

**SKRIPSI**

**POTENSI BAKTERI PROBIOTIK *Pediococcus acidilactici* DALAM  
MEREDUKSI LOGAM BERAT (Pb) PADA MEDIA SUSU SKIM  
SECARA IN VITRO**

**Disusun dan diajukan oleh**

**SARASWATI**

**H041171023**



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

**2021**

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**POTENSI BAKTERI PROBIOTIK *Pediococcus acidilactisi* DALAM  
MEREDUKSI LOGAM BERAT (Pb) PADA MEDIA SUSU SKIM  
SECARA IN VITRO**

Disusun dan diajukan oleh

**SARASWATI  
H041171023**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam Rangka  
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Biologi Fakultas  
Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin  
pada Tanggal 1 Juli 2021  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

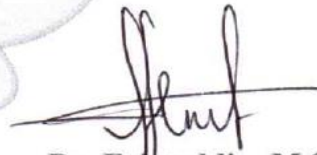
**Menyetujui,**

**Pembimbing Utama**




**Dr. Zaraswati Dwyana Z., M.Si**  
NIP.19651209 199008 2001

**Pembimbing Pertama**



**Dr. Fahrudin, M.Si**  
NIP.19650915 199103 1002

**Ketua Departemen,**



  
**Dr. Nur Haedar, M.Si.**  
NIP.196801291997022001

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Saraswati  
NIM : H041171023  
Program Studi : Biologi  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul Potensi Bakteri Probiotik *Pediococcus Acidilactisi* Dalam Mereduksi Logam Berat (Pb) Pada Media Susu Skim Secara In Vitro adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 01 Juli 2021  
Yang Menyatakan



  
Saraswati

## KATA PENGATAR

*Assalamu'alaikum Warahmatullah Wabarakatuh*

*Alhamdulillah rabbil'alamin* segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT, karena dengan hidayah dan berkah-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul "*Potensi Bakteri Probiotik *Pediococcus Acidilactisi* Dalam Mereduksi Logam Berat (Pb) Pada Media Susu Skim Secara In Vitro*" dengan baik. Skripsi ini disusun sebagai syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Sarjana Sains di Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Tak lupa pula penulis kirimkan shalawat dan salam kepada junjungan Nabiullah Muhammad SAW, keluarga serta para sahabatnya yang telah menunjukkan jalan kebenaran di muka bumi ini.

Skripsi ini disusun dengan segala keterbatasan dari penulis, sehingga masih memiliki kekurangan yang mungkin belum di sadari. Oleh karena itu, untuk sempurnanya skripsi ini, penulis membutuhkan dukungan berupa kritik serta saran dari berbagai pihak yang sifatnya membangun untuk kesempurnaan skripsi ini. Tanpa bantuan, motivasi, kritik dan saran serta doa dari berbagai pihak penulis akan kesulitan dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua Ayah Lukman dan Ibu Nurhayati yang penulis hormati dan penulis sayangi atas kasih sayang, cinta, pelajaran, pengorbanan dalam membesarkan, mendidik dan menyekolahkan penulis hingga sampai pada titik ini yang dimana semuanya tidak dapat penulis balas dengan apapun. Terima kasih juga penulis ucapkan kepadak adikku Muhammad Agus yang senantiasa menjadi penghibur,

pembawa tawa dan sumber semangat penulis saat merasa jenuh dan lelah dalam menyelesaikan skripsi ini. Begitu pula dengan semua keluarga penulis yang selalu memberikan semangat dalam menyelesaikan studi S1 ini.

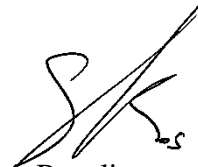
Penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada bapak Drs.Muhammad Ruslan Umar, M.Si. selaku Pembimbing Akademik, ibu Dr.Zaraswati Dwyana Z., M.Si, selaku Pembimbing Utama bersama Bapak Dr. Fahrudin, M.Si. sebagai Pembimbing Pertama, atas dukungan serta motivasi, bantuan, arahan, kritik, saran, waktu dan kesabarannya menghadapi penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Pada kesempatan ini penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Rektor Universitas Hasanuddin Ibu Prof. Dr. Dwia Aries Tina P., M.A., beserta staf.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Bapak Dr. Eng Amiruddin, M.Sc., beserta staf yang telah membantu dan penulis dalam hal akademik dan administrasi.
3. Ketua Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Ibu Dr. Nur Haedar, M,Si., atas ilmu, motivasi dan saran-sarannya.
4. Tim penguji skripsi Bapak Dr.Ambeng, M.Si., dan bapak Drs. Muhammad Ruslan Umar, M.Si terima kasih banyak atas bimbingan dan arahan yang telah diberikan kepada penulis dari awal studi hingga penyusunan skripsi ini.
5. Bapak/Ibu Dosen Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu yang telah membina, mendidik, dan memberikan ilmunya kepada penulis selama proses perkuliahan. Serta telah menjadi orang tua di perantauan dan juga kepada staf dan Pegawai Departemen Biologi yang telah banyak membantu, dalam bidang administrasi dan dukungan kepada penulis selama ini.

