

SKRIPSI

**POTENSI BAKTERI PROBIOTIK *Weissella confusa* DALAM
MEREDUKSI LOGAM BERAT TIMBAL (Pb) PADA
MEDIA SUSU SKIM SECARA IN VITRO**

Disusun dan diajukan oleh

FADHILAH ANANDA PUTRI

H041171308



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

2021

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**POTENSI BAKTERI PROBIOTIK *Weissella confusa* DALAM
MEREDUKSI LOGAM BERAT TIMBAL (Pb) PADA
MEDIA SUSU SKIM SECARA IN VITRO**

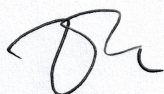
Disusun dan diajukan oleh

**FADHILAH ANANDA PUTRI
H041171308**

**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 13 Juli 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan**

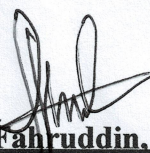
Menyetujui,

Pembimbing Utama



Dr. Zaraswati Dwyana, 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 : Fadhilah Ananda Putri
NIM : H041171308
Program Studi : Biologi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul Potensi Bakteri Probiotik *Weissella confusa* Dalam Mereduksi Logam Berat Timbal (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, 13 Juli 2021
Yang Menyatakan



Fadhilah Ananda Putri

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, karena dengan rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Potensi Bakteri Probiotik *Weissella confusa* Dalam Mereduksi Logam Berat Timbal (Pb) Pada Media Susu Skim Secara In Vitro”. Shalawat serta salam senantiasa penulis curahkan kepada Rasulullah SAW yang mengantarkan manusia dari zaman kegelapan ke zaman yang terang benderang ini.

Skripsi ini dibuat dan diajukan untuk memenuhi syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Sarjana Sains di Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Selama penulisan skripsi ini, penulis banyak menerima bantuan dan dukungan sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Ayah Wahyudi, SE dan Ibu Siti Mujayana, S.Sos. sebagai orang tua penulis yang dengan sabar, tabah, dan tekun dalam membesarkan dan mendidik penulis dengan sepenuh hati dan kasih sayang serta dukungan moral materi yang telah diberikan kepada penulis. Terima kasih juga penulis ucapkan kepada Kakak Najwa Citra Azzahra dan Adik Dimas Rizqulloh yang senantiasa membantu dan menghibur penulis disaat merasa jenuh dan lelah dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis kembali mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Ibu Dr. Zaraswati Dwyana Z., M.Si. selaku Pembimbing Utama dan bapak

Dr. Fahrudin, M.Si. selaku Pembimbing Pertama serta Pembimbing Akademik atas dukungan, bimbingan, arahan, dan motivasi berupa kritik dan saran serta waktunya yang dengan sabar menuntun penulis hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Pada kesempatan kali 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 mengarahkan penulis dalam hal akademik dan administrasi.
3. Ketua Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Ibu Dr. Nur Haedar, M.Si., atas ilmu dan saran-sarannya.
4. Tim penguji skripsi Ibu Dr. Syahribulan, M.Si. dan Ibu Dr. Juhriah, M.Si. atas bimbingan dan arahan yang diberikan kepada penulis dari awal studi hingga penyusunan skripsi ini.
5. Bapak/Ibu Dosen Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, yang telah mendidik dan memberikan ilmunya kepada penulis selama proses perkuliahan. Serta kepada staf dan pegawai Departemen Biologi yang telah membantu dalam bidang administrasi.
6. Kak Fuad Gani, S.Si., Kak Heriadi, M.Si., dan Kak Nenis Sardiani, S.Si yang telah membantu, membimbing, dan memberikan ilmu dalam perkuliahan serta penelitian.

7. Siti Aras Ainun Basri dan Saraswati sebagai partner penelitian yang selalu berbagi informasi mengenai penelitian, memberikan semangat serta motivasi selama penelitian hingga selesainya penulisan skripsi ini.
8. Sahabat tak sedarah penulis (JSM) Sitti Talhah, Arini Kusuma Wardani, Raden Safriani Sukma A., dan Rensi piri yang selalu menemani, membantu, mendoakan dan memberikan motivasi serta semangat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
9. Teman seperjuangan di kampus Sitti Nuraini Rahmah, Nadhila Idris, Nur Sofiea Binti Syarifuddin, Naspira Binti Jabir, Putri Fahrani, Eka Tri Ana, Ayu Mitha Lestari, Veni Apriliani, Paramita Sudirman, Nurul Afia Abd Majid, Nurindah Rezky, Ummi Chaera, Donny Suherman, S.Si, dan Masykur yang telah membantu penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
10. Teman-teman Biologi Angkatan 2017 (Biovergent) yang telah membantu dan mendukung penulis selama masa perkuliahan.
11. Keluarga KMF MIPA UNHAS dan HIMBIO FMIPA UNHAS sebagai wadah dalam pengembangan skill organisasi yang telah memberikan ilmu yang tidak diperoleh dibangku perkuliahan.
12. Teman-teman KKN Tematik Unhas Gel. 104 Kelompok Rappocini 1 dan teman-teman MIPA 2017 yang membantu dan memberikan semangat untuk penulis.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna karena adanya keterbatasan ilmu dan pengalaman yang dimiliki. Oleh karena itu, semua

kritik dan saran yang bersifat membangun yang diberikan dari semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan namanya satu persatu akan penulis terima dengan senang hati dan penulis mengucapkan banyak terima kasih. Penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

Wassalamu 'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Makassar, 13 Juli 2021

Fadhilah Ananda Putri

ABSTRAK

Timbal (Pb) adalah logam berat dengan toksisitas yang besar dan memiliki efek merusak bagi makhluk hidup. Telah dilaksanakan penelitian berjudul “**Potensi Bakteri Probiotik *Weissella confusa* Dalam Mereduksi Logam Berat Timbal (Pb) Pada Media Susu Skim Secara In Vitro**”. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri probiotik *Weissella confusa* dalam mereduksi logam timbal (Pb) pada media susu skim secara in vitro. Uji biosorpsi ini dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri probiotik *Weissella confusa* pada media fermentasi susu skim ditambahkan perlakuan timbal (Pb) dengan variasi konsentrasi 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 diperoleh menunjukkan isolat *Weissella confusa* mampu mereduksi logam timbal pada konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, dan 20 ppm hingga tersisa kadar terendah timbal pada media fermentasi yaitu 3,39 ppm, 6,24 ppm, dan 12,75 ppm, dengan pertumbuhan bakteri yang terus meningkat dan rata-rata persentase timbal tereduksi sebesar 35,35%.

