

**ISOLASI DAN UJI RESISTENSI BAKTERI TERHADAP LOGAM  
KADMIUM (Cd) DARI LAHAN TAMBANG EMAS POBOYA PALU**

**OLEH :**

**EKA UMMI RAHAYU**

**H411 16 022**



**DEPARTEMEN BIOLOGI**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2020**

**ISOLASI DAN UJI RESISTENSI BAKTERI TERHADAP LOGAM  
KADMIUM (Cd) DARI LAHAN TAMBANG EMAS POBOYA PALU**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar*

*Sarjana Sains pada Departemen Biologi*

*Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam*

*Universitas Hasanuddin*

**EKA UMMI RAHAYU**

**H411 16 022**

**DEPARTEMEN BIOLOGI**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2020**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**ISOLASI DAN UJI RESISTENSI BAKTERI TERHADAP LOGAM  
KADMIUM (Cd) DARI LAHAN TAMBANG EMAS POBOYA PALU**

**Disusun dan diajukan oleh:**

**EKA UMMI RAHAYU**

**H411 16 022**

**Disetujui oleh**

**Pembimbing Utama**



**Dr. Fahrudin, M.Si**  
**NIP. 196509015 199103 1 002**

**Pembimbing Pertama**



**Dr. Syahrudin Kasim, S.Si, M.Si**  
**NIP. 19690705 199703 1 001**

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatu*

*Alhamdulillah rabbil'alamin* segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat, karunia, nikmat serta hidayah dari-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini, Sholawat dan salam tak lupa kita haturkan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW, sosok pemimpin dan suri tauladan yang patut diidolakan, yang telah mengangkat derajat umat manusia dari peradaban *Jahiliyah* menuju peradaban yang berilmu pengetahuan, dan juga sebagai *Rahmatan Lil'alamiin*.

Penulis skripsi yang berjudul “Isolasi dan Uji Resistensi Bakteri Terhadap Logam Kadmium (Cd) dari Lahan Tambang Emas Poboya, Palu” adalah salah satu syarat ujian akhir guna memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang sedalam-dalamnya penulis haturkan kepada kedua orang tua tercinta Supri dan Fatmawati yang telah merawat, membesarkan penulis serta seluruh kasih sayang, cinta, perhatian, Do'a, dukungan dan ketulusan yang diberikan dari mereka untuk penulis sejak lahir hingga saat ini. Tak lupa penulis sampaikan rasa terima kasih yang sama kepada suami tercinta Jamil Djibran, dan juga kepada Abdul Muthalib dan Hj. Waru ( Kakek & Nenek), Zahra Rahmadani, Hendra Djibran, Ani Djibran dan Jamila Djibran (Kakak Ipar), yang selalu memberikan semangat serta support, perhatian, kebahagiaan dan materi selama penulis menduduki bangku perkuliahan sampai menyusun skripsi ini, serta terima kasih pula kepada seluruh keluarga yang senantiasa mendukung penulis.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis haturkan pula kepada Bapak Dr. Fahrudin, M.Si selaku Pembimbing Utama, dan Bapak Dr. Syahrudin Kasim, S.Si, M.Si, selaku Pembimbing Pertama, yang berkenan meluangkan waktu, tenaga, dan pikirannya, maupun motivasi, bimbingan, dorongan, serta semangat yang diberikan sehingga membantu penulis selama penelitian hingga selesainya penulisan skripsi ini. Tanpa beliau-beliau penulis tidak akan dapat menyelesaikan skripsi ini. Sekali lagi terima kasih.

Pada kesempatan ini, penulis juga tak lupa mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

- ❖ Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, beserta staf pegawainya.
- ❖ Ibu Dr. Nur Haedar, M.Si. selaku Ketua Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.
- ❖ Bapak Dr. Muhtadin Asnady S, M.Si selaku Penasehat Akademik (PA), yang senantiasa memberikan arahan kepada penulis sejak memulai studinya sampai selesai
- ❖ Tim Penguji Ujian Sidang Sarjana Bapak Dr. Muhtadin Asnady S, M.Si., bapak Drs. Ambeng, M.Si., bapak Dr. Fahrudin, M.Si., dan bapak Dr. Syahrudin Kasim, S.Si, M.Si.
- ❖ Bapak/Ibu Dosen dan pegawai Departemen Biologi yang senantiasa membantu penulis sehingga dapat mencapai gelar sarjana.
- ❖ Sahabatku, Besse Arma, Andi Hasri T.W yang selalu mensupport, mengingatkan, dan memberikan semangat dalam menyelesaikan skripsi ini serta

sepupuku Nurfadillah yang senantiasa membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi

- ❖ Kepada semua teman-teman seperjuangan Biologi 2016, terima kasih untuk persahabatan, kebersamaan, kebahagiaan yang telah kita lalui bersama, penulis tidak akan melupakannya.
- ❖ Kepada Kanda Fuad Gani, S.Si dan Kanda Heriadi S.Si, penulis haturkan banyak terima kasih atas bantuan dan nasehatnya selama penulis melaksanakan penelitian hingga selesai. Terima kasih kak.
- ❖ Semua pihak yang tidak sempat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan penulis mendatang. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna bagi kita semua, bagi perkembangan dunia sains dan teknologi. Sekali lagi terima kasih.

Makassar, Maret 2020

Penulis

## **ABSTRAK**

Telah dilakukan penelitian “Isolasi dan Uji Resistensi Bakteri Terhadap Logam Kadmium (Cd) dari Lahan Tambang Emas Poboya, Palu. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri resisten terhadap logam kadmium, mengetahui kemampuan resistensi isolat bakteri pada beberapa konsentrasi kadmium (Cd). Hasil isolasi diperoleh 4 isolat bakteri resisten kadmium (Cd). Uji resistensi isolat bakteri terhadap beberapa konsentrasi kadmium menunjukkan, 2 isolat termasuk bakteri resisten pada konsentrasi 20 ppm yaitu EK2 dan EK4 yang mampu menurunkan kadar kadmium sebesar 0,0853 ppm (supernatan), dan 0,0631 ppm (natan/pelet) pada isolat bakteri EK2 kemudian isolat bakteri EK4 mampu menurunkan konsentrasi kadmium (Cd) sebesar 0,0813 ppm (supernatan), dan 0,0718 ppm pada bagian natan/ pelet.

Kata kunci : Kadmium, Bakteri Resistensi, Uji Resistensi, Poboya

## **ABSTRACT**

A study about “Isolation and Testing Resistant of Bacteria to Metal Cadmium (Cd) from Land Poboya Gold Mine, Palu” has been done. The principal aim of this study was to isolate cadmium resistant bacteria, and knowing the resistance of the bacterial isolates to some variant concentration of cadmium (Cd). The result of isolates derived 4 isolates of cadmium (Cd) resistant bacteria. The testing of resistance of the isolates to some concentration of cadmium showed that 2 isolates belonged to resistant bacteria at concentration 20 ppm, they are EK2 and EK4 were able to reduce level of cadmium 0,0853 ppm (supernatant), and 0,0631 ppm (natan/pellet) of the bacterial isolate EK2 then the bacterial isolate EK4 were able to reduce level of cadmium (Cd) 0,0813 ppm (supernatant), and 0,0718 ppm on natan/ pellet.