6. Kak Heriadi, S.Si, Kak Fuad Gani, S.Si dan Kak Nenis Sardiani, S.Si yang telah banyak membantu selama perkuliahan, penelitian, baik ilmu, bimbingan, kritik dan sarannya.
7. Siti Aras Ainun Basri dan Fadhilah Ananda Putri sebagai partner penelitian yang selalu membagikan informasi mengenai penelitian, memberikan semangat serta motivasi selama penelitian hingga selesainya penulisan skripsi ini.
8. Saudara tak sedarah penulis Iryani Gessa, Indi Ria Al-Kadry, Noviana, Ariyo Setiawan Riyadi, Kiki Kurniawan, Nofia Wahdania, Muhammad Al-Gazali, Muhammad Archam, Ary Sanjaya, Beno Renaldy yang selalu memberikan bantuan dan semangatnya serta selaku ada dalam suka duka yang penulis alami.
9. Sahabat seperjuangan di kampus penulis Ayu Mitha Lestaei, Veni Apriliani, Amalia Fauziah, Miftahul Jannah, Ayu Angreni Sujito, Renaldi Rhafiq, Nurul Afia Abd Majid, Anugrah Prima Dirgahayu, Nurindah Rezky juga, Eka Triana dan kak Ifka Widya Sari S.Pd., S.Si yang telah banyak membantu selama kuliah, penelitian dan penyusunan skripsi ini.
10. Teman-teman Biologi Angkatan 2017 BIOVENGENT yang telah banyak membantu terlebih dimasa-masa awal perkuliahan.
11. Kakak-kakak dan adik-adik anggota Himpunan Mahasiswa Biologi FMIPA Unhas yang telah banyak memberikan pelajaran yang tidak diperoleh dibangku perkuliahan.
12. Teman-teman KKN Tematik Unhas Gel.104 Kelompok Luwu Timur 3 dan teman-teman MIPA 2017 yang juga selalu membantu dan memberikan semangatnya

Pada akhirnya saya berterima kasih kepada semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan namanya satu persatu yang telah berkontribusi memberikan masukan, kritik, saran serta semangat dan motivasinya hingga karya tulis ini terselesaikan. Terima Kasih sebesar-besarnya. Semoga Tuhan memberi rahmat dan melindungi kita semua, Aamiin.

Makassar, 01 Juli 2021



Penulis

## ABSTRAK

Timbal (Pb) termasuk jenis logam berat yang memiliki toksisitas yang sangat berbahaya bagi makhluk hidup. Telah dilaksanakan penelitian berjudul “**Potensi Bakteri Probiotik *Pediococcus acidilactici* Dalam Mereduksi Logam Berat Timbal Dengan Menggunakan MediaSusu Skim Secara In Vitro**”. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri probiotik *P. acidilactici* dalam mereduksi logam berat timbal (Pb) pada media fermentasi susu skim. Uji bioabsorpsi ini dilakukan dengan menumbuhkan isolat probiotik *P. acidilactici* pada media fermentasi susu skim ditambahkan timbal (Pb) dengan varian konsentrasi 1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, dan 20 ppm. Analisis kadar timbal dilakukan pada fermentasi hari ke 1, hari ke 2 dan hari ke 3. Hasil yang di peroleh menunjukkan bahwa isolat probiotik *P. acidilactici* mampu mereduksi timbal pada berbagai konsentrasi dimana kadar terendah 1 ppm tereduksi 0,48 ppm dengan kadar logam tersisa 0,52 ppm, sedangkan pada kadar timbal tertinggi 20 ppm tereduksi 9,57 ppm dan kadar logam tersisa 10,43 ppm, dengan persentase penurunan rata-rata kadar logam timbal sebesar 49,4% dengan pertumbuhan bakteri yang terus mengalami peningkatan.

**Kata kunci:** *Pediococcus acidilactici*, Timbal (Pb), Susu skim.



## ABSTRACT

Lead (Pb) is a heavy metal that has very dangerous toxicity for living things. The research entitled "**The Potential of Probiotic *Pediococcus acidilactici* Bacteria in Reducing Lead Heavy Metals Using Skim Milk Media In Vitro**". This study aims to determine the ability of *P. acidilactici* probiotic bacteria in reducing heavy metal lead (Pb) in skim milk fermentation media. This bioabsorption test was carried out by growing probiotic isolates of *P. acidilactici* on skim milk fermentation media with added lead (Pb) with a concentration variant of 1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, and 20 ppm. The analysis of lead levels was carried out on fermentation on day 1, day 2, and day 3. The results obtained showed that *P. acidilactici* probiotic isolates were able to reduce lead at concentrations of 1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, and 20 ppm until the lowest levels of lead were left. in fermentation media, namely 0.52 ppm, 2.82 ppm, 4.20 ppm and 10.43 ppm, with the growth of bacteria that continues to increase.

**Keywords:** *Pediococcus acidilactici*, Lead (Pb), Skimmed milk.

## DAFTAR ISI

|  |                              |
|--|------------------------------|
| LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI .....  | Error! Bookmark not defined. |
| PERNYATAAN KEASLIAN .....  | ii                           |
| KATA PENGANTAR.....  | iv                           |
| ABSTRAK.....   | viii                         |
| ABSTRACT .....   | ix                           |
| DAFTAR ISI.....  | x                            |
| DAFTAR GAMBAR.....   | xii                          |
| DAFTAR LAMPIRAN .....  | xiii                         |
| <b>BAB I.....</b>  | <b>1</b>                     |
| I.1 Latar Belakang.....  | 1                            |
| I.3 Manfaat Penelitian .....   | 4                            |
| I.4 Waktu dan Tempat Penelitian .....  | 4                            |
| <b>BAB II .....</b>  | <b>5</b>                     |
| II.1 Tinjauan Umum Timbal (Pb).....  | 5                            |
| II.2 Probiotik.....  | 10                           |
| II.3 Bakteri Probiotik Sebagai Agen Bioabsorpsi Logam Berat Timbal (Pb)....      | 13                           |
| <b>BAB III.....</b>  | <b>17</b>                    |
| III.1 Alat .....   | 17                           |
| III.2 Bahan.....   | 17                           |
| III.3 Metode Kerja .....   | 17                           |
| III.3.1 Persiapan Penelitian .....   | 17                           |
| III.3.2 Kultivasi Isolat Bakteri Probiotik <i>Pediococcus acidilactici</i> ..... | 18                           |