Kata kunci: *Weissella confusa*, Biosorpsi, Timbal (Pb), Susu skim.

ABSTRACT

Lead (Pb) is a heavy metal with high toxicity and has detrimental effects on living things. A study entitled "**The Potential of Probiotic Bacteria *Weisella confusa* in Reducing Heavy Metal Lead (Pb) in Skim Milk Media in Vitro**" is being conducted. This study aims to determine the ability of probiotic bacteria *Weisella confusa* in reducing lead metal (Pb) in skim milk media in vitro. This biosorption test was carried out by growing the isolate of probiotic bacteria *Weisella confusa* on skim milk fermentation media with handled lead (Pb) with various concentrations of 5 ppm, 10 ppm, and 20 ppm. Analysis of lead content was carried out on fermentation day 1, day 2 and day 3. The results obtained showed that the isolate of *Weisella confusa* was able to reduce lead metal at concentrations of 5 ppm, 10 ppm, and 20 ppm until the remaining lowest levels of lead in the fermentation medium were 3,39 ppm, 6,24 ppm, and 12,75 ppm, with bacterial growth increasing and an average percentage reduced lead is 35,35%.

Keywords: *Weisella confusa*, Biosorption, Lead (Pb), Skim milk.

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERNYATAAN KEASLIAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I.....	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Tujuan Penelitian	5
I.3 Manfaat Penelitian	5
I.4 Waktu dan Tempat Penelitian	5
BAB II	6
II.1 Tinjauan Umum Tentang Timbal (Pb).....	6
II.2 Probiotik	11
II.3 Bakteri Probiotik sebagai Agen Bioabsorpsi Logam Berat Pb.....	16
BAB III.....	20
III.1 Alat	20
III.2 Bahan.....	20
III.3 Metode Kerja.....	20
III.3.1 Sterilisasi Alat dan Medium	20
III.3.2 Pembuatan Media	21
III.3.3 Kultivasi Isolat Bakteri Probiotik <i>Weissella confusa</i>	21
III.3.4 Pembuatan Starter Bakteri Probiotik <i>Weissella confusa</i>	22
III.3.5 Fermentasi Bakteri Probiotik <i>Weissella confusa</i> pada Media Susu Skim dengan Penambahan Timbal	22
III.3.6 Perhitungan Jumlah Bakteri.....	23
III.3.7 Analisis Kadar Timbal pada Media Susu Skim.....	23

III.3.8 Analisis Data.....	24
BAB IV	25
IV.1 Pertumbuhan Bakteri Probiotik <i>Weissella confusa</i> pada Media Susu Skim dengan Penambahan Timbal	25
IV.2 Pertumbuhan Bakteri <i>Weissella confusa</i> pada Media Susu Skim dengan Berbagai Macam Konsentrasi Timbal.....	27
IV.3 Perubahan pH pada Media Susu Skim Selama Proses Fermentasi	31
IV.4 Analisis Kadar Timbal Menggunakan AAS (<i>Atomic Absorption Spectrophotometry</i>) dengan Metode Kering Beku (<i>Dry Ice</i>)	33
BAB V.....	37
V.1 Kesimpulan.....	37
V.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN.....	42

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Persentase penurunan kadar timbal (Pb) oleh bakteri <i>Weissella confusa</i>	33
--	----

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Mekanisme Toksisitas Timbal	10
Gambar 2. Bakteri <i>Weissella confusa</i>	15
Gambar 3. Fermentasi Bakteri <i>Weissella confusa</i> pada media susu skim dengan penambahan berbagai konsentrasi timbal	26
Gambar 4. Pertumbuhan bakteri <i>W. confusa</i> yang ditumbuhkan di media susu skim.....	28
Gambar 5. Perubahan pH pada media susu skim selama masa fermentasi.....	31
Gambar 6. Penurunan kadar timbal (Pb) oleh bakteri <i>Weissella confusa</i> yang dianalisis menggunakan AAS (<i>Atomic Absorption Spectrophotometry</i>)	33

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Potensi Bakteri Probiotik <i>Weissella confusa</i> Dalam Mereduksi Logam Berat Timbal (Pb) Secara In Vitro.....	43
Lampiran 2. Skema Kerja Analisis Kadar Timbal (Pb) dengan AAS (<i>Atomic Absorption Spectrophotometry</i>)	44
Lampiran 3. Proses Pembuatan Media Pertumbuhan	45
Lampiran 4. Proses Pembuatan Media Fermentasi	46
Lampiran 5. Proses Pembuatan Starter	47
Lampiran 6. Gambar Fermentasi Bakteri Probiotik <i>Weissella confusa</i> pada Media Susu Skim	48
Lampiran 7. Gambar Hasil Perhitungan Jumlah Bakteri Probiotik <i>Weissella confusa</i> pada Media MRSA (<i>Man Ragosa Sharpe Agar</i>) dengan Penambahan 1% CaCO ₃	49
Lampiran 8. Tabel Hasil Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri dengan Metode SPC (<i>Standard Plate Count</i>)	50
Lampiran 9. Tabel Hasil Pengukuran pH Media Selama Proses Fermentasi	51
Lampiran 10. Proses Pengerjaan Analisis Kadar Logam Timbal (Pb) dengan Menggunakan AAS (<i>Atomic Absorption Spectrophotometry</i>)....	52
Lampiran 11. Tabel Hasil Analisis Kadar Timbal (Pb) dengan Menggunakan AAS (<i>Atomic Absorption Spectrophotometry</i>).....	53

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Logam berat adalah salah satu komponen pencemaran yang dapat terjadi di udara, darat, maupun di perairan. Logam berat disebabkan karena adanya penambangan, penggunaan logam berat dalam industri, serta adanya logam berat dalam limbah industri. Toksisitas logam berat berpotensi mengganggu kehidupan makhluk hidup dan berdampak negatif terhadap kesehatan manusia dalam jangka waktu yang lama tergantung dari bagaimana logam berat tersebut terakumulasi di dalam tubuh (Aminah dan Nur, 2018).

