proses metabolisme aktif alami di mana logam berat akan terakumulasi dan diserap ke dalam sel bakteri hidup intraseluler menggunakan protein. Bioakumulasi terjadi ketika laju penyerapan kontaminan melebihi laju kehilangan (Pham *et al.*, 2022). Mikroorganisme yang mampu bertahan pada kondisi lingkungan dengan kadar logam berat menandakan bahwa mikroorganisme tersebut memiliki kemampuan detoksifikasi mikroorganisme. Tingginya paparan logam berat Timbal memaksa bakteri untuk melakukan mekanisme adaptasi terhadap keberadaan logam berat tersebut. Bakteri memiliki mekanisme yang berbeda-beda dalam toleransi dan proses bioremediasi logam berat yang ada di lingkungan. Bakteri diketahui memiliki kemampuan menghasilkan senyawa *Extracellular Polymeric Substances* (EPS) ketika berada dalam kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan, misalnya adanya paparan logam berat timbal (Firmani dan Nur, 2023).

Bakteri yang ditemukan pada sedimen mangrove merupakan bakteri yang telah teradaptasi dengan baik terhadap kehadiran logam berat dalam lingkungan. Melalui penelitian sebelumnya, telah ditemukan bahwa beberapa jenis bakteri yang diisolasi dari sedimen mangrove memiliki kemampuan untuk mengurangi konsentrasi Pb dalam lingkungan, seperti hasil penelitian Baharuddin *et al* (2022) yang menyatakan bahwa dari sedimen mangrove didapatkan spesies *Bacillus tropicus* yang mampu mengurangi konsentrasi Pb.

Oleh karena itu penelitian ini akan fokus pada isolasi dan identifikasi berbagai jenis bakteri dari sedimen mangrove, serta melihat potensinya dalam mengakumulasi timbal (Pb). Diharapkan penelitian ini akan memberikan kontribusi dalam pengelolaan limbah logam berat pada lingkungan secara biologi.

## **1.2 Dasar Teori**

### **1.2.1 Logam Berat Timbal (Pb)**

Logam berat adalah unsur kimia yang memiliki berat jenis lebih besar dari 5 gr/cm<sup>3</sup>. Dalam sistem tabel periodik, logam berat berada pada periode 4-7 dengan nomor atom 22-94. Logam berat terdiri atas logam berat esensial dan nonesensial. Logam berat esensial adalah logam berat yang diperlukan untuk proses metabolisme makhluk hidup dalam kadar tertentu, misalnya seng (Zn), tembaga (Cu), besi (Fe), kobalt (Co), dan mangan (Mn). Logam berat esensial diperoleh secara alamiah atau dari aktivitas logam berat nonesensial, logam berat yang tidak diperlukan dalam proses metabolisme makhluk hidup. Keberadaan logam berat nonesensial dapat

menimbulkan efek toksik, misalnya merkuri (Hg), kadmium (Cd), timbal (Pb), dan krom (Cr). Efek toksik logam berat disebabkan karena afinitasnya yang tinggi terhadap unsur S dalam enzim sehingga enzim menjadi tidak aktif dalam proses metabolisme makhluk hidup. Logam berat juga dapat terikat pada sel-sel membran yang menghambat proses transformasi melalui dinding sel. Logam berat yang memiliki toksisitas tinggi antara lain Hg, Cd, Pb, Cu, dan Zn. Logam Cr, Ni, dan Co memiliki tingkat toksisitas sedang. Sementara, Mn dan Fe termasuk logam berat toksisitas rendah (Rumhayati, 2019).

Salah satu logam berat yang sering ditemukan sebagai limbah pencemar dilingkungan yaitu Timbal. Timbal memiliki karakteristik dengan kepadatan  $11,3 \text{ gra/cm}^3$ , logam paling melimpah ke 37 ditemukan dalam bijih mineral yang dikenal sebagai galena, yang terdiri dari timbal sulfida dan dapat dikombinasikan dengan perak, seng, dan tembaga. Timbal berwarna abu-abu perak kusam, lembut, mudah dibentuk (Febria *et al.*, 2023). Secara alamiah pb terdapat di dalam tanah berkadar kurang lebih 5-25 mg/kg. sedangkan pada air telaga ata sungai krang lebih 1-10 ug/liter. Dalam air laut kadar Pb dapat menjadi lebih dari rendang dibandingkan air tawar. Secara alamiah pb juga terdapat di udara dengan kadar berkisar 0,0001-0,001 ug/m<sup>3</sup>. Beberapa sumber pencemarn pb yaitu berasal dari industri batu baterai dan accu, industri pengecoran ataupun industri pemurnian, industri bahan bakar, industri kabel, dan industri kimia (Sukandarrumidi *et al.*, 2017)