|  |           |
|--|-----------|
| III.3.3 Pembuatan Starter Bakteri Probiotik <i>Pediococcus acidilactici</i> .....  | 18        |
| III.3.4 Fermentasi Bakteri Probiotik <i>Pediococcus acidilactici</i> pada Media Susu Skim dengan Penambahan Timbal .....                     | 19        |
| III.3.5 Perhitungan Jumlah Bakteri.....  | 19        |
| III.3.6 Analisis Kadar Timbal pada Media Susu Skim .....   | 20        |
| III.3.9 Analisis Data.....   | 20        |
| <b>BAB IV .....</b>  | <b>21</b> |
| IV.1 Pertumbuhan Bakteri Probiotik <i>Pediococcus acidilactici</i> pada Media Susu Skim dengan Penambahan Timbal .....                       | 21        |
| IV.2 Pertumbuhan Bakteri <i>Pediococcus acidilactici</i> pada Media Susu Skim dengan Berbagai Macam Konsentrasi Timbal.....                  | 23        |
| IV.3 Perubahan pH pada Media Susu Skim Selama Proses Fermentasi.....   | 26        |
| IV.4 Analisis Kadar Timbal Menggunakan AAS ( <i>Authomic Absorbtion Spectrofotometri</i> ) dengan Metode Kering Beku ( <i>Dry Ice</i> )..... | 27        |
| <b>BAB V.....</b>  | <b>31</b> |
| V.1 Kesimpulan.....  | 31        |
| V.2 Saran.....   | 31        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>   | <b>32</b> |
| <b>LAMPIRAN .....</b>  | <b>36</b> |

## DAFTAR GAMBAR

|   |    |
|---|----|
| Gambar 1. Struktur Unsur Timbal .....   | 5  |
| Gambar 2. Alur pajanan Pb dalam lingkungan .....  | 9  |
| Gambar 3. <i>Pediococcus acidilactici</i> .....   | 12 |
| Gambar 4. Fermentasi Bakteri <i>Pediococcus acidilactici</i> pada media susu skim dengan penambahan berbagai konsentrasi timbal .....   | 22 |
| Gambar 5. Diagram pertumbuhan bakteri <i>P. acidilactici</i> yang ditumbuhkan di media susu skim. ....  | 24 |
| Gambar 6. Diagram Perubahan pH Pada Media Susu Skim Selama Masa Fermentasi.....   | 26 |
| Gambar 7. Grafik penurunan kadar Timbal (Pb) oleh bakteri probiotik <i>P. acidilactici</i> yang dianalisis menggunakan AAS ( <i>Authomic Absorbtion Spectrofotometri</i> )..... | 28 |

## DAFTAR LAMPIRAN

|   |    |
|---|----|
| Lampiran 1. Skema Kerja, Efektifitas Bakteri Probiotik <i>P. acidilactici</i> dalam Mereduksi Logam Timbal (Pb) pada Media Susu Skim .....  | 36 |
| Lampiran 2. Skema Kerja Analisis Kadar Timbal (Pb) dengan AAS ( <i>Authomic Absobrsi Spectrofotometri</i> ) .....   | 38 |
| Lampiran 3. Proses Pembuatan Media Pertumbuhan .....  | 39 |
| Lampiran 4. Proses Pembuatan Media Fermentasi.....  | 40 |
| Lampiran 5. Proses Pembuatan Starter .....  | 41 |
| Lampiran 6. Gambar Fermentasi Bakteri Probiotik <i>P. acidilactici</i> pada Media Susu Skim.....  | 42 |
| Lampiran 7. Gambal Hasil Perhitungan Jumlah Bakteri Probiotik <i>P.acidilactici</i> pada Media MRSA ( <i>Man Ragosa Sharpe Agar</i> ) dengan Penambahan 1 % CaCO <sub>3</sub> . ..... | 43 |
| Lampiran 8. Tabel Hasil Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri dengan Metode SPC ( <i>Standart Plate Count</i> ) .....   | 44 |
| Lampiran 9. Tabel Hasil Pengukuran pH Media Selama Proses Fermentasi.....   | 45 |
| Lampiran 10. Proses Pengerjaan Analisis Kadar logam Timbal (Pb) dengan Menggunakan AAS ( <i>Authomic Absorbtion Spectrofotometri</i> ). .....   | 46 |
| Lampiran 11. Tabel Hasil Analisis Kadar Timbal (Pb) dengan Menggunakan AAS ( <i>Authomic Absorbtion Spectrofotometri</i> ). .....   | 47 |

# BAB I

## PENDAHULUAN

### **I.1 Latar Belakang**

Timbal (Pb) merupakan salah satu logam berat non disintegrasikan yang memiliki daya toksik sangat kuat. Logam ini merupakan salah satu logam yang sangat berbahaya bagi kehidupan baik itu bagi manusia maupun makhluk hidup lainnya. Timbal yang terakumulasi ke dalam tubuh menghambat kerja enzim yang bekerja dalam pembentukan hemoglobin (Anggraini *et al.*, 2014).

Toksisitas atau daya racun logam berat berdampak negatif bahkan merugikan bagi kesehatan tergantung bagaimana logam berat tersebut terakumulasi di dalam tubuh. Penyerapan timbal ke dalam tubuh makhluk hidup dapat melalui saluran cerna, pernapasan dan kulit, penyerapan timbal memiliki kadar yang berbeda-beda tergantung dari bentuk timbal yang diserap yaitu apakah berupa uap atau partikel. Timbal yang telah terakumulasi ke dalam tubuh akan menyerang sistem hemopoetik, sistem saraf pusat, sistem saraf tepi, kerusakan ginjal dan kerusakan DNA (Hidayah dan Soeprobawati, 2014). Selain itu bagi anak-anak yang terpapar oleh timbal dapat mengakibatkan retardasi mental (Situmorang, 2017).

Logam berat timbal dapat direduksi menggunakan beberapa metode, yaitu fisika, kimia, dan biologi. Namun metode kimia dan fisika memiliki beberapa kelemahan, diantaranya biaya instalasi dan operasional yang tinggi, banyak membutuhkan bahan kimia, dan kurang efektif saat konsentrasi logam berat dikisaran 10-100 mg/L sehingga cara ini kurang efisien karena tidak semua logam dapat tereduksi secara sempurna seperti Pb, Cd dan Hg (Said, 2010).