Keywords : Cadmium, Resistant Bacteria, Testing Resistance, Poboya

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>iii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
I.1 Latar Belakang .....	<b>1</b>
I.2 Tujuan Penelitian .....	<b>5</b>
I.3 Manfaat Penelitian .....	<b>5</b>
I.4 Waktu dan Tempat Penelitian .....	<b>5</b>
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>6</b>
II.1 Dampak Pertambangan Emas .....	<b>6</b>
II.2 Pencemaran Tanah.....	<b>9</b>
II.3 Pencemaran Logam Berat.....	<b>12</b>
II.3.1 Kadmium(Cd).....	<b>14</b>
II.3.2 Efek Keracunan Kadmium(Cd).....	<b>16</b>
II.4 Jenis Bakteri dan Resistensinya Terhadap Logam Berat .....	<b>18</b>

<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>19</b>
III.1 Alat.....	22
III.2 Bahan.....	22
III.3 Metode Kerja.....	22
III.3.1 Sterilisasi Alat .....	22
III.4 Preparasi Sampel.....	22
III.5 Pembuatan Kultur Cair.....	23
III.6 Analisis Logam Berat Kadmium (Cd) .....	23
III.7 Isolasi dan Seleksi .....	24
III.7.1 Isolasi Pada Media NA ( <i>Nutrient Agar</i> ).....	24
III.7.2 Proses Pemurnian Isolat Bakteri .....	24
III.7.3 Karakterisasi Isolat Bakteri.....	25
III.7.3.1 Pengamatan Morfologi Bakteri.....	25
III.7.3.2 Pewarnaan Gram.....	25
III.8 Uji Resistensi Isolat Terhadap Kadmium (Cd) .....	25
III.9 Analisis Konsentrasi Akhir Kadmium (Cd).....	26
III.10 Analisis Data .....	26
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>27</b>
IV.1 Isolasi dan Seleksi Bakteri Resisten Kadmium (Cd).....	27
IV.2 Karakterisasi Bakteri Secara Makroskopis dan Mikroskopis .....	29
IV.2.1 Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri .....	29
IV.2.2 Pewarnaan Gram .....	31
IV.3 Uji Resistensi Isolat Terhadap Kadmium (Cd).....	34
IV.4 Analisis Konsentrasi Akhir Kadmium (Cd).....	35

<b>BAB V PENUTUP.....</b>	<b>38</b>
V.1 Kesimpulan .....	38
V.2 Saran.....	38
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>39</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>42</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Karakteristik Morfologi Koloni Isolat Bakteri Resisten Kadmium .....	30
2. Karakteristik Isolat Berdasarkan Pengecatan Gram.....	32
3. Nilai OD ( <i>Optical Density</i> ) pertumbuhan isolat bakteri pada media <i>Nutrient Broth</i> (NB) dengan variasi konsentrasi kadmium (Cd). .....	53
4. Analisis konsentrasi akhir kadmium (Cd) pada isolat bakteri EK2 dan EK4 pada media <i>Nutrient Broth</i> (NB) dengan konsentrasi awal 20 ppm .....	36

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Pertumbuhan Koloni Bakteri Pada Media <i>Nutrient Agar</i> (NA).....	28
2. Pertumbuhan Koloni Isolat Bakteri EK1, EK2, EK3 dan EK4 .....	29
3. Pengecatan Gram pada Isolat EK1, EK2, EK3 dan EK4 Bersifat Gram Positif (+).....	33
4. Nilai OD ( <i>Optical Density</i> ) pertumbuhan isolat bakteri pada media <i>Nutrient Broth</i> (NB) dengan variasi konsentrasi kadmium (Cd). .....	35
5. Analisis konsentrasi akhir kadmium (Cd) pada isolat bakteri EK2 dan EK4 pada media <i>Nutrient Broth</i> (NB) dengan konsentrasi awal 20 ppm .....	36

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Skema Kerja Isolasi dan Seleksi Bakteri Resisten Kadmium .....	42
2. Skema Kerja Pengecatan Gram .....	43
3. Skema Kerja Uji Resistensi Isolat Bakteri pada Beberapa Konsentrasi Kadmium (Cd).....	44
4. Skema Kerja Analisis Konsentrasi Akhir Kadmium (Cd) .....	45
5. Gambar Pertumbuhan Bakteri Pada Media Kultur Cair.....	46
6. Gambar Hasil Isolasi Bakteri Resisten Kadmium (Cd).....	47
7. Gambar Hasil Pemurnian I Isolat Bakteri Resisten Kadmium.....	48
8. Gambar Hasil Pemurnian II Isolat Bakteri Resisten Kadmium .....	49
9. Gambar Stok Isolat Bakteri Resisten Kadmium (Cd) .....	50
10. Gambar Hasil Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Resisten Kadmium (Cd).....	51
11. Gambar Hasil Pengecatan Gram Bakteri Resisten Kadmium dengan Pembesaran 100x10.....	52
12. Gambar dan Tabel Uji Resistensi Isolat Bakteri Resisten Kadmium pada Beberapa Konsentrasi Kadmium (Cd) .....	53
13. Gambar Analisis Konsentrasi Akhir Kadmium (Cd) pada AAS.....	54
14. Foto Prosedur Kerja.....	55

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

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

Poboya merupakan salah satu kelurahan yang terletak di Kecamatan Palu Timur, Kota Palu, Propinsi Sulawesi Tengah yang berada di bagian timur dari wilayah kecamatan tersebut. Kelurahan ini terletak sekitar  $\pm 7$  km dari pusat kecamatan. Wilayah kelurahan Poboya dari segi topografi merupakan dataran tinggi, dengan ketinggian dari permukaan laut  $\pm 200$  m. Pertambangan emas Poboya salah satu pertambangan yang berawal dari masuknya beberapa penambang yang berasal dari luar kota Palu dengan membawa serta teknologi yaitu mesin tromol untuk memanen emas. Mesin tromol menjadikan proses penambangan jauh lebih cepat, akibatnya proses penambangan emas Poboya berlangsung dengan sangat massif dan kian tak terkendali (Ruslan, 2010).

Aktifitas penambangan yang tidak terkontrol tersebut, telah mengundang kekhawatiran banyak pihak, satu persatu persoalan mulai timbul sebagai akibat dari aktifitas tersebut. Kerusakan dan pencemaran lingkungan merupakan masalah terdepan yang muncul, kerusakan areal hutan dan sungai akibat penggalian, serta penggunaan bahan kimia berbahaya (Ruslan, 2010).

Pertambangan menghasilkan limbah yang secara umum dapat dibedakan menjadi tiga jenis yakni: limbah cair (air), limbah padat dan limbah dalam bentuk partikulat yang ada di udara. Limbah pertambangan ini sangat berbahaya dan dapat menyebabkan kerusakan lingkungan, akibat dari pembuangan limbah yang tidak teratur. Limbah cair maupun limbah padat akan bertambah bila produksi emas meningkat. Mesin tromol digunakan sebagai pemisah material, pembuangan limbah

yang tidak terkontrol akan berdampak buruk bagi penambang maupun bagi masyarakat sekitar. Limbah ini pun akan semakin banyak dibuang pada daerah-daerah resapan air seperti tanah (Tuaputy, dkk., 2014).

Penambangan emas menimbulkan dampak berupa kerusakan lingkungan yakni tercemarnya air sungai akibat pembuangan limbah hasil pengolahan emas, dan lahan sekitar penambangan, yang berupa pencemaran logam berat. Unsur logam ditemukan secara luas diseluruh permukaan bumi. Umumnya logam-logam di alam ditemukan dalam bentuk persenyawaan dengan unsur lain, dan sangat jarang yang ditemukan dalam bentuk elemen tunggal. Sebagai contoh: cinnabar (HgS), anglesite (PbSO<sub>4</sub>), cemsrite (PbCO<sub>3</sub>) dan pirit (FeS). Dalam air, logam pada umumnya berada dalam bentuk ion, baik sebagai pasangan ion ataupun dalam bentuk ion tunggal (Saraswati dan Yuniarti, 2014).

