

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, biodegradasi logam berat dilakukan dengan beberapa uji, yaitu uji resistensi logam berat, uji TPC (*Total Plate Count*), dan uji AAS (*Atomic Absorption Spectrofotometer*). (1) Uji resistensi logam berat untuk mengetahui tingkat resistensi tiap-tiap isolat terhadap logam. Sedangkan (2) uji TPC untuk mengetahui pertumbuhan mikroba dengan pemberian suatu perlakuan dengan jangka waktu inkubasi yang telah ditentukan. Berbeda dengan uji TPC, (3) uji AAS untuk mengetahui penurunan konsentrasi logam berat dalam kultur pertumbuhan.

Hasil dari uji digunakan untuk mengetahui isolat bakteri yang mempunyai kemampuan terbaik untuk melakukan degradasi logam berat, sehingga data ini dapat digunakan sebagai informasi untuk penelitian sejenis tentang degradasi logam berat oleh bakteri.

Uraian hasil dari masing-masing uji disajikan dan dibahas sebagai berikut:

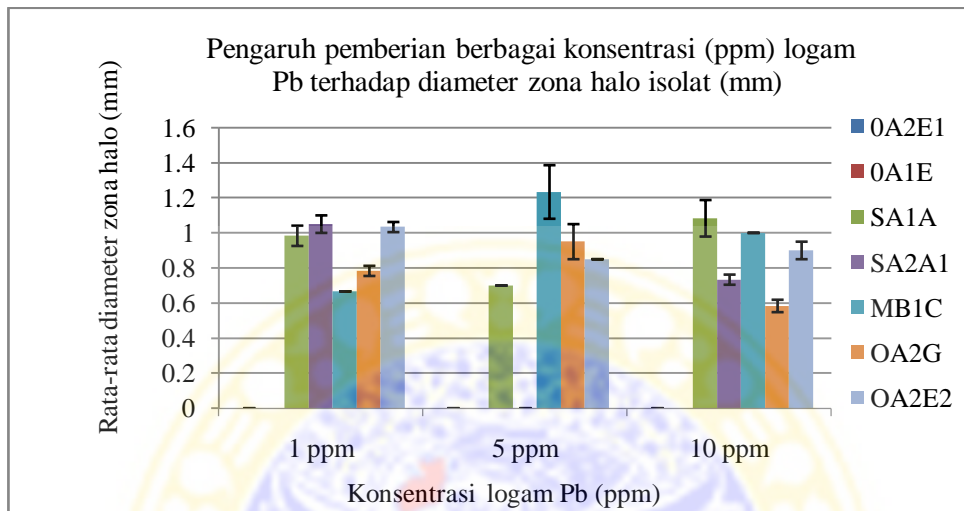
4.1 Uji Resistensi Logam Pb, Zn, Hg

Rata-rata diameter zona halo tiap isolat terhadap berbagai konsentrasi logam Pb ditampilkan tabel 4.1 dan gambar 4 berikut.

Tabel 4.1 Hasil rata-rata diameter zona halo isolat bakteri dengan pemberian berbagai konsentrasi logam Pb

No	Kode Isolat Bakteri	Rata-rata diameter zona halo bakteri (mm) dengan berbagai konsentrasi (ppm)		
		1 ppm	5 ppm	10 ppm
1	0A2E1	0	0	0
2	0A1E	0	0	0
3	SA1A	0,98±0,06	0,7±1,36	1,08±0,10
4	SA2A1	1,05±0,05	0	0,73±0,03

5	MB1C	0,67±0	1,23±0,15	1,00±0
6	OA2G	0,78±0,03	0,95±0,10	0,58±0,035
7	OA2E2	1,03±0,03	0,85±0	0,90±0,05



Gambar 2. Grafik rata-rata diameter zona halo (mm) dengan berbagai konsentrasi (ppm) logam Pb

Pada gambar 2 menunjukkan bahwa adanya variasi ukuran diameter zona halo tiap isolat pada berbagai konsentrasi logam Pb. Pada diagram batang diatas menunjukkan pula bahwa isolat OA2E1 dan isolat OA1E tidak menghasilkan zona halo di semua konsentrasi logam Pb. Hal ini diduga bahwa isolat-isolat ini mempunyai tingkat resistensi lebih tinggi daripada isolat bakteri yang lain. Sedangkan untuk isolat bakteri OA2G mempunyai ukuran diameter zona halo terkecil pada konsentrasi logam yaitu 1 ppm dan 10 ppm dan isolat bakteri yang mempunyai ukuran diameter zona halo terkecil untuk konsentrasi 5 ppm adalah isolat SA1A. Variasi ukuran diameter zona halo yang dihasilkan terhadap variasi konsentrasi logam berat, menunjukkan bahwa adanya respon yang berbeda-beda dari tiap bakteri. Selain itu, keberagaman ukuran diameter zona halo