Logam berat merupakan salah satu polutan beracun yang dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan, perilaku, dan karakteristik morfologi makhluk hidup, serta dapat menyebabkan kematian. Logam berat yang masuk ke dalam tubuh dapat menghambat kerja enzim sehingga proses kerja metabolisme tubuh terganggu (Pratiwi, 2020). Pencemaran lingkungan yang terkontaminasi oleh logam berat seperti timbal (Pb), merkuri (Hg), arsen (As), dan cadmium (Cd) dapat menyebabkan terjadinya gangguan sistem saraf, kerusakan otak, kelumpuhan, pertumbuhan menjadi terhambat, kerusakan ginjal, pengeroposan tulang, dan kerusakan DNA atau kanker. Logam berat masuk ke dalam tubuh manusia melalui makanan, udara, dan air yang dikonsumsi (Fibriarti *et al.*, 2018).

Menurut Bhattacharya (2019) timbal (Pb) adalah logam berat non-esensial dengan toksisitas yang besar dan memiliki efek yang merusak pada sistem organ

manusia dan hewan yang menyebabkan berbagai macam penyakit. Hal ini dianggap sebagai potensi ancaman bagi dunia terhadap lingkungan. Dampak dari paparan timbal dalam lingkungan atau pekerjaan pada manusia dapat menyebabkan efek buruk bagi kesehatan seperti pada hati, ginjal, paru, saraf, kardiovaskular, muskuloskeletal, dan reproduksi. Menurut *The International Agency for Research on Cancer* (IARC), mengakui bahwa timbal sebagai karsinogen bagi manusia.

Keracunan yang disebabkan oleh timbal pada anak-anak akan mengakibatkan retardasi mental. Kontaminasi oleh timbal bagi manusia dalam jangka waktu yang cukup lama dan dalam jumlah sedikit akan mengakibatkan anemia. Gejala manusia yang mengalami keracunan akibat terpapar oleh timbal ditandai dengan sakit kepala, sakit pada otot, lemah, dan iritasi (Situmorang, 2017).

Logam berat seperti timbal dapat direduksi dengan berbagai metode, yaitu fisika, kimia, dan biologi. Metode penyisihan yang paling banyak diaplikasikan selama ini adalah metode kimia dan fisika. Namun kedua metode tersebut kurang efisien dikarenakan tidak semua logam dapat terendapkan secara sempurna seperti Pb, Cd, dan Hg serta memiliki beberapa kelemahan, seperti pada metode kimia dan fisika memiliki biaya instalasi dan operasional yang tinggi, membutuhkan bahan kimia yang banyak, dan kurang efisien dalam menyerap logam berat secara sempurna (Said, 2010).

Selain metode fisika dan kimia, perkembangan bioteknologi pengolahan limbah pencemaran logam berat dapat diatasi dengan metode biologi. Metode

biologi memiliki beberapa kelebihan, seperti ramah lingkungan dengan biaya yang rendah, dan memiliki efisiensi yang tinggi terhadap penyerapan logam berat (Ratnawati *et al.*, 2010). Pencemaran logam berat dapat diatasi dengan metode biologi dengan memanfaatkan mikroorganisme untuk mengikat dan mengurangi toksisitas logam berat serta mencegah masuknya logam berat ke dalam tubuh. Jenis mikroorganisme yang berpotensi dalam mengurangi toksisitas logam berat yaitu bakteri probiotik (Monachese *et al.*, 2012).

Bakteri probiotik adalah bakteri yang biasanya digunakan dalam produk makanan, minuman, obat-obatan, dan suplemen makanan (Abdel-Megeed, 2020). Probiotik juga terdapat pada produk olahan susu. Probiotik memberikan manfaat pada kesehatan makhluk hidup karena membantu dalam proses pencernaan dan memperkuat sistem kekebalan di dalam tubuh, serta mengurangi toksisitas dari logam berat (Feng *et al.*, 2019).

Menurut Jaafar (2020) bakteri probiotik merupakan mikroba yang aman digunakan dalam aplikasi medis dan memiliki kemampuan bertahan hidup pada pH dalam lambung dan pada konsentrasi garam empedu yang tinggi. Bakteri probiotik berpotensi dalam mengakumulasi toksisitas logam berat pada manusia karena bakteri tersebut memiliki mekanisme resistensi yang efektif dalam mencegah terjadinya kerusakan yang menyebabkan usia sel rentan, dan mengikat serta menahan logam berat ke dalam sel (Monachese *et al.*, 2012). Selain itu, salah satu fungsi penting dari probiotik adalah kemampuannya meningkatkan kekebalan tubuh bagi inang dan karena hal tersebut, probiotik memiliki aktivitas antagonis terhadap patogen. Probiotik juga memiliki kemampuan untuk hidup dengan zat

yang bertindak sebagai agen antibakteri seperti asam organik, logam berat, hidrogen peroksida dan senyawa antijamur (Jaafar, 2020).

Bakteri probiotik mampu mengikat logam berat melalui reaksi pertukaran ion logam berat dengan ion pada dinding sel bakteri yang terdiri dari peptidoglikan. Bakteri probiotik merupakan bakteri gram positif dengan kandungan peptidoglikan dan asam teikoat yang tinggi pada dinding selnya, sehingga bakteri probiotik mampu mengabsorpsi logam berat dengan baik (Monachese *et al.*, 2012). Komponen pada peptidoglikan dan jumlah pereduksi gugus karboksil menyebabkan terjadinya penurunan penyerapan ion logam pada dinding sel (Goyal *et al.*, 2017).