Logam berat banyak digunakan dalam industri, seperti Hg, Pb, Cd, Cu dan Zn sering digunakan dalam industri pabrik tekstil, cat, kimia, pestisida dan limbah dari kegiatan manusia. Logam berat dapat menimbulkan efek khusus pada makhluk hidup bila masuk dalam tubuh dalam jumlah yang berlebihan. Salah satu jenis logam berat yang berbahaya yaitu kadmium (Cd) (Palar, 2004). Logam kadmium akan mengalami proses biotransformasi dan bioakumulasi dalam organisme hidup (tumbuhan, hewan dan manusia). Logam ini masuk ke dalam tubuh bersama makanan yang dikonsumsi, terutama makanan yang telah terkontaminasi oleh logam Cd dan atau persenyawaannya (Nur, 2013).

Dalam tubuh biota perairan jumlah logam yang terakumulasi akan terus mengalami peningkatan seiring dengan aktivitas manusia yang semakin bertambah. Di samping itu, tingkatan biota dalam sistem rantai makanan turut menentukan

jumlah Cd yang terakumulasi. Di mana pada biota yang lebih tinggi stratanya akan ditemukan akumulasi Cd yang lebih banyak, sedangkan pada biota top level merupakan tempat akumulasi paling besar. Bila jumlah Cd yang masuk tersebut melebihi ambang batas maka biota dari suatu level atau strata tersebut akan mengalami kematian dan bahkan kemusnahan (Nur, 2013).

Menurut Sutrisno dan Kuntastyuti (2015), sumber utama pencemaran logam kadmium (Cd) yaitu pada pembuangan limbah industri karena mengandung unsur logam berat paling tinggi dibanding sumber pencemar lainnya. Selain itu, sumber pencemaran kadmium lainnya adalah pemukiman penduduk dan aktivitas manusia yang menggunakan dan menghasilkan produk industri. Kontribusi kontaminasi sampah rumah tangga maupun sampah industri cukup besar karena pengelolaannya belum dilakukan secara baik sesuai standar pengelolaan limbah

Salah satu upaya penanganan pencemaran logam berat pada tanah adalah menggunakan mikroorganisme yaitu dengan bioremediasi. Bioremediasi mensyaratkan adanya agen biologis dalam proses pengembalian kondisi tanah tersebut dari akumulasi logam berat dalam tanah. Agen inilah yang akan bekerja dalam mendegradasi logam berat tersebut. Metode ini dipilih karena memiliki keunggulan yaitu rendahnya biaya instalasi awal dan efektifitas biaya yang tinggi dalam perawatannya. Hal tersebut sangat kontras dengan penanganan metode fisika-kimia. Konsorsium bakteri baik yang terbentuk alami maupun buatan memiliki kelebihan yaitu memiliki fungsi metabolisme yang saling melengkapi dalam suatu ekosistem. Sehingga beberapa metode penelitian dalam mendegradasi residu polutan digunakan konsorsium bakteri (Sahlan, dkk., 2014).

Pendekatan secara mikrobiologis dengan menggunakan bakteri merupakan alternatif yang dapat dilakukan untuk masa yang akan datang dan merupakan rekayasa yang cukup menjanjikan, sebab secara teknis maupun ekonomis sangat menguntungkan. Beberapa langkah penanganan untuk mengurangi dampak yang ditimbulkan oleh pencemaran tanah yaitu Remediasi, Bioremediasi dan Fitoremediasi. Berbagai upaya telah dilakukan untuk isolasi logam berat tahan strain bakteri, dan ditemukan *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* untuk menurunkan ion kadmium ( $Cd^{2+}$ ) dari sel permukaan (Wijayanti dan Lestari, 2017).

Mekanisme toleransi mikroba (*Aspergillus niger*, *Penicilium spinulosum* dan *Verticillium psalliotae*) terhadap logam berat dengan cara kompleksasi meliputi produksi polisakarida ekstraselular yang memiliki sifat-sifat anion dan berfungsi sebagai bioakumulator yang efisien, produksi metabolit organik yang memiliki sifat pengkhalat dan membentuk kompleks dengan logam presipitasi, serta kristalisasi ekstraselular oleh bakteri pereduksi sulfat sehingga membentuk deposit sulfida yang kaya akan logam, dan pembentukan metalothionin (protein kaya sistein dalam sel dapat mengikat logam) yang berfungsi untuk detoksifikasi, penyimpanan, dan regulasi ion logam dalam sel (Saraswati dan Yuniarti, 2014).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas konsorsium bakteri indigen dalam bioremediasi limbah cair industri terkontaminasi kadmium. Oleh karena itu maka perlu dilakukan isolasi dan uji resistensi bakteri terhadap logam berat kadmium (Cd) dari Lahan Tambang Emas Poboya, Palu untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mengakumulasi logam berat kadmium (Cd) pada tanah tambang yang tercemar.

## **I.2 Tujuan Penelitian**

1. Untuk mendapatkan isolat bakteri resisten logam berat kadmium (Cd) pada sampel tanah dari Lahan Tambang Emas Poboya, Palu.
2. Untuk mengetahui kemampuan resistensi bakteri terhadap akumulasi logam berat kadmium (Cd) pada berbagai konsentrasi.

## **I.3 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi mengenai bakteri resistensi kadmium (Cd) serta mengetahui kemampuan dalam mengakumulasi logam berat kadmium (Cd) yang terdapat pada Lahan Tambang Emas Poboya, Palu.

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

Penelitian ini di lakukan pada bulan Oktober 2019 sampai selesai, di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar, Sulawesi Selatan.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1 Dampak Pertambangan Emas**

Pertambahan jumlah penduduk serta peningkatan jumlah kegiatan pembangunan yang mengakibatkan terjadinya pergeseran pola penggunaan lahan di Indonesia. Sering dijumpai pola penggunaan lahan yang tidak sesuai dengan kaidah penataan ruang dan kemampuan serta kesesuaian lahan, sehingga timbul masalah seperti lahan kritis, hilangnya lahan pertanian yang subur, dan terjadinya pencemaran tanah. Pertumbuhan ekonomi dan industri yang menyebabkan terjadinya kecenderungan kepada perubahan siklus alami, terutama mengenai perubahan pemanfaatan sungai serta kegiatan lain yang dapat mengurangi produktivitas biologis. (Muslimah,2015).

Menurut (Nur, 2013), dalam jurnalnya bahwa seiring dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi yang semakin pesat, manusia telah banyak menciptakan berbagai macam industri yang bertujuan untuk memenuhi kebutuhannya. Selain memberikan dampak yang menguntungkan juga memberikan dampak yang kurang menguntungkan seperti dapat menyebabkan pencemaran lingkungan. Jumlah aliran limbah cair yang berasal dari industri sangat bervariasi tergantung dari jenis dan besar kecilnya industri, pengawasan pada proses industri, derajat penggunaan air, dan derajat pengolahan limbah cair yang ada.

Kota Palu adalah salah satu kota yang memiliki persoalan yang terkait dengan pertambangan rakyat. Kota palu mempunyai potensi mineral emas khususnya kelurahan Poboya, Kecamatan Palu Timur, Kota Palu. Kelurahan Poboya

merupakan daerah tambang emas dengan hasil yang melimpah yang omzetnya mencapai Rp. 150 miliar perbulan, sehingga hal ini menarik perhatian tidak hanya masyarakat setempat tetapi juga masyarakat di luar Kota Palu untuk melakukan pertambangan. Poboya telah menjadi areal aktivitas pertambangan emas yang tak terkendali (Ruslan, 2010).