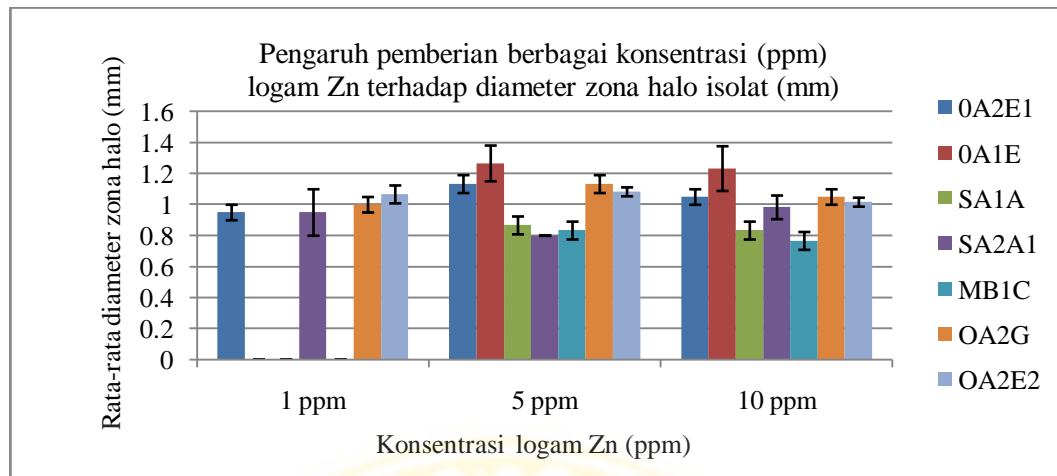
juga bergantung pada jenis logam yang diberikan, seperti logam Zn dan Hg yang telah diujikan oleh peneliti.

Grafik diatas juga menggambarkan bahwa diameter zona halo tidak berbanding lurus dengan besarnya konsentrasi seperti isolat SA2A1. Pada isolat SA2A1 dihasilkan zona halo pada konsentrasi 1 ppm, akan tetapi pada konsentrasi 5 ppm zona halo tidak ditemukan, dan kembali zona halo muncul pada konsentrasi 10 ppm. Hal ini juga ditemui pada isolat MB1C, terlihat bahwa pada konsentrasi 1 ppm zona halo yang terbentuk lebih rendah daripada zona halo isolat lainnya. Tetapi tabel 4.1 menunjukkan bahwa pada konsentrasi 5 ppm, rata-rata zona halo isolat MB1C yang terbentuk tertinggi dari isolat yang lain, dan pada konsentrasi 10 ppm rata-rata zona halo yang terbentuk lebih rendah daripada konsentrasi 5 ppm.

Hasil dari uji zona halo dengan menggunakan logam Pb berbeda dengan zona halo yang dihasilkan oleh isolat dengan pemberian logam Zn. Hasil dari uji zone halo menggunakan logam Zn disajikan pada tabel 4.2 dan gambar 3 dibawah ini.

Tabel 4.2. Hasil rata-rata diameter zona halo isolat bakteri dengan pemberian berbagai konsentrasi logam Zn

No	Kode Isolat Bakteri	Rata-rata diameter zona halo bakteri (mm) dengan berbagai konsentrasi (ppm)		
		1 ppm	5 ppm	10 ppm
1	0A2E1	0,95±0,05	1,13±0,06	1,05±0,05
2	0A1E	0	1,27±0,12	1,23±0,14
3	SA1A	0	0,87±0,06	0,83±0,06
4	SA2A1	0,95±0,15	0,80±0,36	0,98±0,08
5	MB1C	0	0,83±0,06	0,77±0,06
6	0A2G	1,00±0,05	1,13±0,06	1,05±0,06
7	0A2E2	1,07±0,06	1,08±0,03	1,02±0,03



Gambar 3. Grafik rata-rata diameter zona halo (mm) dengan berbagai konsentrasi (ppm) logam Zn

Pada gambar 3 terlihat bahwa rata-rata diameter zona halo hampir semua isolat stabil di setiap konsentrasi logam Zn. Hal ini menandakan bahwa tidak ada respon yang terlalu tajam dari perubahan konsentrasi logam. Akan tetapi seperti bertambah seiring dengan besar nilai konsentrasi logam. Hal ini dikarena perubahan rata-rata diameter tiap isolat untuk tiap konsentrasi logam tidak mempunyai selisih yang jauh.