Kelompok bakteri probiotik terdiri dari genera *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, dan *Streptococcus* (Abdel-Megeed, 2020). Menurut Lakra *et al.*, (2020), salah satu bakteri asam laktat yang berpotensi sebagai probiotik yaitu *Weissella confusa*. *Weissella confusa* merupakan bakteri gram positif, katalase negatif, dan bakteri non-spora. Bakteri ini menghasilkan asam laktat dan CO₂ dengan memfermentasi glukosa melalui jalur fermentasi heterolaktik. *Weissella confusa* biasanya terdapat pada makanan yang terfermentasi. *Weissella confusa* mampu bertahan hidup dalam lingkungan pH rendah dan konsentrasi garam empedu yang tinggi, memiliki aktivitas antimikroba dan bakteriosin, aktivitas antioksidan yang baik bagi terapi dan kesehatan, dan bakteri ini menunjukkan tidak adanya aktivitas hemolitik dan sensitivitas terhadap antibiotik sehingga aman digunakan sebagai kultur starter dalam makanan.

Weissella confusa merupakan bakteri gram positif yang memiliki potensi adsorpsi yang kuat serta memiliki kandungan peptidoglikan yang tinggi pada selnya, sehingga berpotensi dalam mengikat logam berat yang masuk ke dalam tubuh (Lee *et al.*, 2012). Namun, hingga saat ini tidak banyak penelitian mengenai kemampuan *Weissella confusa* dalam mereduksi logam berat khususnya logam berat timbal. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan *Weissella confusa* sebagai bakteri probiotik dalam mereduksi timbal. Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan penelitian mengenai potensi bakteri probiotik *Weissella confusa* dalam mereduksi logam berat timbal (Pb) secara in vitro.

I.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui kemampuan bakteri probiotik *Weissella confusa* dalam mereduksi logam timbal (Pb) pada media susu skim secara in vitro.

I.3 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini yaitu memberikan informasi tentang bakteri probiotik yang mampu mereduksi timbal (Pb) sehingga dapat dimanfaatkan sebagai bahan untuk detoksifikasi timbal (Pb).

I.4 Waktu dan Tempat Penelitian

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

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tinjauan Umum Tentang Timbal (Pb)

Timbal (Pb) merupakan kelompok logam berat golongan IVA dalam Sistem Periodik Unsur Kimia. Timbal (Pb) mempunyai nomor atom 82 dengan berat atom 207,2 g/mol. Ciri lain dari timbal yaitu berbentuk padat pada suhu kamar, memiliki titik lebur 327,4 °C, titik didih 1725 °C dan memiliki berat jenis sebesar 11,4 g/cm³. Timbal di alam biasanya dalam bentuk senyawa molekul lain, misalnya dalam bentuk PbBr₂ dan PbCl₂, dan jarang dalam keadaan bebas (Gusnita, 2012).

Timbal merupakan salah satu logam peringkat kelima setelah logam-logam lainnya yaitu Fe, Cu, Al, dan Zn dalam produksi industri logam. Sekitar setengah dari timbal di dunia digunakan dalam pembuatan baterai. Selain itu, kegunaan lainnya untuk solder, selimut kabel, amunisi, pipa, pigmen, dan dempul. Timbal biasanya dipadukan dengan logam lain yaitu antimon, kalsium (Ca), dan timah (Sn) dalam pembuatan baterai, serta perak (Ag), strontium (Sr), dan telurium (Te) untuk solder dan anoda (Handayanto *et al.*, 2017).

Menurut Handayanto *et al.*, (2017) ion timbal, timbal (II), timbal oksida dan hidroksida, dan timbal kompleks oksianion merupakan bentuk umum dari timbal dalam tanah, air tanah, dan air permukaan. Timbal (II) dan kompleks hidroksi timbal adalah bentuk timbal yang paling stabil. Timbal (II) adalah bentuk timbal yang paling umum dan reaktif, membentuk oksida dan hidroksida

mononuklir dan polinuklir. Timbal sulfida (PbS) adalah bentuk padat yang paling stabil dalam matrik tanah dan terbentuk pada saat kondisi reduksi, apabila terjadi peningkatan konsentrasi sulfida.

Timbal (II) sebagian besar berada dalam bentuk ion misalnya seperti $Pb_2+SO_4^2$, sedangkan senyawa (IV) cenderung kovalen misalnya yaitu timbal tetraetil, $Pb(C_2H_5)_4$. Senyawa timbal dioksida (PbO_2) adalah senyawa timbal (IV) yang merupakan oksidan yang kuat. Timbal membentuk garam basa seperti $Pb(OH)_2 \cdot 2PbCO_3$, yang dahulu banyak digunakan dalam pewarna cat putih. Timbal dioksida dan timbal sulfat banyak digunakan dalam reaksi pengisian dan pengosongan baterai (Handayanto *et al.*, 2017).

Menurut Kristanto (2004) timbal memiliki beberapa sifat sehingga banyak digunakan pada berbagai keperluan. Sifat-sifat tersebut antara lain sebagai berikut:

1. Memiliki titik cair yang rendah sehingga saat digunakan dalam bentuk cair maka hanya membutuhkan teknik yang sederhana dan murah.
2. Merupakan jenis logam yang lunak sehingga dapat dengan mudah diubah dalam berbagai bentuk.
3. Logam timbal dapat berfungsi sebagai lapisan pelindung jika berkontak dengan udara lembab.
4. Dapat membentuk alloy dengan logam lainnya, dan alloy yang terbentuk memiliki sifat yang berbeda dengan timbal yang murni.
5. Memiliki densitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan logam lainnya, kecuali emas dan merkuri.