Setelah lebih dari setahun emas Poboya di olah, kejadian signifikan adalah perubahan bentang alam, konflik tanah dan ancaman pencemaran. Di samping itu, berkurangnya debit air sungai Poboya akibat penggunaan air oleh mesin-mesin pengolahan emas telah mengorbankan sumber-sumber pendapatan dan mata pencaharian masyarakat. Aktifitas tambang rakyat yang sulit dikontrol telah mengakibatkan kerusakan dan pencemaran lingkungan yang sangat serius. Tromol dan Tong adalah peralatan yang digunakan untuk memisahkan butiran emas dari pasir, tanah, dan bebatuan, dalam pengoperasiannya tromol menggunakan bahan kimia berbahaya yang menjadi penyebab utama rusak dan tercemarnya lingkungan di sekitar areal pertambangan (Ruslan, 2010).

Bahaya akibat kontaminasi logam berat di lingkungan merupakan isu menonjol dalam beberapa tahun terakhir. Logam berat termasuk salah satu bahan pencemar yang bersifat toksik bagi makhluk hidup dan dapat mengakibatkan penurunan kualitas lingkungan. Pencemaran oleh logam berat biasanya berasal dari buangan limbah berbagai macam industri seperti industri logam. Kadmium (Cd) termasuk logam berat yang sangat berbahaya, Keberadaan logam kadmium (Cd) di lingkungan dapat mengganggu kehidupan organisme karena sifat toksik yang dimilikinya. Logam berat yang terakumulasi di dalam tanah dapat mempengaruhi aktivitas mikroba dan berisiko terhadap kesehatan manusia karena logam tersebut

masuk ke dalam rantai makanan dan dapat terakumulasi pada komponen didalamnya (Arinda, dkk., 2012)

Sisa hasil industri pelapisan logam yang mengandung zat-zat seperti tembaga, timbal, perak, khrom, arsen dan kadmium adalah limbah cair yang sangat beracun terhadap mikroorganisme. Peresapannya ke dalam tanah akan mengakibatkan kematian bagi mikroorganisme yang memiliki fungsi sangat penting terhadap kesuburan tanah dan dalam hal ini pun menyebabkan pencemaran tanah. Pencemaran tanah juga dapat memberikan dampak terhadap ekosistem. Perubahan kimiawi tanah yang radikal dapat timbul dari adanya bahan kimia beracun/berbahaya bahkan pada dosis yang rendah sekalipun. Akibatnya bahkan dapat memusnahkan beberapa spesies primer dari rantai makanan, yang dapat memberi akibat yang besar terhadap predator atau tingkatan lain dari rantai makanan tersebut. Bahkan jika efek kimia pada bentuk kehidupan terbawah tersebut rendah, bagian bawah piramida makanan dapat menelan bahan kimia asing yang lama-kelamaan akan terkonsentrasi pada makhluk-makhluk penghuni piramida atas (Muslimah, 2015).

Kegiatan pembangunan yang semakin meningkat mengandung resiko menimbulkan pencemaran atau kerusakan lingkungan hidup sehingga fungsi ekosistem menjadi terganggu dan tidak berfungsi sesuai peruntukannya. Dengan adanya pencemaran, maka lingkungan yang ada di sekitarnya, baik lingkungan abiotik, biotik dan lingkungan sosial akan terganggu peruntukan dan fungsinya (Puspitasari, 2009).

Menurut (Muslimah, 2015), bahwa zat atau bahan yang dapat mengakibatkan pencemaran disebut polutan. Syarat-syarat suatu zat disebut polutan bila

keberadaannya dapat menyebabkan kerugian terhadap makhluk hidup. Contohnya, karbon dioksida dengan kadar 0,033% di udara berfaedah bagi tumbuhan, tetapi bila lebih tinggi dari 0,033% dapat memberikan efek merusak. Suatu zat dapat disebut polutan apabila :

1. Jumlahnya melebihi jumlah normal dan diatas nilai ambang batas (NAB)
2. Berada pada waktu yang tidak tepat.
3. Berada di tempat yang tidak tepat.

## **II.2 Pencemaran Tanah**

Tanah merupakan bagian penting dalam menunjang kehidupan makhluk hidup di muka bumi. Ketika suatu zat berbahaya/beracun telah mencemari permukaan tanah, maka ia dapat menguap, tersapu air hujan dan atau masuk ke dalam tanah. Pencemaran yang masuk ke dalam tanah kemudian terendap sebagai zat kimia beracun di tanah. Zat beracun di tanah tersebut dapat berdampak langsung kepada manusia ketika bersentuhan atau dapat mencemari air tanah dan udara di atasnya. Pencemaran tanah bisa disebabkan limbah domestik, limbah industri, dan limbah pertanian. Padatan, lumpur, bubur yang berasal dari proses pengolahan adalah limbah padat hasil buangan industry (Muslimah, 2015).

Di dalam tanah, pada umumnya kandungan logam berat secara alamiah sangat rendah, kecuali tanah tersebut merupakan daerah pertambangan atau tanah tersebut sudah tercemar (Nur, 2013). Air limbah Industri merupakan sumber pencemaran yang sangat potensial. Pada konsentrasi yang tinggi, limbah tersebut menyebabkan kontaminasi bakteriologis serta beban nutrien yang berlebihan (*euthrophication*). Limbah industri anorganik lebih sulit untuk dikontrol dan mempunyai potensi bahaya yang lebih besar. Industri kimia berbahaya

mengeluarkan limbah berbahaya yang mengandung senyawa yang bersifat racun (*toxic material*) serta logam berat yang bersifat toksik. Air limbah yang berasal dari industri sangat bervariasi tergantung dari jenis industrinya. Industri tersebut selain menghasilkan produk yang bermanfaat, juga menghasilkan produk samping berupa limbah yang berbahaya dan beracun. Limbah beracun yang dihasilkan industri antara lain dapat berupa logam berat (Said, 2010).

Adanya reaksi kimia yang menghasilkan gas tertentu menyebabkan penimbunan limbah padat ini busuk selain itu pencemaran tanah juga menyebabkan timbulnya bau di sekitarnya. Karena tertimbunnya limbah ini dalam jangka waktu lama menyebabkan permukaan tanah menjadi rusak dan air yang meresap ke dalam tanah terkontaminasi bakteri tertentu dan berakibat turunnya kualitas air tanah pada musim kemarau oleh karena telah terjadinya pencemaran tanah (Muslimah, 2015).

Menurut Peraturan Pemerintah RI No. 150 tahun 2000 tentang Pengendalian kerusakan tanah untuk produksi bio massa: “Tanah adalah salah satu komponen lahan berupa lapisan teratas kerak bumi yang terdiri dari bahan mineral dan bahan organik serta mempunyai sifat fisik, kimia, biologi, dan mempunyai kemampuan menunjang kehidupan manusia dan makhluk hidup lainnya. Tetapi apa yang terjadi, akibat kegiatan manusia, banyak terjadi kerusakan tanah. Di dalam PP No. 150 th. 2000 di sebutkan bahwa “Kerusakan tanah untuk produksi biomassa adalah berubahnya sifat dasar tanah yang melampaui kriteria baku kerusakan tanah” (Muslimah, 2015).

Pencemar tanah mempunyai hubungan erat dengan pencemaran udara dan pencemaran air. Sumber pencemar udara dan sumber pencemar air pada umumnya juga merupakan sumber pencemar tanah. Sebagai contoh gas-gas oksida karbon,

oksida nitrogen, oksida belerang yang menjadi bahan pencemar udara yang larut dalam air hujan dan turun ke tanah dapat menyebabkan terjadinya hujan asam sehingga menimbulkan terjadinya pencemaran pada tanah. Air permukaan tanah yang mengandung bahan pencemar misalnya tercemari zat radioaktif, logam berat dalam limbah industri, sampah rumah tangga, limbah rumah sakit, sisa-sisa pupuk dan pestisida dari daerah pertanian, limbah deterjen, akhirnya juga dapat menyebabkan terjadinya pencemaran pada tanah daerah tempat air permukaan ataupun tanah daerah yang dilalui air permukaan tanah yang tercemar tersebut (Muslimah, 2015).