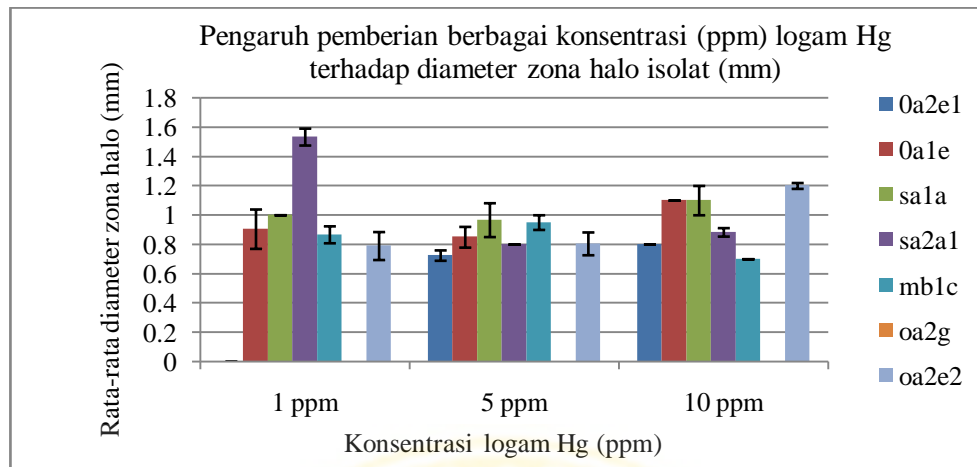
Pada tabel 4.2 menunjukkan isolat OA1E, SA1A, dan MB1C tidak membentuk zona halo pada konsentrasi 1 ppm. Diduga isolat bakteri ini resisten terhadap kadar logam Zn dengan konsentrasi 1 ppm. Tetapi untuk konsentrasi 5 ppm dan 10 ppm, isolat OA1E mempunyai nilai rata-rata diameter tertinggi dari isolat-isolat bakteri yang lain. Dugaan sementara adalah bahwa isolat OA1E mengalami *stress* dengan pemberian konsentrasi logam yang lebih tinggi. Sedangkan isolat bakteri membentuk diameter zona halo terkecil pada konsentrasi 10 ppm. Tetapi untuk konsentrasi logam 5 ppm, isolat SA2A1 membentuk

diameter zona halo terkecil. Walaupun isolat ini membentuk zona halo terkecil pada konsentrasi 5 ppm, pada konsentrasi logam 1 ppm isolat SA2A1 membentuk zona halo yang ukurannya sama dengan isolat 0A2E1 dan lebih besar daripada konsentrasi logam sebesar 5 ppm. Respon isolat bakteri pada konsentrasi logam 1 ppm menunjukkan fase adaptif yang ditunjukkan dengan adanya zona halo yang terbentuk. Sedangkan pada konsentrasi logam 5 ppm zona halo yang terbentuk lebih kecil, hal ini menunjukkan bahwa isolat bakteri ini sudah mulai dapat menyesuaikan dirinya dengan lingkungan. Tetapi pada konsentrasi logam 10 ppm menunjukkan bahwa adanya peningkatan ukuran zona halo, diduga bahwa isolat bakteri 0A2E1 melakukan adaptasi kembali dengan konsentrasi logam yang lebih besar.

Pemberian logam Hg dengan berbagai konsentrasi juga memperlihatkan respon isolat bakteri yang berbeda-beda seperti yang disajikan pada tabel 4.3 dan gambar 4 di bawah ini.

Tabel 4.3 Hasil rata-rata diameter zona hambat isolat bakteri dengan pemberian berbagai konsentrasi logam Hg

No	Kode Isolat Bakteri	Rata-rata diameter zona hambat bakteri (mm) dengan berbagai konsentrasi (ppm)		
		1 ppm	5 ppm	10 ppm
1	0a2e1	0	0,73±0,04	0.80±0,36
2	0a1e	0,91±0,13	0,85±0,07	1,10±0
3	sa1a	1,00±0	0,97±0,12	1,10±0.10
4	sa2a1	1,53±0,06	0,80±0,36	0,88±0,03
5	mb1c	0,87±0,06	0,95±0,05	0,70±0,36
6	oa2g	0	0	0
7	oa2e2	0,79±0,10	0,81±0,08	1,20±0,02



Gambar 4 Grafik rata-rata diameter zona halo (mm) dengan berbagai konsentrasi (ppm) logam Hg

Pada tabel 4.3 menunjukkan bahwa resistensi tertinggi terhadap logam Hg adalah isolat OA2G karena tidak mempunyai rata-rata diameter zona halo. Adapun isolat OA2E1 tidak membentuk zona halo pada konsentrasi 1 ppm, tetapi membentuk zona halo pada konsentrasi 5 ppm, dan 10 ppm.

Secara keseluruhan, hampir semua isolat menunjukkan peningkatan zona halo yang cenderung stabil pada konsentrasi logam 5 ppm dan 10 ppm. Pada tabel 4.3 memperlihatkan selisih perubahan rata-rata diameter zona halo tidak terlalu besar. Seperti yang terlihat pada gambar 4, pendugaan sementara bahwa isolat bakteri telah melakukan mekanisme adaptasi terhadap lingkungan yang telah diberi logam Hg dengan konsentrasi 5 ppm dan 10 ppm.