Perkembangan bioteknologi pengolahan limbah pencemaran logam berat dapat diatasi melalui metode biologi. Metode ini memiliki kelebihan ramah lingkungan, biaya rendah dan mempunyai efisiensi yang tinggi dalam penyerapan logam berat selain itu metode ini dapat menyisihkan logam berat <10 mg/L (Ratnawati *et al.*, 2010). Metode ini memanfaatkan jasad hidup, yaitu dengan menggunakan mikroorganisme potensial yang dapat mentransformasi logam berat pada lingkungan atau biokonversi (Monachese *et al.*, 2012). Jenis mikroorganisme yang dapat dimanfaatkan dalam mereduksi logam berat yaitu dari kelompok bakteri gram positif yang juga merupakan bakteri probiotik (Jaafar, 2020).

Bakteri probiotik merupakan jenis bakteri yang banyak dimanfaatkan dalam pembuatan minuman dan makan hal ini dikarenakan bakteri probiotik memberikan efek yang menguntungkan bagi kesehatan manusia dan hewan. Hal ini dikarenakan bakteri probiotik mampu menghasilkan bakteriosin untuk melawan mikroorganisme patogen. Bakteri probiotik memproduksi beberapa senyawa diantaranya yaitu asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, laktoperoksidase, lipopolisakarida, dan beberapa senyawa antimikroba lainnya (Zoghy *et al.*, 2014).

Selain itu bakteri probiotik juga memiliki potensi dalam mereduksi logam berat seperti merkuri (Hg), arsen, kadmium (Cd), Timbal (Pb), kromium (Cr), Seng (Zn), dan tembaga (Cu). Bakteri probiotik dapat bertahan dan mentolerir kondisi tekanan logam berat. Untuk dapat menyesuaikan diri dengan kondisi tekanan logam berat, bakteri melakukan mekanisme seperti pembuangan ion logam di luar sel, mengakumulasi logam berat didalam sel dan mengurangi kadar toksik pada logam berat, atau yang biasa di sebut bioabsorpsi, bioakumulasi, biotransformasi dan bioremediasi. Jenis bakteri probiotik diketahui dapat mereduksi logam berat karena senyawa ekstraseluler yang dihasilkan mampu mengikat kation logam berat secara spesifik (Yogal *et al.*, 2017).

Bakteri probiotik yang termasuk kedalam golongan bakteri asam laktat (BAL) terbagi menjadi 4 genus yaitu *Lactococcus*, *Lactobacilli*, *Leuconostoc* dan *Pediococcus*. Genus *Pediococcus* memiliki potensi dalam mereduksi logam berat. Salah satunya spesies *Pediococcus acidilactici* yang mempunyai potensi dalam mereduksi logam berat, serta *Pediococcus acidilactici* memiliki daya toleran pada konsentrasi tinggi logam berat <1000 hal ini dikarenakan kandungan peptidoglikan dan asam teikoat yang tinggi pada dinding selnya. *Pediococcus acidilactici* juga mampu menghasilkan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang kurang menguntungkan (Bhakta *et al.*, 2012)

Spesies probiotik ini juga membantu penyerapan vitamin dan antioksidan serta menghilangkan komponen beracun dari makanan dan minuman seperti mereduksi logam berat yang terakumulasi dalam tubuh. Namun saat ini tidak banyak penelitian yang membahas mengenai kemampuan *Pediococcus acidilactici* dalam mereduksi logam berat khususnya logam berat timbal. Oleh karena itu maka akan dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui potensi bakteri probiotik ini dalam mereduksi logam berat timbal dengan baik. Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan penelitian mengenai potensi bakteri probiotik *Pediococcus acidilactici* dalam mereduksi timbal (Pb) secara in vitro.

## **I.2 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui potensi bakteri probiotik *Pediococcus acidilactici* dalam mereduksi logam berat timbal pada media susu skim secara in vitro.



### **I.3 Manfaat Penelitian**

Memberikan informasi tentang bakteri probiotik yang mampu mereduksi logam Timbal (Pb) sehingga dapat di manfaatkan sebagai bahan untuk detoxifikasi Timbal (Pb).

### **I.4 Waktu dan Tempat Penelitian**

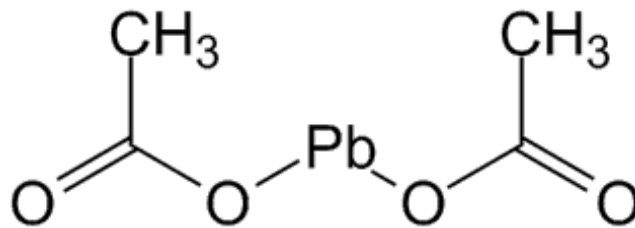
Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari - April 2021 di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, dan Laboratorium Penelitian Dan Pengembangan Sain, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Tinjauan Umum Timbal (Pb)

Timbal dalam bahasa Indonesia disebut *plumbum* (Pb) termasuk logam berat yang berwarna kelabu kebiruan termasuk kedalam golongan IV A dalam tabel dalam unsur priodik dengan nomor atom 82 dengan berat 207,2 serta memiliki struktur kimia seperti pada gambar 1 (Palar, 2008) Timbal merupakan jenis logam berat yang melimpah dan efek toksiknya menyebabkan banyak masalah lingkungan dan kesehatan seperti sakit kepala hingga kerusakan pada DNA karena memiliki daya stabilitas pada daerah kontaminasinya serta kompleksitas dalam mekanisme toksisitasnya (Tiwari *et al.*, 2013).



**Gambar 1.** Struktur Unsur Timbal

Timbal memiliki titik didih 1.620°C serta titik leleh 327 °C. Timbal yang bereaksi dengan oksigen akan membentuk timbal oksida. Timbal dapat larut dalam asam nitrat, asam asetat serta asam pekat. Timbal termasuk jenis logam yang tahan terhadap karat sehingga banyak digunakan dalam berbagai industri sebagai bahan coating (Reffiane *et al.*, 2011). Beberapa ikatan yang dapat dihasilkan dari timbal (Pb), yaitu ikatan karbonat (*cerussite*), timbal sulfat (*anglesite*) serta timbal klorofosfat (*Pyromorphite*,  $Pb_5Cl(PO_4)_3$ ) (James *et al.*, 2020).