Timbal (Pb) banyak digunakan dalam proyek konstruksi dan industri. Hal tersebut menyebabkan timbal berada dalam tanah, udara, dan air di lingkungan. Timbal juga berada di pembakaran dan peleburan industri, dan saat ini timbal juga terdapat dalam bahan bakar kendaraan yaitu bensin. Selain itu, timbal dapat masuk ke air melalui pipa yang tua, dan beberapa cat rumah. Paparan timbal dapat juga terjadi melalui konsumsi makanan atau air minum yang terkontaminasi partikel timbal. Semua itu menyebabkan sumber paparan dan bahaya yang berkelanjutan. Timbal memiliki kemampuan akumulasi dalam darah sekitar 30 hari dan dalam tulang manusia akan bertahun-tahun. Hal ini yang mengakibatkan paparan timbal menjadi masalah yang berkelanjutan (Monachese *et al.*, 2012).

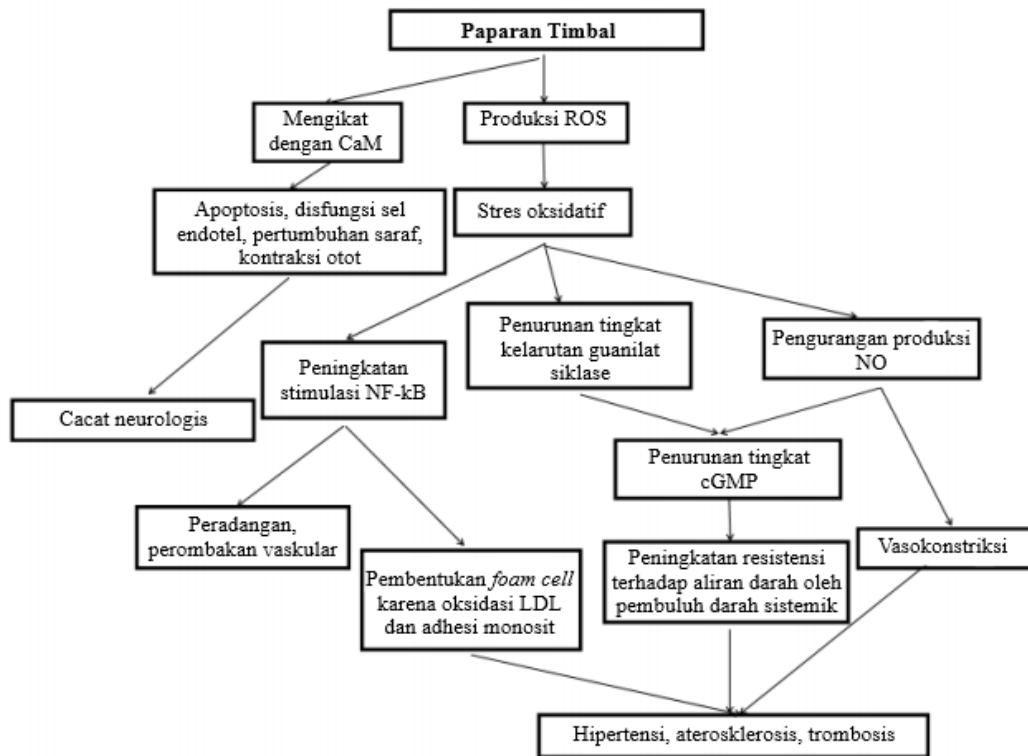
Di dalam air senyawa timbal dalam bentuk timbal (II) dan timbal (IV), yang berasal dari hasil buangan industri, pertambangan, dan hasil dari buangan bahan bakar minyak yang mengandung timbal. Salah satu sumber pencemaran timbal di dalam lingkungan yaitu timbal yang berasal dari bahan bakar minyak (gasolin), yang selanjutnya akan masuk ke dalam sistem air. Timbal juga merupakan salah satu bahan pencemar logam berat yang paling banyak di atmosfer yang berasal dari hasil penggunaan bahan bakar minyak (BBM) yang mengandung *Tetra Ethyl Lead* (TEL) yang ditambahkan ke dalam BBM sebagai anti *knocking* pada mesin (Situmorang, 2017).

Timbal merupakan logam beracun yang secara luas penggunaannya menyebabkan kontaminasi pada lingkungan dan telah menyebabkan masalah pada kesehatan di dunia. Timbal adalah logam berat berwarna keperakan agak kebiru-biruan di lingkungan. Timbal mulai mencemari udara dengan membentuk

campuran senyawa kompleks, tergantung pada kondisi lingkungannya. Paparan timbal terutama bersumber dari industri, makanan dan rokok, air minum dan sumber limbah domestik. Timbal adalah logam berat beracun yang mengganggu berbagai proses fisiologis tanaman, dan tidak seperti logam lain, seperti seng, tembaga, dan mangan, timbal tidak berperan dalam fungsi biologis tubuh (Jaishankar *et al.*, 2014). Ciri-ciri orang yang mengalami keracunan timbal ditandai dengan sakit kepala, terasa sakit pada otot, lemah, dan iritasi. Selain itu, timbal juga dapat menyebabkan keracunan akut yang mengakibatkan terganggunya fungsi ginjal, sistem reproduksi, kerusakan hati, otak dan saraf pusat (Situmorang, 2017).

Paparan timbal pada anak-anak menyebabkan penurunan tingkat IQ, dan memperlambat serta memengaruhi proses perkembangan pada anak-anak. Timbal juga memengaruhi berbagai organ tubuh. Keracunan timbal akut menyebabkan cacat pada reproduksi, efek hematologis dan lain sebagainya. Selain itu, toksisitas timbal juga menyebabkan gangguan berbagai fungsi seluler (Jain dan Gauba, 2017).

Menurut Jain dan Gauba (2017), toksisitas yang disebabkan oleh logam berat timbal dalam sel hidup terutama disebabkan oleh mekanisme ionik yang menyebabkan stres oksidatif, hal ini terlihat pada Gambar 1. Penyebab utama stres oksidatif adalah ketidakseimbangan antara produksi dari radikal bebas dan penurunan kadar antioksidan. Salah satu antioksidan dalam sel yaitu glutathione yang akan melindungi sel dari radikal seperti hidrogen peroksida.