Seperti halnya resistensi logam Pb, dan logam Zn, pada logam Hg juga terlihat bahwa nilai rata-rata diameter zona halo tidak meningkat seiring meningkatnya konsentrasi logam. Pada gambar 4, menunjukkan bahwa isolat SA2A1 mempunyai rata-rata zona hambat tertinggi pada konsentrasi 1 ppm,

sedangkan rata-rata diameter zon halo cenderung menurun pada konsentrasi 5 ppm dan 10 ppm.

4.1.1 Hubungan Antara Diameter Zona Halo Dan Resistensi Isolat Terhadap Logam Pb, Zn, Dan Hg.

Hasil penelitian uji resistensi secara keseluruhan memperlihatkan adanya variasi rata-rata diameter zona halo yang dihasilkan oleh isolat terhadap konsentrasi 1 ppm, 5 ppm, dan 10 ppm tiap-tiap logam. Semakin besar diameter zona halo, resistensi suatu mikroba semakin kecil. Zona halo merupakan suatu respon mikroba untuk menanggapi lingkungan yang terkontaminasi suatu bahan dalam hal ini adalah logam. Respon itu ditandai dengan tidak adanya koloni yang tumbuh disekitar sumber bahan, atau adanya hambatan pertumbuhan disekitar sumber bahan (Pelczar (1986). Menurut Canstein *et al.* (2002), isolat yang dapat tumbuh pada media sintetik dengan kadar logam 5 mg/L merupakan isolat yang mempunyai tingkat resistensi tinggi terhadap logam berat. Beberapa isolat bakteri menunjukkan respon resisten terhadap logam berat pada konsentrasi 5 ppm dan 10 ppm yaitu isolat OA2E1 dan OA1E pada logam Pb, dan isolat OA2G pada logam Hg. Tetapi respon resistensi tiap isolat ini tidak sama bila diujikan pada logam lain. Pada tabel 4.1, 4.2, dan 4.3 menunjukan bahwa rata-rata zona halo tiap isolat berbeda pada tiap logam. Hal ini menunjukan bahwa adanya variasi adaptasi yang dilakukan isolat bakteri terhadap perlakuan logam berat.

Smith (1996) dalam Anyanwu *et al.* (2011), pada penelitiannya tentang respon bakteri tanah terhadap *stress* logam berat mengatakan bahwa logam dengan berbagai konsentrasi dapat mempengaruhi populasi dan aktivitas mikroba. Selain

berbagai konsentrasi, tingkat survival isolat bakteri juga ditentukan oleh jenis dari isolat bakteri (Babich, 1977)

Resistensi isolat bakteri terhadap logam berat juga didukung dari habitat asal isolat (Tapan, 1992; Chojnacka, 2010) yaitu Pantai Kenjeran, Surabaya. Perdana *et al.* (2011) dalam penelitiannya telah mendeteksi logam dalam lumpur Pantai Kenjeran disajikan pada tabel 4.4 berikut

Tabel 4.4 Konsentrasi berbagai logam yang ditemukan pada lumpur Pantai Kenjeran, Surabaya.

No	Nama Logam	Konsentrasi (ppm)	Lokasi	Peneliti
1	Pb	0,31	Lumpur	Perdana <i>et al.</i> (2011)
2	Zn	0,08	Lumpur	Perdana <i>et al.</i> (2011)
3	Hg	0,004	Lumpur	Perdana <i>et al.</i> (2011)
		0,1615	Kerang <i>Anadara granosa</i>	Indrakusuma (2005)
4	Cd	0,0327	Air laut	Imron (2006)
		0,481	Lumpur	
		0,208	Kerang	

Pada tabel 4.4 dapat dilihat bahwa kandungan logam pada lingkungan Pantai Kenjeran tidak lebih dari 1 ppm, sedangkan isolat bakteri yang telah diuji resistensi menunjukkan bahwa ada beberapa isolat bakteri yang tidak menghasilkan zona halo pada konsentrasi logam 1 ppm, 5 ppm, dan 10 ppm. Hal ini menunjukkan tidak adanya hambatan pada pertumbuhan isolat bakteri dan peristiwa ini membuktikan bahwa isolat bakteri telah melakukan suatu mekanisme resistensi yang lebih kuat untuk suatu lingkungan yang tercemar logam dengan konsentrasi lebih tinggi.

Uji yang telah dilakukan menunjukkan bahwa lingkungan yang sudah tercemar logam merupakan salah satu faktor utama penyebab meningkatnya

resistensi isolat bakteri terhadap logam berat. Dari hasil-hasil penelitian yang telah dilakukan dapat digunakan sebagai acuan untuk dilakukannya eksplorasi mikroba yang mempunyai tingkat resistensi tinggi terhadap logam berat.