Pada industri batu baterai, logam timbal digunakan dalam bentuk lead antimony dan lead ocides sebagai bahan dasarnya. Batu baterai bekas yang dibuang sembarangan dapat mencemari air tanah didaerah permukiman tersebut. Pada industri pengecoran, menghasilkan timbal konsentrat yang berasal dari potongan-potongan logam. Asap yang dihasilkan mengandung partikulat Pb yang dapat mencemari udara lingkungan. Pada industri bahan bakar, Pb dalam bentuk senyawa *Tetra Ethyl Lead* (TEL) dan *Tetra Methyl Lead* (TML) banyak digunakan sebagai anti-knock pada bahan bakar. Penambahan TEL pada bensin dapat meningkatkan nilai oktan sehingga bensin lebih mudah terbakar. Industri kabel sendiri memanfaatkan logam Pb untuk melapisi kabel. Sedangkan industri kimia menggunakan logam sebagai bahan campuran dalam cat warna. Dalam bentuk alloy Pb digunakan untuk membuat pipa air minum karna lunak sehingga mudah dibentuk untuk ulir sambungan pipa (Sukandarrumidi *et al.*, 2017). Beberapa contoh lain penggunaan timbal dalam kehidupan sehari-hari yaitu sebagai pewarna rambut, pelapis, insektisida, baterai, lembaran layar komputer untuk melindungi dari radiasi amunisi dan proyektilkoma kaca kristal timbal, terpal kabel, peralatan olahraga, sabuk pengaman, sabuk pemberat untuk penyelam tabung untuk cairan korosif, untuk atap bangunan, jendela kaca, dan pipa (Febria *et al.*, 2023).

Logam timbal merupakan salah satu logam berat yang beracun dan dapat menyebabkan berbagai kerusakan pada kesehatan manusia dan lingkungan logam timbal dapat masuk ke dalam tubuh melalui respirasi, kulit, dan sistem pencernaan. (Febria *et al.*, 2023). Semakin lama terpapar, kadar timbal dalam tubuh makin meninggi. Dampak dari terpapar toksin Pb yaitu dapat mengurangi kesuburan, pada ibu hamil dapat memengaruhi perkembangan intelegensi anak bahkan hingga

kematian janin, gangguan fungsi ginjal, gangguan neurologi, serta dapat menderita anemia (Sukandarrumidi *et al.*, 2017).

### 1.2.2 Bakteri pengakumulasi logam berat

Bakteri merupakan salah satu agen bioakumulasi yang mampu mengakumulasi kandungan logam berat. Pada bakteri, proses bioakumulasi dipengaruhi oleh sifat permukaan sel, termasuk perubahan muatan. Selain itu, suhu juga mempengaruhi proses bioakumulasi. Suhu yang lebih tinggi dapat mengganggu aktivitas metabolisme sel bakteri secara signifikan (Sharma dan Pratyosh, 2021). Mekanisme bioakumulasi yang paling terkenal kemungkinan besar didasarkan pada pengikatan logam berat menggunakan metallothionein. Metallothionein adalah protein kaya sistein (molekul dengan berat molekul rendah, dapat dikodekan oleh gen *bmtA* yang memfasilitasi bioakumulasi logam berat (misalnya Pb, Hg, Ni, Cd)) di dalam sel. Sel bakteri biasanya memproduksi metallothionein sebagai reaksi terhadap peningkatan paparan logam. Mekanisme ini dapat ditransfer oleh plasmid, memfasilitasi penyebarannya dari satu sel bakteri ke sel bakteri lainnya (Wrobel *et al.*, 2023).

Penggunaan mikroorganisme seperti *Bacillus* spp. memiliki beberapa keunggulan dibandingkan menggunakan teknik fisik dan kimia konvensional, termasuk spesifisitas yang lebih tinggi, kemungkinan penggunaan in situ, dan kemampuan meningkatkan fitoremediasi. Selain itu, adaptasi yang baik dari bakteri genus ini terhadap kondisi yang tidak menguntungkan dan fakta bahwa bakteri tersebut mampu menghasilkan spora memberikan keuntungan penting atas sebagian besar teknik bioremediasi. Hal terpenting adalah efisiensi bioremediasi menggunakan *Bacillus* spp. terus meningkat (Wrobel *et al.*, 2023). Beberapa bakteri yang menunjukkan kemampuan biosorpsi timbal diantaranya adalah *Enterobacter* sp, *Bacillus* sp, *Escherichia coli*, *Micrococcus* sp, *Aeromonas* sp, *Lactobacillus* sp, dan *Pseudomonas* sp (Aminah dan Fatmawati, 2018).