Gambar 1. Mekanisme Toksisitas Timbal

Sumber: (Jain dan Gauba, 2017).

Glutation terbagi dalam dua keadaan yaitu tereduksi (GSH) dan teroksidasi (GSSG). Bentuk tereduksi dari glutation menyumbangkan ekuivalen pereduksi dari gugus tiol sistein ke ROS, sehingga membuatnya menjadi stabil. Indikator lain dari stres oksidatif adalah peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid terjadi karena adanya kelebihan elektron bebas yang dikumpulkan molekul lipid menjadi penyusun untuk membran sel. Proses peroksidasi lipid mengakibatkan kerusakan pada sel (Jain dan Gauba, 2017).

Kelebihan ROS (Spesi Oksigen Reaktif) dapat menyebabkan terjadinya kerusakan pada seluler dan morfologis yang serius. Stres oksidatif menyebabkan faktor transkripsi seperti NF-kB yang mengontrol kelangsungan hidup sel, produksi sitokin, disfungsi endotel, fibrosis, apoptosis dan oksidasi LDL, yang

mengarah pada pembentukan sel sehingga menyebabkan trombosis dan arterosklerosis. Paparan timbal menyebabkan teraktivasi NF-kB yang berperan dalam hipertensi. Terjadinya peningkatan radikal bebas yang diinduksi oleh logam berat timbal, sehingga menyebabkan penurunan produksi NO dan *guanylate cyclase*. Efek tersebut menyebabkan terjadinya resistensi pembuluh darah sistemik (Jain dan Gauba, 2017).

II.2 Probiotik

Kata probiotik berasal dari Bahasa Yunani yang artinya ‘untuk hidup’. Istilah probiotik digunakan pertama kali oleh Lilley dan Stillwell (1965) yang mengartikan bahwa probiotik sebagai substansi yang dihasilkan oleh satu mikroba yang dapat menstimulasi pertumbuhan mikroba lain. Kemudian, probiotik digunakan lagi oleh Parker (1974) sebagai penjelasan organisme atau substansi yang memiliki kontribusi terhadap keseimbangan mikroba usus. Selanjutnya istilah probiotik diperbaiki oleh Fuller (1989) yang menyatakan bahwa probiotik berarti suplemen makanan berupa mikroba hidup yang memiliki efek yang menguntungkan bagi inang yang mengonsumsi melalui keseimbangan mikroba usus (Sunaryanto *et al.*, 2014). Menurut FAO dan WHO (2001), Probiotik adalah organisme hidup yang dapat memberikan efek yang menguntungkan bagi kesehatan inangnya apabila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup.

Probiotik merupakan bakteri yang menguntungkan yang ditemukan di mikrobiota usus. Probiotik membantu dalam proses pencernaan dan memperkuat sistem kekebalan di dalam tubuh manusia. Umumnya probiotik digunakan dalam industri susu dan dianggap aman untuk dikonsumsi. Selain itu, Probiotik juga

dapat diisolasi dari berbagai sumber di lingkungan. Bakteri probiotik memiliki karakteristik yang berguna untuk memberikan manfaat bagi manusia dan lingkungan (Huët dan Puchooa, 2017).

Karakteristik probiotik menurut Oyetayo (2005) dalam Abdel-Megeed (2020), adalah sebagai berikut:

- Probiotik memberikan pengaruh yang menguntungkan pada inangnya.
- Probiotik tidak menyebabkan patogen atau toksin bagi inangnya.
- Probiotik dalam kondisi sel baik dan dalam jumlah besar.
- Probiotik mampu bertahan dan bermetabolisme di lingkungan gastrointestinal seperti pH rendah, asam organik di usus, dan sekresi empedu.
- Probiotik mampu melekat pada jaringan target dan sel epitel di usus.

Probiotik umumnya terdiri dari genera pada bakteri asam laktat seperti *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Weissella*, dan *Streptococcus*. Bakteri asam laktat memfermentasi asam laktat sebagai tahap proses metabolisme anaerobik dimana organisme *Lactobacillus* akan mengubah glukosa dan enam gula karbon lainnya yang ada didalam makanan menjadi asam laktat untuk menciptakan lingkungan yang asam. Makanan yang terfermentasi dapat menurunkan kadar kolesterol darah, meningkatkan kekebalan tubuh, melindungi dari bakteri patogen, osteoporosis, diabetes, obesitas, aterosklerosis, anti alergi, dan anti karsinogenik, serta meringankan gejala intoleransi laktosa (FAO dan WHO, 2001).

Menurut Delcour *et al.*, (1999) dalam Zoghi *et al.*, (2014) bakteri asam laktat adalah bakteri heterogen yang termasuk dalam bakteri gram positif yang

memiliki dinding sel yang khas, dimana komponen struktural utamanya adalah peptidoglikan dan komponen kecil lainnya terdiri dari asam organik (asam teikoat dan asam lipoteikoat), protein lapisan S dan beberapa polisakarida netral. Asam teikoat adalah polimer anionik yang terikat pada lapisan peptidoglikan. Adhesi dan pengikatan makromolekul adalah fungsi dari jaringan fibril pada asam teikoat dan polisakarida dinding sel. Polisakarida dinding sel adalah polisakarida yang umum diproduksi oleh BAL dengan variasi yang besar antara bakteri yang berbeda, komplikasi, struktur bercabang dan tanpa muatan yang mengandung rhamnosa (gula deoksi alami yang terdapat pada beberapa bakteri). Eksopolisakarida diekskresikan kedalam media ekstraseluler, atau terikat ke permukaan untuk membentuk sebuah kapsul polisakarida.

Bakteri asam laktat adalah bakteri bersel tunggal dan termasuk dalam bakteri gram positif serta anaerob fakultatif. BAL tidak membentuk spora, berbentuk coccus dan basil, mampu dalam memproduksi asam laktat sebagai hasil metabolisme selnya. Secara generatif tidak bersifat patogen, karena BAL merupakan jenis mikroorganisme yang aman dalam kategori *Generally Recognized As Safe* (GRAS) Marteau (2002) dalam Urnemi *et al.*, (2012).