4.2 Pengaruh Pemberian Konsentrasi (10 ppm) Logam Pb, Zn, Dan Hg Terhadap Jumlah Total Bakteri (CFU/ml) Tiap Isolat Dengan Waktu Inkubasi Selama 7 Hari

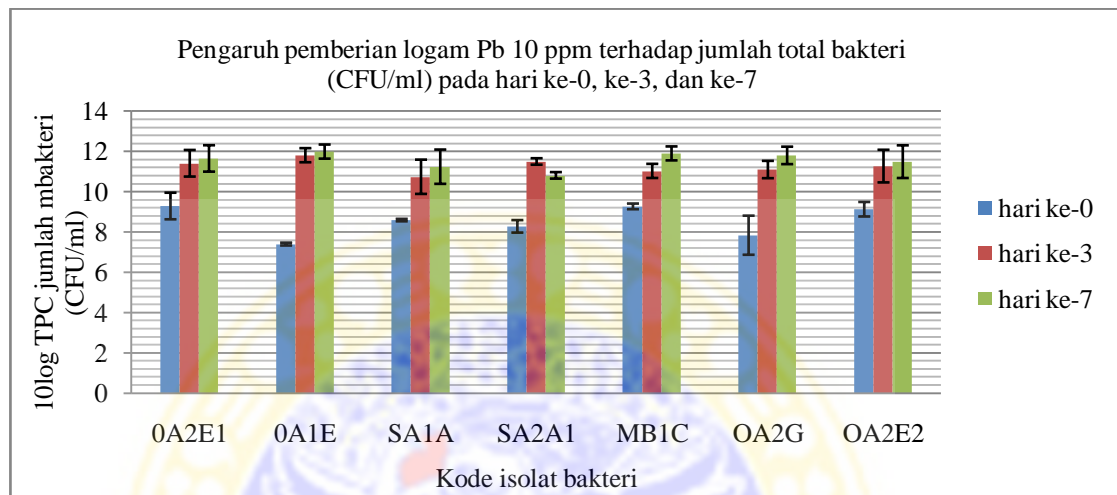
Uji pertumbuhan jumlah mikroba dengan pemberian logam Pb, Zn dan Hg dilakukan untuk mengetahui pengaruh tiap logam terhadap pertumbuhan bakteri tiap isolat. Data yang dihasilkan dapat digunakan untuk menentukan isolat yang mempunyai pertumbuhan tertinggi pada masing-masing logam. Data disajikan dalam bentuk tabel rata-rata $^{10}\log$ TPC mikroba tiap isolat, gambar grafik perbandingan rata-rata $^{10}\log$ TPC bakteri, dan tabel persentase kenaikan atau penurunan jumlah pertumbuhan mikroba pada hari ke-3 dan hari ke-7.

Hasil pengaruh pemberian logam Pb 10 ppm terhadap jumlah total bakteri pada hari ke-0, ke-3, dan ke-7 disajikan pada tabel 4.5, gambar 5, dan tabel 4.6 dibawah ini.

Tabel 4.5 Rata-rata $^{10}\log$ TPC bakteri dengan pemberian logam Pb 10 ppm pada hari ke-0, hari ke-3, dan ke-7.

No	Nama kode isolat	Rata-rata $^{10}\log$ TPC bakteri		
		Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-7
1	0A2E1	9,28±0,66	11,40±0,66	11,64±0,09
2	0A1E	7,39±0,07	11,80±0,35	11,98±0,21
3	SA1A	8,58±0,06	10,73±0,85	11,23±0,55
4	SA2A1	8,27±0,31	11,49±0,16	10,80±1,66

5	MB1C	9,26±0,14	11,02±0,35	11,89±0,22
6	OA2G	7,83±0,97	11,09±0,43	11,79±0,49
7	OA2E2	9,12±0,36	11,26±0,81	11,48±0,42



Gambar 5 Jumlah total bakteri (CFU/ml) dengan pemberian logam Pb 10 ppm pada hari ke-0, hari ke-3, dan ke-7

Tabel 4.6 Persentasi kenaikan jumlah total bakteri pada hari ke-3 dan ke-7 dengan pemberian 10 ppm logam Pb

No	Nama kode isolat	Persentasi kenaikan jumlah total bakteri (%) pada hari ke 0-3 dan hari ke 3-7	
		0-3 hari	3-7 hari
1	0A2E1	10,25	1,04
2	0A1E	22,98	0,75
3	SA1A	11,13	2,27
4	SA2A1	16,29	3,09 (-)
5	MB1C	8,67	3,79
6	OA2G	17,23	3,05
7	OA2E2	10,50	0,96