Kadmium masuk kedalam *freshwater* dari sumber yang berasal dari industri. Air sungai dan irigasi untuk pertanian yang mengandung kadmium akan terjadi penumpukan pada sedimen dan Lumpur. Kadmium dalam tanah bersumber dari alam dan sumber antropogenik, yang berasal dari alam ditemukan dalam batuan atau material lain seperti *glacial* dan *alluvium*. Kadmium dari tanah yang berasal dari sumber antropogenik dapat berupa endapan penggunaan pupuk dan limbah. Sebagian besar kadmium dalam tanah berpengaruh pada pH, larutan material organik, logam yang mengandung oksida, tanah liat dan zat organik maupun anorganik. Rata-rata kadar kadmium alamiah dikerak bumi sebesar 0,1 - 0,5 ppm (Sudarmaji dkk,2006).

Umumnya Kadmium terdapat dalam kombinasi dengan elemen lain seperti Oksigen (Kadmium Oxide), Clorine (Kadmium Chloride) atau belerang (Kadmium Sulfide). Kebanyakan Kadmium (Cd) merupakan produk samping dari pengecoran seng, timah atau tembaga Kadmium yang banyak digunakan di berbagai industri, terutama elektroplating logam, pigmen, baterai dan plastik. Ada 4 logam yang

berbahaya pada manusia yaitu Cadmium (Cd), timbal (Pb), merkuri (Hg) dan besi (Fe) (Indirawati, 2017).

Komponen-komponen bahan pencemar yang diperoleh dari sumber-sumber bahan pencemar tersebut di atas antara lain berupa (Muslimah, 2015) :

- a) Senyawa organik yang dapat membusuk karena diuraikan oleh mikroorganisme, seperti sisa-sisa makanan, daun, tumbuh-tumbuhan dan hewan yang mati.
- b) Senyawa organik dan senyawa anorganik yang tidak dapat dimusnahkan/diuraikan oleh mikroorganisme seperti plastik, serat, keramik, kaleng-kaleng dan bekas bahan bangunan, menyebabkan tanah menjadi kurang subur.
- c) Pencemar berupa logam-logam berat yang dihasilkan dari limbah industri seperti Hg, Zn, Pb, Cd dapat mencemari tanah.

### **II.3 Pencemaran Logam Berat**

Logam berasal dari kerak bumi yang berupa bahan-bahan murni, kompleks organik dan anorganik, dan lain-lain. Logam mula-mula diambil dari pertambangan di bawah tanah (kerak bumi), yang kemudian dicairkan dan dimurnikan dalam pabrik menjadi logam-logam murni. Dalam proses pemurnian logam tersebut yaitu dari pencairan sampai menjadi logam, sebagian dari prosesnya terbuang ke dalam lingkungan. Tersebar nya logam dalam lingkungan dan di udara karena proses digunakannya logam tersebut pada suhu yang tinggi. Misalnya, penggunaan batu bara dan minyak bumi untuk pembangkit tenaga listrik, proses industri, peleburan logam, pemurnian logam, pembakaran sampah, industri semen, dan pada proses tersebut logam dikeluarkan ke udara di daerah sekitarnya (Nur, 2013).

Logam berat merupakan bahan pencemar yang berbahaya karena bersifat toksik. Jika terdapat dalam jumlah yang besar dapat mempengaruhi aspek ekologis maupun aspek biologis. Faktor yang menyebabkan logam berat termasuk dalam kelompok zat pencemar berbahaya karena logam berat mempunyai sifat yang tidak dapat terurai (*non-degradable*) dan mudah diabsorpsi. Logam berat yang masuk dalam lingkungan sebagian akan terserap masuk ke dalam tanah (sedimen) dan sebagian akan masuk dalam sistem aliran sungai yang selanjutnya akan terbawa ke laut (Setiawan, 2013).

Menurut beberapa literatur terdapat 80 jenis dari 109 unsur kimia di muka bumi ini yang telah teridentifikasi sebagai jenis logam berat. Berdasarkan sudut pandang toksikologi, logam berat ini dapat dibagi dalam dua jenis. Jenis pertama adalah logam berat esensial, dimana keberadaannya dalam jumlah tertentu sangat dibutuhkan oleh organisme hidup, namun dalam jumlah yang berlebihan dapat menimbulkan efek racun. Contoh logam berat ini adalah Zn, Cu, Fe, Co, Mn dan lain sebagainya. Sedangkan jenis kedua adalah logam berat tidak esensial atau beracun, di mana keberadaannya dalam tubuh masih belum diketahui manfaatnya dan bahkan dapat bersifat racun, seperti Hg, Cd, Pb, Cr dan lain-lain (Said, 2010).

Logam seperti As, Hg, Cd, dan Pb banyak dipelajari oleh para ilmuwan karena keempat logam tersebut sangat berbahaya terhadap kehidupan makhluk hidup. Emisi logam tersebut dalam proses penggunaan suhu tinggi akan merusak siklus biogeokimiawi sistem tata kehidupan manusia dan alam sekitarnya. Logam berat berbahaya karena umumnya memiliki rapat massa tinggi dan sejumlah konsentrasi kecil dapat bersifat racun dan berbahaya (Nur, 2013).

Logam berat dalam sel dapat berikatan dengan gugus sulfhidril (-SH) dari asam-asam amino sehingga menyebabkan terhambatnya kinerja enzim yang mempunyai gugus sulfhidril (-SH) dan mempunyai peranan penting dalam proses metabolisme sel. Selain itu, kerja ion-ion fisiologis dapat terganggu oleh adanya logam berat, seperti logam Cd yang mengganggu kerja ion Zn atau Ca. Hal ini disebabkan adanya kesamaan bilangan valensi antara logam Cd, Zn dan Ca. Senyawa oksianion logam berat apabila tereduksi dalam sel dapat menghasilkan radikal bebas yang akan berikatan dengan Deoxyribonucleic Acid (DNA) sehingga dapat mengakibatkan mutasi (Verdian dan Zulaika, 2015).

### **II.3.1 Kadmium(Cd)**

Kadmium (Cd) adalah salah satu logam berat dengan penyebaran yang sangat luas di alam, logam ini bernomor atom 48 berat atom 112,40 dengan titik cair 321°C dan titik didih 765°C. Kadmium merupakan logam lunak (*ductile*) berwarna putih perak dan mudah teroksidasi oleh udara bebas dan gas ammonia. Logam kadmium sangat banyak digunakan dalam kehidupan sehari-hari manusia. Prinsip dasar atau prinsip utama dalam penggunaan kadmium adalah sebagai bahan “stabilisasi” sebagai bahan pewarna dalam industri plastik dan pada electroplating. Kadmium merupakan logam toksik, terjadi secara primer di alam bercampur dengan seng (Zn) dan timbal (Pb). Proses ekstraksi dan pengolahan logam Zn dan Pb sering menyebabkan pencemaran lingkungan oleh kadmium. Batu bara dan bahan fosil lainnya mengandung kadmium, dan pembakaran bahan ini melepaskan kadmium ke lingkungan (Endrinaldi, 2010).