### 1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini yaitu:

1. Mendapatkan isolat bakteri pengakumulasi timbal (Pb) yang berasal dari sedimen hutan mangrove
2. Mengetahui karakteristik bakteri pengakumulasi timbal (Pb)
3. Mengetahui tingkat resistensi timbal (Pb) pada bakteri dari sedimen mangrove
4. Mengetahui kemampuan akumulasi isolat bakteri pada beberapa konsentrasi timbal (Pb)

### 1.4 Manfaat penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai bakteri yang mampu mengakumulasi timbal (Pb) yang diisolasi dari sedimen mangrove kawasan Untia, kota Makassar, Sulawesi Selatan sehingga dapat memberikan manfaat dalam mengatasi pencemaran logam berat timbal (Pb) pada lingkungan.

## BAB II METODE PENELITIAN

### 2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei 2024 sampai Juli 2024 di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin dan Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar. Pengambilan sampel sedimen mangrove dilakukan di kawasan hutan mangrove kelurahan Untia, Kota Makassar, Sulawesi Selatan.

### 2.2 Alat dan Bahan

#### 2.2.1 Alat

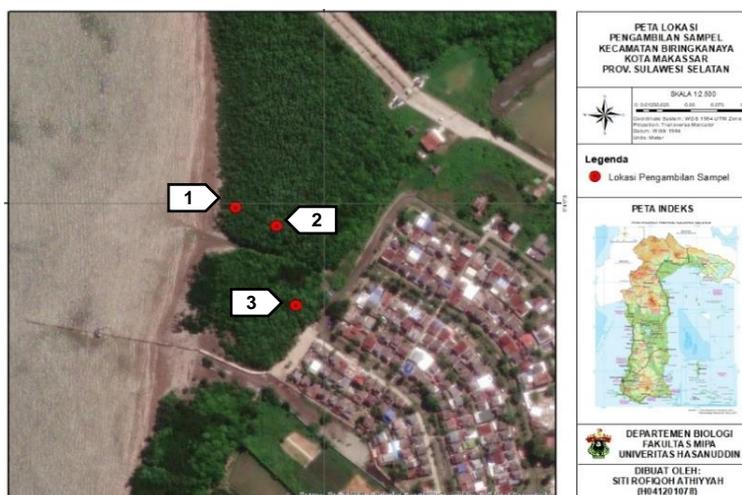
Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu cawan petri, erlenmeyer, tabung reaksi, gelas ukur, gelas kimia, batang pengaduk, gelas objek, pinset, sendok tanduk, penjepit tabung, rak tabung, spoit, mikroskop, neraca (OHAUS), timbangan digital, inkubator *shaker*, oven, autoklaf, *hot plate*, *vortex*, ose lurus, ose bulat, dan bunsen.

#### 2.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel sedimen mangrove yang diperoleh dari mangrove kawasan untia, kota makassar, Sulawesi selatan,  $Pb(NO_3)_2$ , media untuk bakteri yaitu *nutrient agar* (NA), *nutrient broth* (nb), medium *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), medium *Sulfid Indol Motility* (SIM), medium *Simmons Citrate Agar* (SCA), medium *Methyl Red-Voges Proskauer* (MR-VP), reagen yang digunakan yaitu Kristal violet, *gram's iodine mordant*, safranin, metil red, KOH 40%, alfaaftol, dan alkohol 70%.

### 2.3 Metode Kerja

#### 2.3.1 Pengambilan sampel



**Gambar 1.** Lokasi titik pengambilan sampel sedimen mangrove di Untia, Kota Makassar

Pengambilan sampel dilakukan di kawasan mangrove Untia kota Makassar menggunakan metode *purposive sampling*, yaitu menentukan titik pengambilan sampel berdasarkan kebutuhan penelitian. Titik lokasi pengambilan sampel yang diduga mengandung logam berat timbal yaitu pada 3 titik seperti pada gambar 1. Lokasi titik pertama pada bagian depan yang lebih dekat ke arah laut. Titik kedua yaitu mewakili bagian tengah, dan titik ketiga yaitu lebih dekat dengan permukiman. Sampel sedimen mangrove diambil pada kedalaman 10-15 cm, yaitu pada bagian top soil yang diduga terdapat lebih banyak bakteri. Setelah diambil, sampel dikompositkan dan dimasukkan ke dalam botol sampel yang telah disterilkan, kemudian dimasukkan ke dalam *coolbox*. Selanjutnya sampel dibawa ke laboratorium untuk dilakukan pengujian.