Ket: (-) penurunan

Pada tabel 4.5 menunjukkan bahwa pemberian logam Pb 10 ppm dengan waktu inkubasi selama 7 hari memberikan variasi terhadap jumlah total mikroba. Dari ketujuh isolat bakteri, isolat 0A1E mempunyai jumlah total terendah pada hari ke-0, tetapi terlihat pada gambar bahwa terjadi peningkatan jumlah sel bakteri

tertinggi dengan persentase kenaikan 22,98 % (tabel 4.6), dan jumlah total bakteri tertinggi pula pada usia inkubasi 3 hari. Kenaikan jumlah total bakteri ini bisa jadi karena isolat bakteri ini melakukan mekanisme adaptasi yang lebih bagus dari isolat lainnya dan mampu menggunakan logam Pb untuk mendukung pertumbuhan sel isolat. Tetapi terlihat dalam gambar bahwa persentase kenaikan pada hari ke-7 mempunyai nilai lebih kecil daripada persentase kenaikan total sel pada hari ke-3 tetapi pertumbuhan jumlah sel mikroba mencapai nilai tertinggi dari isolat lainnya. Hal ini diduga karena bakteri telah memasuki fase stasioner atau nutrisi dalam media sudah mulai habis.

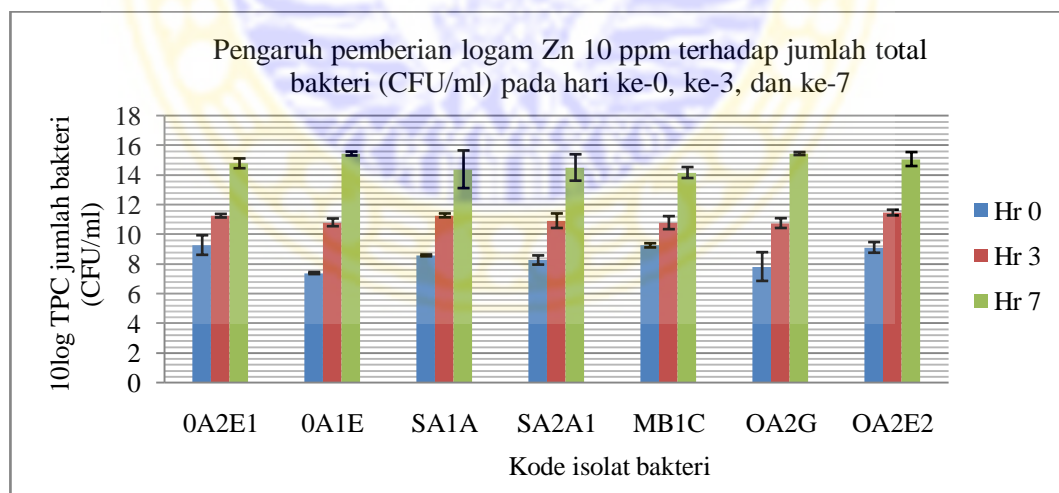
Berbeda dengan isolat 0A2E1 yang mempunyai total jumlah sel terbanyak pada hari ke-0. Pada tabel 4.6 menunjukkan persentase kenaikan pada hari ke-3 hanya 10,25%, terendah kedua setelah isolat MB1C. Peristiwa ini menunjukkan bahwa isolat 0A2E1 mempunyai kemampuan tumbuh yang lebih rendah didalam lingkungan yang diberi logam Pb walaupun nutrisi dalam media sudah mencukupi.

Secara keseluruhan hampir semua isolat menunjukkan kenaikan jumlah total sel di semua waktu inkubasi kecuali isolat SA2A1. Pada tabel 4.5 dan gambar 5 menunjukkan bahwa isolat SA2A1 mengalami penurunan jumlah sel pada inkubasi hari ke-7. Akan tetapi pada waktu inkubasi hari ke-3 pada gambar menunjukkan adanya kenaikan jumlah total sel sebesar 16,29% (tabel 4.6). Pendugaan sementara bahwa keberadaan logam dalam waktu yang lebih lama dapat menurunkan viabilitas dari isolat bakteri yang mampu mempengaruhi kemampuan untuk melakukan pertumbuhan sel.

Perbedaan total jumlah mikroba (CFU/ml) isolat bakteri terjadi pada saat dilakukan dengan pengujian menggunakan logam Zn yang disajikan dalam tabel 4.7, gambar 6, dan tabel 4.8 dibawah ini.

Tabel 4.7 Rata-rata 10^{\log} TPC bakteri dengan pemberian logam Zn 10 ppm pada hari ke-0, hari ke-3, dan ke-7.