Toksisitas logam Pb dapat terjadi melalui paparan secara terus menerus logam Pb yang tersebar di lingkungan masuk terakumulasi kedalam kulit serta saluran pernapasan hingga masuk kedalam darah. Penentuan kadar timbal dalam tubuh dapat dilihat dari kadar hemoglobin. Menurut Rosita dan Lidia (2018) rendahnya kadar hemoglobin dalam darah terjadi karna adanya kandungan logam-logam berat yang berlebih didalamnya.

Pb merupakan logam berat non disintegrasikan yang memiliki daya toksik sangat kuat (Kumar *et al.*, 2020). Timbal memiliki warna abu-abu kebiruan dengan kepadatan 11,34 g/cm<sup>3</sup>. Timbal terbagi menjadi dua bentuk yaitu bentuk timbal anorganik dan organik, timbal anorganik dominan terbentuk pada debu, tanah, cat serta beberapa bahan bangunan, sedangkan timbal organik (tetra-etil pb) dihasilkan pada bahan bakar seperti bensin (WHO, 2010).

Timbal termasuk dalam kategori zat *xenobiotik* yang asing bagi tubuh, sehingga dapat menyebabkan berbagai masalah kesehatan. Efek toksik timbal (Pb) terutama terjadi pada jaringan otak dan sistem saraf pusat. Jika terjadi keracunan timbal maka berakibat pada gangguan sistem saraf pusat, saluran cerna dan dapat timbul anemia (Suwaidah *et al.*, 2014). Selain mengakibatkan permasalahan kesehatan timbal juga dapat menjadi salah satu pencemar di udara maupun di laut (Gusnita, 2012).

Menurut Sukandarrumidi (2018) logam timbal (Pb) banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang karena timbal memiliki sifat-sifat sebagai berikut:

1. Timbal mempunyai titik cair rendah sehingga jika digunakan dalam bentuk cair tidak membutuhkan teknik yang mahal.
2. Timbal termasuk golongan logam yang lunak sehingga mudah di ubah menjadi berbagai bentuk

3. Logam timbal dapat membentuk alloy dengan logam lainnya serta alloy yang dibentuk memiliki sifat kimia yang tidak sama dengan timbal asalnya (murni).
4. Densitas logam berat timbal lebih tinggi dibanding dengan logam lainnya kecuali merkuri dan emas.
5. Timbal memiliki daya tahan rendah terhadap asam dan kapur.

Timbal (Pb) atau yang biasa disebut timah hitam merupakan jenis logam yang memiliki empat bentuk isotop yang tersebar di alam yaitu timbal 204 atau Pb204 ditemukan dengan jumlah 1,48%, timbal 206 atau Pb206 sebanyak 23,6%, isotop timbal 207 atau Pb207 sebanyak 22,6% dan untuk isotop timbal 208 atau Pb208 termasuk isotop terbanyak di alam yaitu sebesar 52,32% (Dantje *et al.*, 2015).

Secara geologi timbal (Pb) menyerupai biji logam. Beberapa bentuk persenyawaan timbal (Pb) diantaranya *galena* (PbS), *angelesit* (PbSO<sub>4</sub>) dan dalam bentuk *minim* (Pb<sub>3</sub>O<sub>4</sub>), sehingga sangat jarang ditemukan timbal dalam bentuk murni. Selain itu logam berat timbal dapat bersenyawa dengan perak (*argentum-Ag*), seng (*zincum-Zn*), arsen (*arsenicum-Ar*), logam stibi (*stibium-Sb*), dan dengan logam bismuth (*bismuth-Bi*). Sekitar 95% Timbal bersifat anorganik dan pada umumnya dalam bentuk garam anorganik yang umumnya kurang larut dalam air. Namun selebihnya berbentuk timbal organik. Timbal organik ditemukan dalam bentuk senyawa *Tetra Ethyl Lead* (TEL) dan *Tetra Methyl Lead* (TML) (Tangio, 2013).

Timbal (Pb) banyak dipergunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan baterai, timbal yang umum digunakan yaitu timbal metalik sehingga dapat dikatakan elektroda dari beberapa baterai mengandung struktur yang inaktif yang disebut

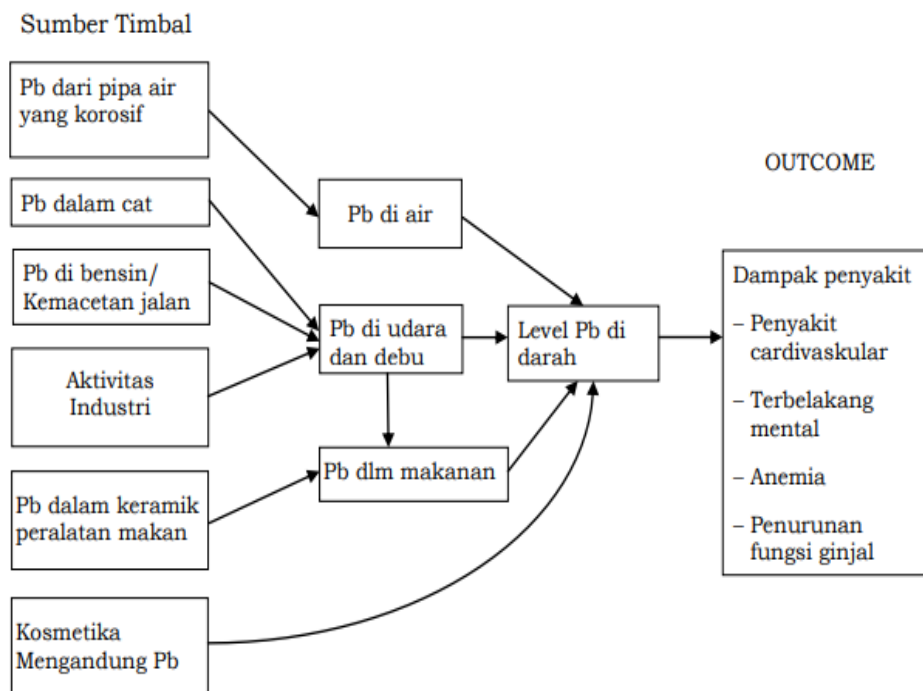
dengan *grid* dengan kandungan terbesar yaitu sekitar 93% timbal dan 7% antimony. Beberapa industri yang banyak mempergunakan timbal misalnya pada industri pengecatan mobil biasanya sering menggunakan seperti Pb kromat ( $\text{PbCrO}_4$ ), Pb kromat molibdat ( $\text{Pb}_2\text{Cr}_2\text{HO}_2\text{O}_{11}$ ) dan Pb sulfat ( $\text{PbSO}_4$ ) (Eka dan Joko, 2017). Selain itu dalam industry timbal juga dimanfaatkan sebagai lapisan dari beberapa benda karna memiliki sifat anti korosi untuk menghambat proses perkaratan pada benda. Dalam proses ini digunakan Pb tetraoksida atau yang sering dinamakan Pb merah atau minium (Susyanto,2009).