Menurut Saarela *et al.*, (2000) dalam Urnemi *et al.*, (2012) menyatakan bahwa secara umum BAL dapat menghasilkan senyawa metabolit yaitu asam organik, hidrogen peroksida dan CO₂, komponen aroma, dan bakteriosin. Asam organik yang banyak dihasilkan BAL adalah asam laktat. Asam laktat memiliki manfaat antara lain dapat menurunkan pH saluran pencernaan, memperbaiki pemanfaatan mineral Ca, P, dan Fe, menstimulir sekresi asam lambung,

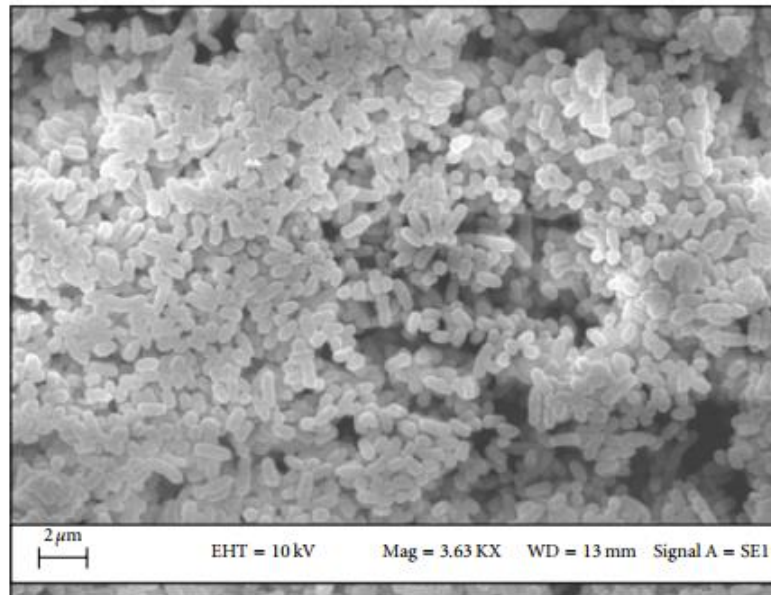
meningkatkan peristaltik lambung, dan juga dapat berfungsi sebagai energi pada proses respirasi. Hidrogen peroksida dan CO₂ dihasilkan dari piruvat yang diubah oleh enzim piruvat oksidase. Bakteri asam laktat memfermentasi asam sitrat menghasilkan senyawa diasetil yang menghasilkan aroma. Bakteriosin yang dihasilkan oleh BAL yaitu peptida yang bersifat bakteriosidal yang dinamakan juga sebagai probiotik.

Pada umumnya mikroorganisme dapat tumbuh pada kisaran pH 6-8. Bakteri asam laktat memiliki prinsip kerja yaitu dengan memanfaatkan kemampuan BAL tersebut dalam menguraikan rantai panjang karbohidrat, protein, dan lemak. Adanya kemampuan mikroorganisme ini diperoleh karena adanya enzim-enzim khusus yang dimiliki untuk memecah ikatan. Molekul kompleks yang dipecah menjadi molekul sederhana akan mempermudah penyerapan oleh saluran pencernaan. Disisi lain, mikroorganisme pemecah ini mendapat keuntungan berupa energi yang diperoleh dari hasil perombakan molekul kompleks Stanton *et al.*, (2001) dalam Urnemi *et al.*, (2012).

Salah satu jenis bakteri asam laktat yang digunakan sebagai probiotik adalah dari genera *Weissella* yaitu bakteri *Weissella confusa*. *Weissella confusa* diperoleh dari yoghurt. *Weissella* merupakan bakteri gram positif dengan uji katalasenya negatif dan bentuk sel *coccobacillus*, yang dapat diisolasi dari berbagai habitat yang luas seperti tanah, sayuran segar, pangan terfermentasi, daging dan produknya Vela *et al.*, (2003) dalam Sharah *et al.*, (2015).

Pada tahun 1990 genus *Weissella* direklasifikasi. Sebelumnya *Weissella confusa* diisolasi pada penelitian dengan nama *Lactobacillus confusus*. *Weissella*

confusa menghasilkan dekstran yang merupakan eksopolisakarida dengan α -glukan. Dekstran bakteri ini diproduksi secara in situ yang berguna dalam meningkatkan umur, volume dan nilai gizi roti. Selain dekstran, *Weissella confusa* juga memproduksi bakteriosin (Goh dan Philip, 2015). Bentuk sel bakteri *Weissella confusa* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Bakteri *Weissella confusa*
Sumber: (Shukla dan Goyal, 2011)

BAL adalah kelompok besar bakteri menguntungkan yang tidak beracun dan bersifat fermentatif, serta menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir dalam fermentasi gula. Sifat yang menguntungkan dari BAL sebagian besar dikarenakan kemampuannya dalam mengikat dan melekat pada membran mukosa. Hal tersebut menyebabkan BAL dapat digunakan sebagai probiotik. BAL bermanfaat bagi manusia dalam merangsang sistem kekebalan, membantu mencegah atau mengurangi diare, dan membantu dalam toleransi laktosa. BAL dapat menghambat patogen dengan memproduksi senyawa penghambat

(inhibitor). Senyawa inhibitor akan melawan patogen untuk respon energi dan adhesi (Goyal *et al.*, 2017).