No	Nama kode isolat	Rata-rata 10^{\log} TPC bakteri		
		Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-7
1	0A2E1	9,28±0,66	11,26±0,12	14,79±0,33
2	0A1E	7,39±0,07	10,81±0,26	15,45±0,13
3	SA1A	8,58±0,06	11,28±0,13	14,39±1,27
4	SA2A1	8,27±0,31	10,92±0,49	14,51±0,89
5	MB1C	9,26±0,14	10,79±0,44	14,17±0,37
6	OA2G	7,83±0,97	10,76±0,33	15,45±0,10
7	OA2E2	9,12±0,36	11,47±0,19	15,08±0,47



Gambar 6 Jumlah total bakteri (CFU/ml) dengan pemberian logam Zn 10 ppm pada hari ke-0, hari ke-3, dan ke-7

Tabel 4.8 Persentasi kenaikan jumlah total bakteri pada hari ke-3 dan ke-7 dengan pemberian 10 ppm logam Zn

No	Nama kode isolat	Persentasi kenaikan jumlah total mikroba (%) pada hari ke 0-3 dan hari ke 3-7	
		0-3 hari	3-7 hari
1	0A2E1	9,36	13,55
2	0A1E	18,79	17,66
3	SA1A	13,59	12,11
4	SA2A1	13,08	14,11
5	MB1C	7,63	13,54
6	OA2G	15,76	17,89
7	OA2E2	11,41	13,59

Pada tabel 4.7 menunjukkan bahwa pertumbuhan sel isolat terjadi pada hari ke-3 dan hari ke-7 seperti pada logam Pb. Tetapi pada uji logam Zn menunjukkan rata-rata pertumbuhan jumlah sel mikroba lebih stabil dan tidak ada penurunan jumlah sel. Pada gambar 6 menunjukkan bahwa isolat 0A1E mempunyai jumlah sel terendah pada hari ke-0. Selama 3 hari waktu inkubasi pertumbuhan jumlah sel meningkat sebesar 18,79% (tabel 4.8) yang merupakan persentasi pertumbuhan tertinggi pada hari ke-3, dan juga isolat mempunyai nilai pertumbuhan jumlah sel tertinggi kedua pada hari inkubasi ke-7 setelah isolat OA2G.

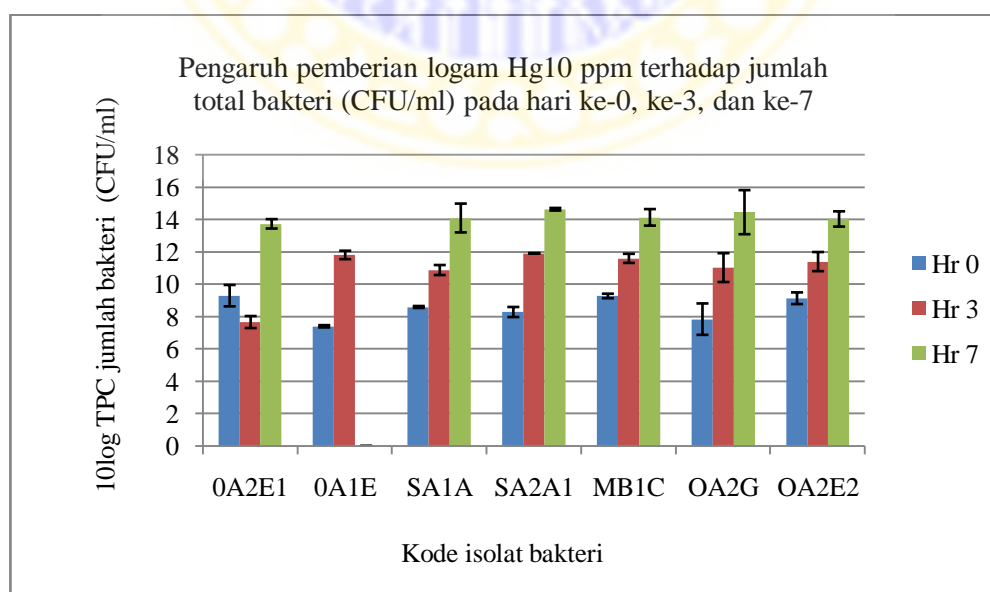
Isolat ini juga menunjukkan respon yang sama pada uji pertumbuhan dengan menggunakan logam Pb (tabel 4.5). Perilaku ini memperlihatkan bahwa isolat 0A1E dapat hidup dan beradaptasi dengan baik pada media atau lingkungan yang mengandung logam Pb dan Zn dengan konsentrasi masing-masing 10 ppm. Dengan kemampuan adaptasi ini, maka isolat mikroba ini diduga dapat memberikan kontribusi dalam melakukan degradasi logam yang berlebih di lingkungan.

Berbeda dengan isolat 0A1E, isolat 0A2E1 dan MB1C menunjukkan rata-rata kenaikan pertumbuhan jumlah sel terendah, walaupun jumlah sel yang diberi perlakuan lebih banyak daripada isolat yang lain.

Data hasil $^{10}\log$ TPC bakteri dengan pemberian logam Hg disajikan pada tabel 4.9, gambar 7 dan tabel 4.10.