Secara biologi timbal termasuk dalam golongan logam berat metaloid yaitu logam yang umumnya tidak dibutuhkan dalam aktivitas metabolisme dan bersifat toksik terhadap sel pada konsentrasi rendah. Sifat toksik timbal jika masuk kedalam tubuh melampaui kadar yang telah di tentukan. Menurut keputusan WHO, standart kadar timbal dalam darah yang telah ditentukan adalah sekitar 15-25  $\mu\text{g}/100\text{ml}$ . Proses masuknya timbal ke dalam tubuh melalui beberapa jalur yaitu makanan dan minuman, udara dan penetrasi pada lapisan kulit. Proses absorpsi timbal pada orang dewasa diperkirakan sebesar 5-51% dari seluruh timbal yang dicerna, sedangkan pada anak-anak mengabsorpsi timbal sebesar 41,5%. Sebagian kecil timbal diekskresikan melalui urin atau feses (Widowati *et al.*, 2008).

Mekanisme toksisitas timbal (Pb) (Wahyu, 2008):

1. Sistem hemapoietik; timbal (Pb) akan menghambat kerja sistem pembentukan hemoglobin (Hb) sehingga dapat menyebabkan anemia.
2. Sistem saraf; dimana Pb bisa menimbulkan kerusakan otak dengan gejala epilepsi, halusinasi, kerusakan otak besar, dan delirium.

3. Sistem urinarian; dimana Pb bisa menyebabkan lesi tubulus proksimal, *loop of henle*, serta menyebabkan aminosiduria.
4. Sistem gastro-intestinal; dimana Pb menyebabkan kolik dan konstipasi.
5. Sistem kardiovaskular; dimana Pb bisa menyebabkan peningkatan permeabilitas pembuluh darah.
6. Sistem reproduksi berpengaruh terutama terhadap gametotoksisitas atau janin belum lahir menjadi peka terhadap Pb. Ibu hamil yang terkontaminasi Pb bisa mengalami keguguran, tidak berkembangnya 21 sel otak embrio, kematian janin waktu lahir, serta hipospermia dan teratospermia pada pria. Seperti yang tampak pada gambar 2 alur perjalanan timbal di lingkungan sehingga berdampak pada kesehatan mahluk hidup.



Gambar 2. Alur pajanan Pb dalam lingkungan

Sumber: <http://mathusen.wordpress.com/2010/01/24/>

## II.2 Probiotik

Sebutan probiotik adalah sebutan yang relatif terbaru, kata ini diperuntukkan untuk kelompok bakteri yang memberikan efek menguntungkan bagi makhluk hidup yakni manusia dan hewan (Sharma *et al.*, 2012). Namun Tidak semua bakteri baik dapat dijadikan sebagai probiotik, salah satu bakteri yang berperan sebagai probiotik adalah BAL. Pada mulanya, bakteri asam laktat terdiri dari 4 genus yaitu *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* dan *Streptococcus*. *International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics* (ISAPP) di tahun 2016 menyebutkan bahwa probiotik merupakan mikroba usus yang bekerja secara selektif dan memberikan manfaat kesehatan. Probiotik termasuk kedalam golongan bakteri asam laktat (BAL) yang merupakan mikroflora alami pada saluran pencernaan (Syngai *et al.*, 2016). Mikroflora normal dalam saluran pencernaan memiliki peranan yang penting dalam proses pencernaan hewan. Berbagai galur bakteri dalam saluran pencernaan mempunyai kemampuan merubah substrat-substrat makanan menjadi metabolit potensial dengan menghasilkan enzim-enzim pencernaan sehingga metabolit-metabolit potensial tersebut dapat dimanfaatkan oleh inangnya (Lisal, 2005; Singh *et al.*, 2010) Probiotik dimasukkan sebagai mikroorganisme hidup dalam makanan untuk meningkatkan kandungan nutrisi dan melindungi usus. Secara klinis, probiotik meningkatkan mikrobioma usus yang berkontribusi terhadap potensi kekebalan tubuh inang. Mereka juga menangkalkan aktivitas patogen di usus (Misra *et al.*, 2019).

Probiotik mampu memproduksi bakteriosin untuk melawan patogen yang memiliki sifat selektif hanya terhadap beberapa strain pathogen. Probiotik memproduksi asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, laktoperoksidase, lipopolisakarida, dan beberapa antimicrobial lainnya. Probiotik juga mampu

menghasilkan sejumlah nutrisi penting dalam sistem imun dan metabolisme inang seperti vitamin B (Asam Pantotenat), pyridoksin, niasin, asam folat, kobalamin, dan biotin serta antioksidan penting seperti vitamin K (Adams, 2009).