### 2.3.2 Sterilisasi alat dan media

Semua alat yang akan digunakan, terlebih dulu disterilisasi. Alat-alat gelas dan logam disterilkan menggunakan oven dengan suhu 180°C selama 2 jam. Alat-alat plastik serta alat yang tidak tahan dengan suhu tinggi disterilkan menggunakan autoklaf, dengan suhu 121°C pada tekanan 2 atm selama 15 menit. Sedangkan ose disterilkan dengan cara dilidah apikan menggunakan nyala api pada lampu spiritus. Sterilisasi medium yaitu dengan panas basah menggunakan autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 2 atm selama 15 menit.

### 2.3.3 Isolasi bakteri

Bakteri diisolasi dari sedimen mangrove menggunakan teknik pengenceran bertingkat. Sampel sedimen mangrove dari 3 titik ditimbang masing-masing sebanyak 5gram kemudian disuspensikan dalam 45 ml aquadest steril dan dihomogenkan menggunakan vortex. Kemudian diambil 1 ml suspensi dan dimasukkan ke dalam 9 ml aquadest steril dalam tabung reaksi sehingga diperoleh faktor pengenceran  $10^{-1}$ , kemudian diambil 1 ml dari tabung pengenceran  $10^{-1}$  dan dimasukkan dalam tabung pengenceran  $10^{-2}$ , dinerikan perlakuan yang sama untuk pengenceran berikutnya yang dan dibuat hingga pengenceran  $10^{-7}$ .

Selanjutnya diinokulasikan kultur pengenceran  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ , dan  $10^{-7}$  masing-masing sebanyak 1 ml pada pada masing-masing 3 cawan petri berbeda. Kemudian ditambahkan media *Nutrient Agar* (NA) yang mengandung  $Pb(NO_3)_2$  dengan konsentrasi 5 ppm menggunakan metode *pour plate* lalu diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C sampai tumbuh koloni bakteri pada media. Kemudian dilakukan perhitungan total koloni bakteri yang tumbuh menggunakan metode *Standart Plate Count* dengan rumus berikut:

$$\text{Total Plate Count: Jumlah Koloni Bakteri} \times 1/\text{faktor pengenceran}$$

### 2.3.4 Pemurnian isolat bakteri

Bakteri yang tumbuh pada media kemudian dimurnikan sebanyak dua kali pada media NA. Pada proses pemurnian, dilakukan dengan mengambil koloni yang tumbuh terpisah atau koloni tunggal. Koloni bakteri yang diambil berdasarkan variasi karakteristik visual pada bentuk dan warna dengan tujuan mendapatkan jenis bakteri

yang berbeda. Koloni bakteri diinokulasi menggunakan ose bulat kemudian digores pada cawan yang berisi media NA dengan metode *streak plate*. Lalu dilakukan inkubasi selama 1x24 jam dengan posisi cawan terbalik. Untuk pemurnian kedua dilakukan proses yang sama dengan mengambil isolat yang berasal dari pemurnian pertama.

### 2.3.5 Pembuatan kultur bakteri

Bakteri dari hasil pemurnian kemudian dikultur dengan cara digores pada Nutrient Agar miring di dalam tabung reaksi. Setelah itu diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C.

### 2.3.6 Karakterisasi Bakteri

**Pengamatan Morfologi Koloni.** Pengamatan morfologi koloni dilakukan untuk menentukan karakter fisiologis. Sebanyak 1 ose isolat bakteri di inokulasikan pada medium Nutrien Agar (NA) dengan metode gores kuadran, kemudian diinkubasi selama 1x24 jam. Koloni yang terbentuk kemudian diamati menggunakan mikroskop stereo. Pengamatan makroskopis dengan melihat warna dan bentuk koloni bakteri yang tumbuh. Karakterisasi dilakukan untuk menemukan isolat bakteri yang berbeda.

#### **Pengamatan Morfologi Sel**

**Pewarnaan gram.** Isolat bakteri pengakumulasi timbal (Pb) dioles pada kaca slide lalu dilakukan fiksasi. Selanjutnya ditambahkan 2-3 tetes Kristal violet kemudian diamkan selama 1 menit, lalu dibilas menggunakan akuades mengalir dan dikeringkan. Kemudian ditetesi isolat bakteri menggunakan lugol sebanyak 2-3 tetes selama 1 menit, kemudian dicuci dengan akuades mengalir. Selanjutnya isolat bakteri ditambahkan etil alkohol dan dibiarkan selama 30 detik lalu dicuci dengan akuades mengalir. Setelah itu, isolat bakteri ditambahkan safranin sebanyak 2-3 tetes selama 30 detik lalu dicuci dengan akuades mengalir, kemudian dikeringkan dan diamati dengan mikroskop.