Logam berat yang terlarut dalam badan air secara alamiah berbentuk ion bebas, pasangan ion-ion anorganik, kompleks anorganik maupun organik. Kation

Cd yang terlarut di air laut akan berinteraksi dengan anion-anion yang ada ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ) membentuk kompleks anorganik ataupun organik sehingga akan mengurangi keberadaan ion Cd dalam bentuk bebas. Pada salinitas rendah akan terjadi peningkatan konsentrasi kation Cd bebas, karena yang membentuk molekul/ion kompleks relatif kecil. Hal ini diduga dapat menyebabkan kenaikan toksisitas akut logam berat Cd pada kondisi salinitas rendah. Sesuai dengan laporan dari Mance (1990) bahwa salinitas menentukan toksisitas logam berat. Penurunan salinitas akan meningkatkan toksisitas logam berat (Yudiati dkk, 2009).

Menurut (Endrinaldi, 2010), umumnya logam kadmium (Cd) senyawa oksida dari kadmium ( $\text{CdO}$ ), hidrat ( $\text{Cd}(\text{H}_2\text{O})_2$ ), dan Khloridanya paling banyak digunakan dalam industri elektroplating. Selain itu banyak digunakan dalam industri-industri ringan, seperti pada proses pengolahan roti, pengolahan ikan, pengolahan minuman, industri tekstil dan lain-lain, banyak dilibatkan senyawa-senyawa yang dibentuk dengan logam Cd, meskipun penggunaannya hanyalah dengan konsentrasi yang sangat rendah. Logam kadmium selalu dikeluarkan dalam suatu proses peleburan dan pemurnian logam timah, besi, tembaga maupun emas. Suatu pabrik yang memproduksi logam sulfida selalu menimbulkan pencemaran kadmium ke lingkungan.

Daya penguapan kadmium di daerah industri logam dapat menaikkan pencemaran logam yang bersangkutan. Sifat kimiawi yang bermanfaat menyebabkan kadmium digunakan secara luas dalam elektroplating, pewarna cat dan pembuatan plastik. Pekerja pada tempat peleburan dan pabrik pengolahan logam lainnya dapat terpapar kadmium kadar tinggi. Sedangkan bagi kebanyakan penduduk paling utama melalui kontaminasi makanan. Kadmium sukar diabsorpsi

dari saluran cerna, tetapi sebagian besar diabsorpsi melalui saluran napas. Kadmium diangkut dalam darah, sebagian besar terikat pada sel darah merah dan albumin (Endrinaldi, 2010).

### **II.3.2 Efek Keracunan Kadmium(Cd)**

Bahan Berbahaya dan Beracun (B3) adalah setiap bahan yang karena sifat atau konsentrasinya, jumlahnya, baik secara langsung maupun tidak langsung, dapat mencemarkan dan/atau merusakkan lingkungan hidup, kesehatan, kelangsungan hidup manusia serta makhluk hidup lain (Pasal 1 (17) UU No. 23 1997) . B3 dalam ilmu adalah bahan dapat berupa bahan biologis (hidup/mati) atau zat kimia. Zat kimia B3 dapat berupa senyawa logam (anorganik) atau organik, sehingga dapat diklasifikasikan sebagai B3 biologis, logam dan B3 organik (Sudarmaji dkk, 2006).

Efek toksik paparan kronis kadmium bergantung pada caranya masuk ke dalam tubuh. Efek toksik dari kadmium menyebabkan kerusakan pada paru, ginjal, hati dan tulang. Ginjal terkena paparan melalui paru atau saluran cerna. Ginjal merupakan organ utama yang rusak akibat paparan kadmium dalam jangka waktu yang lama yaitu pada tubulus proksimal. Proteinuria merupakan indikasi cedera pada tubulus proksimal ginjal. Kadmium dalam sistem sirkulasi terikat ke protein dalam bentuk metalotionin yang disintesis dihati, Kemudian mengalami filtrasi di glomerulus ginjal. Kadmium metalotionin (CdMT) direabsorpsi oleh sel tubulus proksimal dan terakumulasi di lisosom. CdMT terurai menjadi  $Cd^{2+}$  dan menghambat fungsi lisosom yang menyebabkan kerusakan (cedera) sel tubulus proksimal ginjal (Endrinaldi, 2010).

Logam berat ini dapat menimbulkan efek kesehatan bagi manusia tergantung pada bagian mana logam berat tersebut terikat dalam tubuh. Daya racun

yang dimiliki akan bekerja sebagai penghalang kerja enzim, sehingga proses metabolisme tubuh terputus. Lebih jauh lagi, logam berat ini akan bertindak sebagai penyebab alergi, mutagen, teratogen atau karsinogen bagi manusia. Jalur masuknya adalah melalui kulit, pernapasan dan pencernaan (Said, 2010).

Pada suatu daerah yang sudah tercemar Cd, logam tersebut terserap oleh tanaman dalam bentuk ion dari dalam tanah melalui akarnya dan didistribusikan dalam bagian tanaman. Jumlah ion Cd yang diserap oleh tanaman dipengaruhi oleh faktor pH tanah, kandungan mineral lain, pemupukan. Jika tanaman tersebut dikonsumsi oleh manusia, maka ion kadmium tersebut akan masuk ke dalam tubuh manusia. Logam beracun kadmium dapat dibawa ke dalam tubuh oleh seng yang terikat dalam protein. Seng dan kadmium berada dalam satu grup dalam susunan unsur berkala, mempunyai bilangan oksidasi yang sama (+2), jika terionisasi akan membentuk partikel ion yang berukuran hampir sama. Dari banyak kesamaan tersebut, maka kadmium dapat menggantikan rantai seng dalam banyak sistem biologi (organik) (Endrinaldi, 2010).

Kadmium adalah ion logam berat paling berbahaya yang dicirikan dengan stabilitas dan toksisitas tinggi. Tidak terdegradasi di alam dan sekali dilepaskan ke lingkungan, tetap dalam sirkulasi. Kadmium dapat mengikat enzim penting pernapasan, menyebabkan stres oksidatif dan kanker, mengganggu pengikatan Zn pada tubuh, peningkatan tekanan darah, menyebabkan kerusakan ginjal, jaringan testis, dan sel darah merah (Wijayanti dan Lestari, 2017).

Ikatan kadmium dalam zat organik mempunyai kekuatan 10 kali lebih besar dibandingkan dengan seng jika terikat dalam zat organik. Pada kondisi lain, kadmium juga dapat menggantikan magnesium dan kalsium dalam ikatannya

dengan struktur zat organik Penyerapan Cd dari tanah oleh tanaman dipengaruhi oleh total pemasukan Cd dalam tanah, pH tanah, kandungan Zn, jenis tanaman dan kultivar. Penyerapan Cd akan tinggi pada pH rendah dan menurun pada pH tinggi. Kandungan seng (Zn) yang tinggi dapat mengurangi penyerapan Cd. Jika Cd telah memasuki rantai makanan, maka pada akhirnya akan terakumulasi pada konsumen tingkat tinggi. Kadmium sangat membahayakan kesehatan karena pengaruh racun akut dari unsur tersebut sangat buruk (Endrinaldi, 2010).

Efek toksik yang ditimbulkan antara kadmium dan gugus fungsional protein dapat membentuk ikatan kompleks antara asam benzoat Cd dengan gugus fungsi ligan sehingga protein tersebut kehilangan fungsinya. Kadmium tidak memiliki fungsi biologis di dalam sel tetapi memiliki sifat reaktif yang sangat tinggi dan dapat menginaktifkan berbagai macam aktivitas enzim yang diperlukan. (Verdian dan Zulaika, 2015).