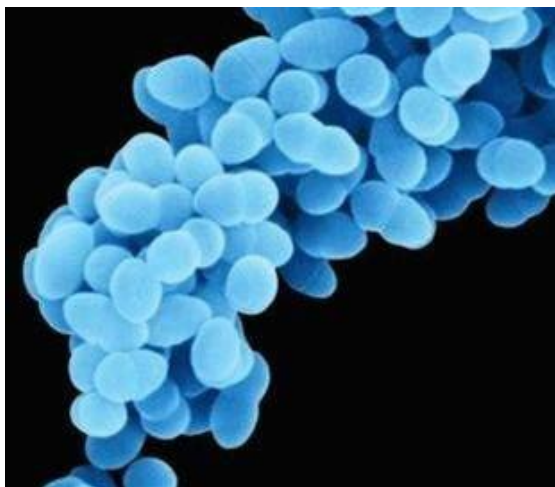
Saat ini probiotik banyak dimanfaatkan dalam berbagai aplikasi industri diantaranya sebagai kultur starter pada industri makanan fermentasi hingga dimanfaatkan sebagai suplemen makanan dan agen biokonversi (Wedajo, 2015). Berdasarkan hal tersebut sehingga menurut Food and Agriculture Organization/World Health Organization (FAO/WHO) (2001), idealnya strain probiotik seharusnya tidak hanya mampu bertahan melewati saluran pencernaan tetapi juga memiliki kemampuan untuk berkembang biak dalam saluran pencernaan, tahan terhadap cairan lambung dan cairan empedu dalam jalur makanan yang memungkinkan untuk bertahan hidup melintasi saluran pencernaan dan terkena paparan empedu. Selain itu probiotik juga harus mampu menempel pada sel epitel usus, mampu membentuk kolonisasi pada saluran pencernaan, mampu menghasilkan zat anti mikroba (bakteriosin), dan memberikan pengaruh yang menguntungkan inangnya. Syarat lainnya adalah tidak bersifat patogen dan aman jika dikonsumsi (Yuniastuti, 2014). Beberapa genus dari bakteri asam laktat (BAL) diantaranya yaitu, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Tetragenococcus*, *Leuconostoc*, dan *Lactococcus*. (Widyastuti, 1999 dalam Romadhon, 2012).

Pada bidang mikrobiologi pangan, genus *Pediococcus* adalah genus yang hubungannya dengan kontaminasi dalam proses fermentasi etanol (bir, anggur, atau bahan bakar etanol), serta penggunaannya sebagai senyawa antimikroba (senyawa penisilin) (Haakensenrt *et al.*, 2009). *Pediococcus* mengerahkan antagonisme terhadap mikroorganisme lainnya, termasuk patogen



enterik, terutama melalui produksi asam laktat dan sekresi bakteriosin dikenal sebagai pediocin. Genus *Pediococcus* termasuk dalam *Streptococaceae*. Tujuh spesies dari genus *pediococcus* secara resmi diakui oleh Komite Internasional Bakteriologi Sistematis diantaranya *Pediococcus damnosus*, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus*, *P. halophilus*, *P. Parvulus*.

*Pediococcus acidilactici* termasuk bakteri gram positif yang berbentuk *coccus* dan selnya tersusun dalam bentuk tetra seperti yang terlihat pada gambar 3. *Pediococcus acidilactici* adalah bakteri homofermentatif yang dapat tumbuh di berbagai tekanan pH, suhu dan osmotik, sehingga mampu menjajah saluran pencernaan. Bakteri ini biasanya berhabitat pada buah-buah fermentasi dan produk sayuran yang bekerja pada saluran pencernaan inangnya (Gupta dan Nevidita, 2017). *Pediococcus acidilactici* adalah anaerob fakultatif dengan sensitivitas yang lebih rendah untuk oksigen. Terdapat enam generasi bakteri penghasil asam laktat umumnya berasosiasi dengan makanan-makanan ternak dan secara kolektif berkontribusi pada proses ensiling alami. Saat ini didasarkan pada sediaan dari strain tunggal dari salah satu dari enam generasi tersebut, yaitu *Pediococcus acidilactici*. Spesies *P. acidilactici* dianggap cocok oleh EFSA Qualified Presumption of Safety (QPS) untuk penilaian keselamatan (EFSA, 2011).



Gambar 3. *Pediococcus acidilactici*

*Pediococcus acidilactici* F-11 merupakan salah satu BAL yang telah digunakan pada fermentasi. Bakteri ini dilaporkan mampu menghasilkan bakteriosin yang mampu menghambat berbagai jenis bakteri pembusuk dan patogen serta mampu meningkatkan kualitas produk. (Kusmawarti *et al.*, 2011). Spesies probiotik *Pediococcus acidilactici* telah ditetapkan dalam acuan keselamatan dalam makan-makan eropa. Hal ini dikarenakan pada penambahan strain *P. acidilactici* pada makan tidak ditemukan adanya baktri merugikan pada makanan (EFSA, 2016).

### **II.3 Bakteri Probiotik Sebagai Agen Bioabsorpsi Logam Berat Timbal (Pb)**

Logam berat seperti Pb, Ag, Au, Hg pada kadar rendah bersifat racun (toksik) terhadap mikroorganisme. Walaupun demikian mikroorganisme mempunyai peran penting dalam mengubah efek racun dari logam berat dengan cara mereduksi ion dari elemen logam berat. Selain itu juga dapat mengubah merkuri dari anorganik menjadi organik melalui bioakumulasi di level tertentu (Madigan *et al.*, 1997; Sumiarsih, 2003).

Bakteri memiliki kemampuan menurunkan konsentrasi logam berat timbal karena bakteri mempunyai daya resistensi terhadap logam berat tersebut. Hal ini berhubungan dengan gen yang terdapat di kromosom, plasmid atau transposom yang mengatur mekanisme tersebut (Zulaika *et al.*, 2012). Bakteri memiliki permukaan sel yang bermuatan negatif karena terbentuk dari berbagai struktur anion sedangkan logam berat adalah ion yang bermuatan positif sehingga dapat terjadi ikatan antara permukaan sel bakteri dan ion logam berat. Bakteri juga dapat mengakumulasi logam berat di dalam sel yang membentuk ikatan antara logam berat dengan suatu protein dalam sel yang disebut metalotionein (Yilaipi, 2013).