### 2.3.7 Uji Biokimia

**Uji Triple Sugar Iron Agar (TSIA).** Isolat bakteri diambil sebanyak 1 ose dari masing-masing stok kultur menggunakan ose lurus lalu diinokulasikan dengan cara ditusukkan pada bagian butt medium TSIA dan digores pada bagian slant. Kemudian diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. setelah itu diamati perubahan pada warna medium, yaitu ketika menjadi kuning menandakan medium menjadi asam, warna merah menandakan medium basa, warna hitam menandakan terbentuknya H<sub>2</sub>S, dan jika medium terangkat menandakan bahwa mikroba mampu memproduksi gas.

**Uji Motilitas Sulfid Indol Motility (SIM).** Isolat bakteri diinokulasikan menggunakan ose lurus dengan cara ditusuk pada medium SIM agar tegak. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam, kemudian dilakukan pengamatan motilitas bakteri dengan melihat ada atau tidak adanya rambatan disekitar tusukan. Setelah itu dilanjutkan inkubasi hingga 3x24 jam lalu ditetes kovaks reagen. Dilakukan pengamatan, apabila indol berubah merah maka menandakan positif.

**Uji Simmons Citrate Agar (SCA).** Isolat diinokulasikan menggunakan ose bulat pada medium SCA kemudian diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. reaksi positif apabila medium berubah dari hijau menjadi biru.

**Uji Methyl Red (MR).** Sebanyak 1 ose Isolat bakteri diambil menggunakan ose bulat lalu diinokulasikan dalam MR-VP broth lalu diinkubasikan selama 5x24 jam pada suhu 37°C. setelah diinkubasi kemudian ditambahkan 3-5 tetes methyl red pada masing-masing tabung reaksi lalu dihomogenkan. Hasil positif ditunjukkan dengan warna merah muda pada broth. Hasil negatif ditunjukkan dengan warna kuning.

**Uji Voges-Proskauer (VP).** Diambil isolat bakteri dari stok kultur sebanyak 1 ose (ose bulat) kemudian diinokulasikan pada medium MR-VP cair dalam tabung reaksi. Selanjutnya diinkubasikan selama 3x24 jam pada suhu 37°C. setelah diinkubasi, kemudian ditambahkan 0,2 ml KOH 40% dan 0,6 ml alfa-naftol lalu dikocok selama 30 detik. Hasil positif ditunjukkan apabila medium berubah menjadi warna lembayung.

### 2.3.8 Uji resistensi bakteri terhadap timbal (Pb)

Pengujian resistensi isolat bakteri dengan beberapa konsentrasi timbal (Pb) dilakukan menggunakan metode turbidimetri, dengan cara suspensi bakteri yang telah dibuat dengan isolat dan konsentrasi  $Pb(NO_3)_2$  yang berbeda-beda. Isolat murni yang diperoleh selanjutnya diinokulasikan ke dalam media Nutrient Broth (NB) yang mengandung timbal  $Pb(NO_3)_2$  dengan variasi konsentrasi yaitu 10, 30, 50, dan 0 ppm sebagai kontrol, kemudian diinkubasi menggunakan *incubator shaker* dengan kecepatan 180 rpm dan diinkubasi selama 1 x 24 jam. Setelah itu, dilakukan pengujian untuk melihat kepadatan populasi bakteri, menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang 580 nm untuk memperoleh nilai absorban atau nilai OD (Optical density) yang merupakan indikator untuk kepadatan populasi bakteri yang mampu mengakumulasi logam berat timbal.

### 2.3.9 Uji kemampuan akumulasi timbal (Pb) oleh bakteri

Setelah diperoleh bakteri yang resisten akan Pb, kemudian bakteri diinokulasikan ada media *Nutrien Broth* (NB) yang telah diperkaya dengan  $Pb(NO_2)_3$  dengan konsentrasi resistensi tertinggi yaitu 50 ppm. Kemudian isolat bakteri diinkubasi menggunakan inkubator shaker selama 24 jam pada suhu 37°C dengan kecepatan 220 rpm, kemudian sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit. Selanjutnya diukur kadar timbal menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) Pengukuran sisa kadar timbal dapat dihitung menggunakan metode metode Langmuir, dengan persamaan sebagai berikut :

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

Perhitungan % penurunan kadar logam penentuan persentase logam Pb sesuai dengan persamaan :

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

Keterangan : D = daya penurunan kadar Pb

Cs = Pb yang kadarnya berkurang (ppm)  
C(a) = konsentrasi awal Pb (ppm)  
C(b) = konsentrasi akhir Pb (ppm)