#### **II.4 Jenis Bakteri dan Resistensinya Terhadap Logam Berat**

Berbagai upaya telah dilakukan untuk meminimalisir kadar logam di lingkungan baik secara fisik, kimiawi, ataupun biologis. Metode fisik dan kimiawi dianggap kurang efektif karena membutuhkan biaya mahal serta memerlukan bahan dan energi tidak sedikit. Saat ini, beberapa peneliti telah menerapkan alternatif pengelolaan limbah dengan metode biosorpsi yang melibatkan biomassa mikroorganisme untuk menyerap logam berat. Penggunaan mikroorganisme sebagai biosorben memiliki beberapa kelebihan antara lain biaya relatif lebih murah, efisiensi tinggi, biosorben dapat diregenerasi, tidak memerlukan nutrisi tambahan, dan *sludge* (lumpur buangan) yang dihasilkan sangat minim, Selain itu

keberadaannya yang sangat melimpah memungkinkan biaya untuk pengelolaan limbah menjadi relatif lebih murah (Irma dan Tri, 2007).

Bakteri termasuk salah satu mikroorganisme yang mampu memanfaatkan ion logam berat dalam aktivitas metabolismenya. Pencarian mikroorganisme yang dapat digunakan sebagai biosorben logam telah banyak dilakukan. Bakteri yang sering digunakan sebagai biosorben logam umumnya diisolasi dari lingkungan tercemar logam berat. Bakteri termofilik merupakan salah satu mikroorganisme yang mempunyai sifat unik sehingga menarik untuk dimanfaatkan. Bakteri termofilik mampu hidup pada lingkungan bersuhu tinggi dan tumbuh secara optimal di atas suhu 45 °C, dengan struktur protein penyusun enzim yang tetap stabil dan tidak terdenaturasi oleh suhu tinggi. Habitat bakteri termofilik dapat ditemukan di berbagai tempat ekstrim seperti sumber air panas, daerah vulkanik, daerah panas bumi, limbah pertambangan dan lain sebagainya. Beberapa jenis bakteri diketahui mempunyai afinitas tinggi terhadap logam dan mampu mengakumulasi logam berat dan logam beracun dengan berbagai mekanisme (Agustien, 2005).

Bakteri termofilik memiliki potensi yang baik sebagai biosorben logam pada limbah industri yang umumnya bersifat panas, sebab bakteri ini memiliki ketahanan yang baik terhadap suhu tinggi. Air limbah yang baru keluar dari industri kebanyakan masih bersuhu cukup tinggi berkisar antara 70-80 °C. Suhu tinggi merupakan salah satu kendala di dalam suatu industri, karena air limbah yang panas harus didinginkan terlebih dahulu sebelum diolah lebih lanjut. Sehingga hal tersebut menyebabkan pengolahan limbah membutuhkan waktu yang lebih lama (Rudi dan Ikbal, 2005).

Menurut Enni, dkk (2012) mengemukakan bahwa isolat yang mampu tumbuh pada media sintesis mengandung logam berat  $\geq 5$  ppm merupakan isolat yang memiliki resistensi tinggi terhadap logam berat, kemampuan bakteri resisten terhadap logam berat pada media pertumbuhan disebabkan karena bakteri memiliki kemampuan mengakumulasi logam berat melalui dua mekanisme yaitu mekanisme *active uptake* dan *passive uptake*. Bioakumulasi merupakan contoh mekanisme *active uptake*, yakni melibatkan metabolisme pada sel-sel hidup untuk pertumbuhan atau akumulasi intraseluler logam tersebut. Sedangkan contoh mekanisme *passive uptake* adalah biosorpsi, yaitu penyerapan logam yang terjadi karena interaksi ion logam dengan permukaan sel bakteri yang telah mati (Susilawati, 2009).

Menurut Riesta (2004) bahwa bakteri memiliki permukaan sel yang bermuatan negatif karena terbentuk dari berbagai struktur anion sedangkan logam berat adalah ion bermuatan positif sehingga dapat terjadi ikatan antara permukaan sel bakteri dan ion logam berat. Mekanisme akumulasi logam berat oleh mikroba dipengaruhi oleh sifat-sifat mikroba sendiri dan juga jenis logam berat yang diakumulasi. Proses akumulasi pada umumnya dapat terjadi secara ekstraseluler, pada permukaan sel dengan membentuk ikatan ion logam dengan permukaan sel, maupun *uptake* logam intraseluler dan vaporisasi logam, pengendapan logam melalui pembentukan kompleks dengan ligand yang dibentuk oleh mikroba.

Isolat yang resisten terhadap logam  $Cd^{2+}$  yaitu *Thermomicrobium* sp merupakan bakteri gram negatif, memiliki lapisan lipopolisakarida yang bersifat anionik sehingga dapat berikatan dengan ion logam  $Cd^{2+}$  yang bersifat kation. bakteri Gram negative kemampuan mengikat logam diduga karena adanya lapisan lipopolisakarida (LPS) yang bersifat sangat anionik pada membran luar

Lipopolisakarida merupakan polisakarida yang terikat membran melalui bagian lipid yang tersisipkan pada lapisan tunggal fosfolipid sedangkan bagian sakarida berada pada bagian luar. Faktor lain yang mempengaruhi resistensi bakteri berkaitan dengan bentuk sel dan produksi eksopolisakarida. Perbedaan resistensi *Thermomicrobium* sp berhubungan dengan gen di kromosom, plasmid, atau transposon yang mengatur mekanisme tersebut, gen tersebut adalah *cadA*-operon untuk Cd (Arinda, dkk., 2012).

Mekanisme resistensi bakteri terhadap logam berat kadmium (Cd) dapat dilakukan dengan bantuan protein metallothionein. Ion logam berat akan berikatan dengan kelompok gugus (-SH) pada protein metallothionein sehingga dapat menghambat aktivitas dan fungsi enzim yang mengandung gugus (-SH). Kation dipisahkan menjadi senyawa kompleks dengan tiol, sehingga toksisitas ion logam berat dapat dikurangi atau bahkan hilang. Protein metallothionein yang berikatan dengan logam pada sel bakteri memiliki batas maksimum. Hal ini direspon bakteri dengan meningkatkan pembelahan sel untuk memperbanyak produksi Protein metallothionein. Bakteri Gram positif memiliki kemampuan lebih tinggi dalam mengikat logam dibandingkan bakteri Gram negatif disebabkan adanya gugus karboksil yang lebih banyak pada dinding sel bakteri Gram positif. Upaya yang dilakukan dalam menanggulangi pencemaran logam berat dengan melakukan remediasi, salah satunya menggunakan mikroorganisme yang dikenal dengan metode bioremediasi. Beberapa bakteri resisten terhadap kadmium, di antaranya *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter* (Verdian dan Zulaika, 2015).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **III.1 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroskop, gelas kimia, erlenmeyer, gelas ukur, neraca analitik, pipet tetes, inkubator, autoklaf, shaker, batang pengaduk, pinset, kaca slide, plastik sampel, ose bulat, lampu spiritus, *laminary air flow* (laf), tabung reaksi, rak tabung dan cawan petri.

#### **III.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel tanah yang diperoleh dari lahan tambang emas Poboya, Palu. Aluminium foil, cling wrap, akuades, kadmium klorida ( $\text{CdCl}_2$ ), asam nitrat ( $\text{HNO}_3$ ), Nutrien agar (NA), *Nutrien broth* (NB), kristal violet, Gram's iodine mordant, safranin, dan alkohol 96%.

#### **III.3 Metode Kerja**

##### **III.3.1 Sterilisasi Alat**

Semua alat yang digunakan disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat yang terbuat dari gelas dan logam disterilkan dalam oven dengan suhu  $180^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam. Alat-alat plastik dan yang tidak tahan dengan suhu tinggi disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu  $121^{\circ}\text{C}$  tekanan 2 atm selama 15 menit, sedangkan ose disterilkan dengan cara melidah apikannya menggunakan nyala api pada lampu spiritus.