Menurut Aminullah (2015) akumulasi logam Pb oleh bakteri berdasarkan posisi logam berat dibagi atas akumulasi ekstraseluler, akumulasi intraseluler, dan penyerapan oleh permukaan sel. Akumulasi ekstraseluler dapat terjadi karena pengikatan ion-ion logam oleh polimer atau polisakarida ekstraseluler yang dihasilkan oleh sel-sel mikroba dan interaksi antara ion-ion logam bermuatan positif dengan sisi reaktif pada permukaan sel yang bermuatan negatif, sedangkan akumulasi intraseluler terjadi karena proses difusi yang tidak membutuhkan aktivitas mikroba secara langsung dimana gen-gen di dalam plasmid yang mengendalikan proses metabolisme tersebut.

Penurunan kadar logam timbal (Pb) dikarenakan adanya bakteri yang mampu mengadsorpsi logam berat pada dinding selnya. Mikroba yang mampu tumbuh dalam media tercemar logam berat mempunyai kemampuan mengakumulasi logam berat dalam dinding selnya. Kemampuan biosorpsi tersebut juga dipengaruhi oleh jenis bakteri. Dinding sel pada bakteri gram positif secara alami membawa muatan negatif karena gugus fosfat dan asam teikoik yang mengikat dan mengatur pergerakan kation melintasi membran. Dengan adanya muatan negatif tersebut, maka sel bakteri dapat menyerap logam kationik bermuatan positif (misalnya Pb).

Bakteri yang resisten terhadap logam disebabkan kemampuan untuk mendetoksifikasi pengaruh logam berat dengan adanya protein atau materi granuler seperti polifosfat di dalam sel yang mampu mengikat Pb. Reaksi metabolisme mikrobiologis untuk menguraikan senyawa organik merupakan suatu reaksi oksidasi-reduksi yang dilakukan oleh mikroba. Sel bakteri banyak mengandung muatan negatif yang terletak pada dinding selnya, seperti fosforofil ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), karboksil ( $\text{COO}^-$ ), dan hidroksil ( $\text{OH}^-$ ), sehingga akan terjadi interaksi ion logam

dengan muatan negatif tersebut (Shurti, 2012). Mekanisme biosorpsi logam berat secara alami mempunyai dua mekanisme yang terjadi secara stimulan dan bolak balik, dimana pertama-tama terjadi pertukaran ion logam Pb yang berada disekitar permukaan sel dengan ion monovalen maupun divalen (misal Na), dan yang terakhir adalah pembentukan senyawa kompleks antara ion logam Pb dengan gugus fungsional yang terdapat dalam sel, misalnya gugus karbonil (CO) dan gugus hidroksikarbonil (HCO) (khoiroh, 2014). Hal ini juga di jelaskan dalam jurnal (Monachese *et al.*, 2012). Mekanisme utama sel bakteri dalam mengikat logam: (i) reaksi pertukaran ion dengan peptidoglikan dan asam teikoik, (ii) presipitasi melalui reaksi nukleasi, dan (iii) kompleksasi dengan nitrogen dan oksigen.

BAL telah diketahui mampu mereduksi logam berat, sianotoksin dan mikotoksin dari dari larutan secara in vitro (Zoghi *at al.*, 2014). BAL yang diisolasi dari berbagai makanan Jepang dan usus sapi memiliki berbagai kemampuan bioabsorpsi Cadmium (II), Timbal (II), Arsen (III), dan merkuri (II) Didapatkan bahwa protein permukaan sel bakteri yang digunakan mampu mengikat logam berat, sehingga dari 11 strain BAL yang di ujikan memperlihatkan adanya penurunan secara signifikan setiap kadar logam berat (Kinoshita *et al.*, 2013). Sehingga BAL dapat membantu detoksifikasi orang yang terpapar logam berat.

Mekanisme yang berbeda terlihat dalam bioremediasi Pb (II). Mekanisme yang digunakan bakteri probiotik adalah biosorpsi. Biosorpsi adalah proses di mana bahan biologis mengakumulasi logam berat di permukaannya dan didasarkan pada kapasitas pengikatan logamnya dari berbagai bahan biologis. Proses pasif dan non-metabolik dimana mikroorganisme secara pasif berkonsentrasi dan mengikat konstituen ke dalam struktur selulernya. Biosorpsi logam berat merupakan fenomena yang melibatkan mekanisme seperti pertukaran ion, adsorpsi, dan mikropresipitasi (Yoga *et al.*, 2017).

Pertukaran ion adalah salah satu mekanisme yang digunakan oleh BAL dalam biosorpsi logam. Mekanisme ini dipengaruhi oleh pH, menurunkan pH akan semakin banyak biosorpsi karena peningkatan situs pengikatan bermuatan negatif pada permukaan sel. Biosorpsi merupakan fenomena permukaan, hal ini juga dipengaruhi oleh biomassa karena peningkatan biomassa berarti lebih banyak tempat pengikatan tersedia untuk menghilangkan logam berat. (Yoga *et al.*, 2017).

*Pediococcus acidilactici* merupakan salah satu bakteri yang resisten terhadap logam berat Pb dan Cd hal ini di lihat dari nilai *Minimal Inhibitory Concentrations* (MIC). MIC didefinisikan sebagai konsentrasi minimum logam berat dimana mikroba tumbuh sempurna. Untuk menilai kemampuan bakteri dalam mereduksi logam berat dapat dilihat dari konsentrasi hambat minimum, *Pediococcus* menunjukkan nilai MIC yang tinggi untuk keduanya masing-masing Cd dan Pb (150 dan 1800 ppm) masing-masing ( Jaafar, 2020). Bhakta et al (2012) membuktikan dari 6 isolat salah satunya *Pediococcus acidilactici* memiliki toleransi, pada konsentrasi tinggi Pb <1000.