II.3 Bakteri Probiotik sebagai Agen Bioabsorpsi Logam Berat Pb

Probiotik merupakan bakteri non patogen, non toksik, dan merupakan bakteri fermentatif. Habitat probiotik biasanya ditemukan pada makanan, obat-obatan, dan suplemen makanan. *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* adalah probiotik yang paling umum. Strain probiotik yang ada di usus dapat mengubah komposisi spesies mikroba berbahaya di usus. Probiotik mampu mengikat logam berat dan berguna untuk mendetoksifikasi logam berat. Terpaparnya logam berat dapat mengubah metabolisme pada mikroba usus dan mengubah fungsinya. Dilain sisi, mikroba usus akan mengubah penyerapan dan metabolisme pada logam berat. Hal ini berguna sebagai penghalang bagi logam berat selain dengan memodifikasi stress oksidatif dan memodulasi pH. Mikroba usus mengatur enzim detoksifikasi atau ekspresi protein. Probiotik melekat kuat pada mukosa usus, memiliki kemampuan sebagai antioksidan dan pengaturan dalam kekebalan, toleransi terhadap cairan gastrointestinal, dan dapat menekan perkembangan patogen (Abdel-Megeed, 2020).

Mikroba usus digunakan dan diaplikasikan dalam makanan yang berpotensi untuk mengurangi toksisitas logam pada manusia. Hal ini dikarenakan mikroba usus memiliki mekanisme resistensi yang efektif dalam mencegah kerusakan pada sel dan dapat mengikat serta menahan logam berat ke permukaan sel yang nantinya akan dikeluarkan melalui pembuangan air besar berikutnya. Resistensi terhadap logam berat dan antibiotik gen sering dikodekan bersama pada

plasmid yang sama yang menyebabkan adanya tekanan selektif untuk menjaga plasmid di saluran usus. Bakteri probiotik memiliki kemampuan untuk mengurangi tekanan oksidatif yang disebabkan oleh keracunan logam berat dan kemampuan dalam detoksifikasi melawan toksin dari makanan lain. Kemampuan probiotik dalam menyerap logam tergantung pada mekanisme resistensi regangan (Monachese *et al.*, 2012).

BAL termasuk dalam salah satu bakteri probiotik yang tahan terhadap kondisi yang asam seperti pada usus. BAL merupakan kelompok bakteri heterogen dan bakteri gram positif. Komponen utama dinding selnya berupa peptidoglikan, asam teikoat, dan beberapa eksopolisakarida. BAL merupakan mikroorganisme polimer ekstraseluler yang mengikat kation beracun pada logam sehingga dapat melindungi sensitivitas sel terhadap logam dan komponen esensial seluler. Komponen eksopolisakaridanya sangat kompleks, termasuk atas protein, asam humat, polisakarida dan asam nukleat, yang mengikat logam pada spesifisitas dan afinitasnya. Eksopolisakarida mengandung glukosa, galaktosa, rhamnosa, N-asetilglukosamin, dan N-asetilgalaktosamin. Muatan pada dinding sel adalah muatan negatif yang bersih (Goyal *et al.*, 2017).

Mekanisme probiotik dalam bioremediasi timbal adalah biosorpsi. Biosorpsi adalah proses yang dilakukan dengan cara bahan biologis mengakumulasi logam berat dipermukaannya dan pada proses ini non metabolik dimana mikroorganisme terkonsentrasi secara pasif dan mengikat secara konstituen pada struktur selulernya. Biosorpsi logam berat adalah fenomena yang melibatkan mekanisme seperti pertukaran ion, adsorpsi, *chelation*, dan mikropresipitasi. Bakteri probiotik memiliki peptidoglikan yang tebal pada

dinding selnya dan merupakan bakteri gram positif. Selain peptidoglikan, dinding selnya mengandung komponen lain seperti asam teikoat dan lapisan S (Goyal *et al.*, 2017).

Menurut Abdel-Megeed (2020) menyatakan bahwa mekanisme detoksifikasi probiotik untuk logam berat dilakukan dengan melalui pengikatan ion logam ke dinding sel bakteri, kemudian terakumulasi di dalam bakteri melalui bagian membran sel yang didefinisikan sebagai bioakumulasi. Selanjutnya, bakteri probiotik mengubah logam berat dalam bentuk yang lebih sederhana (tidak beracun). Kelasi logam dari probiotik termasuk dalam kelompok karboksil protein dan kelompok hidroksil dari peptidoglikan. Beberapa asam organik dan metabolit dari mikroba usus lain mempercepat biosorpsi logam berat. Respon kekebalan bakteri probiotik terhadap logam berat mengubah logam berat tersebut menjadi bentuk yang kurang beracun. Baru-baru ini, makanan fungsional yang didalamnya terkandung probiotik diberikan kepada orang-orang di negara berkembang untuk melawan efek samping yang timbul akibat dari paparan logam berat yang beracun.

Menurut Goyal *et al.*, (2017) pertukaran ion adalah salah satu mekanisme yang digunakan oleh BAL dalam biosorpsi logam. Mekanisme ini dipengaruhi oleh pH. Semakin rendah pH akan semakin banyak biosorpsi yang dilakukan karena terjadi peningkatan dalam pengikatan muatan negatif pada permukaan sel. Biosorpsi dipengaruhi juga oleh biomassa karena peningkatan biomassa berarti akan mengikat lebih muatan negatif dalam mengurangi toksisitas logam berat.

Selain pH, suhu merupakan salah satu faktor yang penting dalam memengaruhi biosorpsi logam berat. Terjadi peningkatan presentase pada proses

biopsorpsi logam berat. Selain itu, peningkatan biomassa juga merupakan faktor dalam memengaruhi tingkat biosorpsi logam berat (Goyal *et al.*, 2017).

Mikroba yang dianggap sebagai probiotik harus menunjukkan karakteristik tertentu seperti toleransi asam pada usus dan empedu, produksi enzim yang berfungsi dalam pencernaan usus dan produksi antibiotik. Ciri khas lain dari bakteri probiotik adalah lamanya waktu tinggal di dalam usus setelah dikonsumsi. Probiotik bertahan dalam jangka waktu sedikit di dalam usus setelah mengeliminasi mikroba *toxic*. Hal ini dapat mengontrol jumlah bakteri dalam usus. Bakteri probiotik juga berpotensi dalam mereduksi toksisitas timbal (II) pada manusia (Goyal *et al.*, 2017).