##### **III.4 Preparasi Sampel**

Pengambilan sampel tanah pada lahan tambang emas Poboya, Palu. Sampel tanah kemudian dimasukkan pada wadah yang telah disterilkan, kemudian disimpan pada suhu ruangan  $27^{\circ}\text{C}$  atau pada suhu kamar.

### **III.5 Pembuatan Kultur Cair**

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan medium kultur cair ini yaitu dengan menimbang media *Nutrient Broth* sebanyak 0,8 g kedalam 100 ml aquades kemudian disterilisasi dengan cara dipanaskan hingga larut dan dituang pada erlenmeyer yang masing-masing berisi 50 ml. Ketika medium telah disterilisasi, biarkan beberapa menit agar medium tidak terlalu panas, kemudian ditambahkan kadmium klorida ( $\text{CdCl}_2$ ) sebanyak 5 ppm pada kedua erlenmeyer, selanjutnya ditambahkan sampel tanah sebanyak 1 g pada salah satu erlenmeyer yang berisi media cair 50 ml dan sebanyak 0,5 g pada Erlenmeyer yang lain, dan dishaker selama  $2 \times 24$  jam.

### **III.6 Analisis Logam Berat Kadmium (Cd)**

Menganalisis kadar logam kadmium (Cd) pada sampel tanah dari lahan tambang emas Poboya Palu, pertama yaitu dibuat larutan standar kadmium (Cd) dan kemudian diukur absorbansi larutan standar dengan masing-masing konsentrasi menggunakan metode Spektrofotometer serapan atom (SSA) sistem nyala pada panjang gelombang 228,8 nm. Kurva kalibrasi dibuat dengan memplot konsentrasi sumbu X terhadap absorbansi sumbu Y. kemudian untuk penetapan kadar kadmium (Cd) dalam sampel, diambil 100 mL larutan sampel dan diukur absorbansi sampel pada Panjang gelombang 228,8 nm, atau data hasil pengukuran absorbansi dari larutan standar kadmium (Cd) diplotkan terhadap konsentrasi larutan kadmium (Cd).

### **III.7 Isolasi dan Seleksi**

#### **III.7.1 Isolasi Pada Media NA (*Nutrient Agar*)**

Bakteri diisolasi melalui teknik pengenceran bertingkat mulai dari pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-9}$  dengan mengambil isolat bakteri dari kultur cair yang telah dibuat sebanyak 1 ml kedalam 9 ml aquades steril kemudian dihomogenkan sehingga didapatkan pengenceran  $10^{-1}$ , kemudian untuk pengenceran  $10^{-2}$  sampai  $10^{-9}$  diambil 1 ml dari tiap pengenceran sebelumnya kedalam 9 ml aquades steril.

Setelah itu dilakukan proses plating untuk menyeleksi bakteri yang resisten terhadap logam kadmium (Cd) dengan menggunakan kultur hasil pengenceran dari  $10^{-7}$  sampai  $10^{-9}$  yang masing-masing ditumbuhkan pada 3 cawan petri, yang diambil dengan cara memipet sebanyak 1 ml dan biarkan mengalir di atas permukaan cawan, kemudian diratakan dan ditambahkan media Nutrien Agar (NA) yang mengandung 5 ppm  $\text{CdCl}_2$  dengan menggunakan metode tuang (*pour plate*) dan diinkubasi selama 2x24 jam.

Bakteri yang telah ditumbuhkan pada media NA selanjutnya akan dilakukan proses isolasi pada media NA dengan cara menimbang sebanyak 2 g media NA kedalam 100 ml aquades steril dan ditambahkan 5 ppm  $\text{CdCl}_2$ , media kemudian dituang pada lima cawan petri dan dibiarkan memadat, selanjutnya dipilih 10 koloni bakteri dari 3 cawan sebelumnya dan digores pada media dengan metode gores sinambung dua sisi yang pada setiap cawan diambil dari 2 koloni berbeda dan diinkubasi selama 2x24 jam.

#### **III.7.2 Proses Pemurnian Isolat Bakteri**

Bakteri yang didapatkan pada proses skrining selanjutnya akan dimurnikan sebanyak dua kali pada media NA. Pada proses pemurnian, dipilih 4 koloni berbeda

yang diambil dari hasil skrining yang dilakukan sebelumnya, dengan cara mengambil koloni berbeda pada setiap cawan dan digores pada 4 cawan berbeda yang berisi media NA dengan metode gores kuadran kemudian diinkubasi selama 2x24 jam. Dan untuk pemurnian kedua dilakukan proses yang sama dengan mengambil isolat yang berasal dari pemurnian pertama.

### **III.7.3 Karakterisasi Isolat Bakteri**

Pemeriksaan makroskopis koloni dinilai dari bentuk (*punctiform, irregular, filamentous*, atau *rhizoid*), elevasi (*flat, raised*, atau *convex*), karakterisasi optis (warna, opak, translusen, atau transparan) dan permukaan (halus atau kasar).

#### **III.7.3.1 Pengamatan Morfologi Bakteri**

Pengamatan bakteri secara makroskopis, dilakukan dengan mengamati morfologi koloni bakteri, yang meliputi bentuk, elevasi, karakterisasi optis, dan permukaan koloni bakteri.

#### **III.7.3.2 Pewarnaan Gram**

Isolat bakteri resistensi kadmium (Cd) dioles pada kaca slide dan ditambahkan 1 tetes kristal violet selama 1 menit kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Isolat bakteri ditetesi Lugol selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya isolat bakteri ditambahkan etil alkohol 95% sampai kristal violet tidak larut lagi dan dicuci dengan air mengalir kembali. Akhirnya isolat bakteri ditambahkan safranin selama 45 detik dan dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan dan diperiksa dengan mikroskop.

### **III.8 Uji Resistensi Isolat Terhadap Kadmium (Cd)**

Setelah dilakukan isolasi dan seleksi maka diperoleh isolat murni, yang selanjutnya diinokulasikan kedalam media NB (*Nutrient Broth*) yang mengandung

kadmium klorida ( $\text{CdCl}_2$ ) dengan variasi konsentrasi yaitu, 5, 10, 15, dan 20 ppm, kemudian diinkubasi selama  $\pm$  48 jam atau sekitar dua hari, dan dilakukan pengamatan sampel setiap 24 jam.

Setiap perlakuan pertumbuhan bakteri diukur nilai OD (*Optical Density*) pada Panjang gelombang 580 nm untuk mengetahui tingkat kepadatan bakteri pada spektrofotometer. Isolat yang resisten terhadap logam berat kadmium (Cd) berdasarkan tingkat kepadatan, selanjutnya akan dilakukan analisis konsentrasi akhir atau kadar kadmium (Cd) pada isolat.

### **III.9 Analisis Konsentrasi Akhir Kadmium (Cd)**

Analisis konsentrasi akhir kadmium (Cd) berasal dari isolat yang telah melalui uji resistensi terhadap kadmium (Cd) yaitu bakteri yang mampu bertahan terhadap logam berat pada konsentrasi tertinggi pada uji resistensi, hal ini menunjukkan kemampuan akumulasi yang dimiliki oleh bakteri atau ketahanan bakteri terhadap logam berat, sehingga akan diamati terjadinya penurunan kadar kadmium (Cd). Selanjutnya dilakukan analisis konsentrasi logam berat dengan metode AAS (*Atomic Absorption Spectroscopy*).

### **III.10 Analisis Data**

Data diperoleh dari uji aktivitas bakteri, pengamatan morfologi, yang dibahas secara deskriptif, dan diolah dalam bentuk tabel, gambar dan grafik.