Tabel 4.9 Rata-rata $^{10}\log$ TPC bakteri dengan pemberian logam Hg 10 ppm pada hari ke-0, hari ke-3, dan ke-7.

No	Nama kode isolat	Rata-rata $^{10}\log$ TPC bakteri		
		Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-7
1	0A2E1	9,28±0,66	7,65±0,37	13,71±0,29
2	0A1E	7,39±0,07	11,79±0,26	0
3	SA1A	8,58±0,06	10,86±0,31	14,07±0,89
4	SA2A1	8,27±0,31	11,89±0,02	14,61±0,08
5	MB1C	9,26±0,14	11,58±0,28	14,11±0,51
6	OA2G	7,83±0,97	11,01±0,89	14,43±1,36
7	OA2E2	9,12±0,36	11,38±0,59	14,01±0,47



Gambar 7 Jumlah total bakteri (CFU/ml) dengan pemberian logam Hg 10 ppm pada hari ke-0, hari ke-3, dan ke-7

Tabel 4.10 Persentasi kenaikan jumlah total bakteri pada hari ke-3 dan ke-7 dengan pemberian 10 ppm logam Hg

No	Nama kode isolat	Persentasi kenaikan jumlah total bakteri (%) pada hari ke 0-3 dan hari ke 3-7	
		0-3 hari	3-7 hari
1	0A2E1	9,62 (-)	28,37
2	0A1E	22,94	100 (-)
3	SA1A	11,72	28,76
4	SA2A1	17,95	10,26
5	MB1C	11,13	9,84
6	0A2G	16,87	13,44
7	0A2E2	11,02	10,35

Ket: (-) penurunan

Berdasarkan tabel 4.9 menunjukkan bahwa hampir semua isolat bakteri mampu tumbuh dan menunjukkan peningkatan jumlah total mikroba sampai hari ke-7. Berbeda dengan isolat 0A2E1 yang mengalami penurunan jumlah sel pada hari ke-3 dengan persentase penurunan sebesar 9,62% (tabel 4.10). Adanya penurunan jumlah sel ini diduga karena isolat mengalami proses adaptasi sehingga mempengaruhi pertumbuhan sel. Terlihat pada gambar 7 bahwa isolat telah berhasil melakukan adaptasi dibuktikan dengan persentase kenaikan pertumbuhan sebesar 28,37% (tabel 4.10).

Seperti pada logam Pb, dan Zn, isolat 0A1E juga mempunyai persentase kenaikan jumlah total sel bakteri terbesar pada hari ke-3 yaitu 22,94%, akan tetapi isolat bakteri ini tidak tumbuh pada hari ke-7. Laju pertumbuhan yang berhenti ini menandakan isolat tidak dapat bertahan dalam waktu yang lebih lama dalam media.

4.2.1 Pengaruh Pemberian Logam Pb, Zn, Dan Hg Dengan Konsentrasi 10 ppm Terhadap Rata-Rata $^{10}\log$ TPC Mikroba Tiap Isolat Mikroba.

Penambahan logam pada media tumbuh isolat bertujuan untuk mengetahui bagaimana respon isolat bakteri yang ditunjukkan dengan pola pertumbuhan sel. Adanya pertumbuhan sel bakteri menandakan bahwa bakteri melakukan suatu mekanisme sehingga resisten, mampu hidup, dan tumbuh pada media yang telah diberi logam (Giller, 1998). Menurut Nithya *et al.* (2011), bakteri dari habitat tercemar logam berat mempunyai resistensi terhadap logam berat melalui mekanisme biosorpsi dan atau bioakumulasi (Nies, 1999). Isolat bakteri pada penelitian ini merupakan hasil isolasi dari lumpur Pantai Kenjeran yang tercemar menunjukkan resistensi terhadap logam-logam yang diujikan. Tetapi peneliti tidak melakukan uji mekanisme resistensi terhadap logam uji, sehingga perlu dilakukan uji lanjutan tentang mekanisme resistensi dari tiap isolat bakteri untuk pemanfaatan lebih lanjut di lingkungan.

Resistensi suatu isolat mikroba terhadap suatu logam berbeda dengan logam lainnya. Isolat 0A1E mempunyai pertumbuhan yang bagus pada logam Pb, dan Zn pada hari ke-7, tetapi pada logam Hg tidak ada pertumbuhan sel. Anyanwu *et al.* (2011) dalam penelitiannya yang berjudul “*soil bacterial response to introduced metal stres*” juga menemukan penurunan jumlah sel bakteri heterotrofik dengan pemberian logam Ni, Zn, dan Hg dengan waktu inkubasi selama 28 hari. Perbedaan kemampuan adaptasi pada tiap logam mempengaruhi pola pertumbuhan suatu isolat bakteri (Rathnayake, 2009).

Pemberian logam pada media memberikan pengaruh terhadap fase-fase pertumbuhan isolat. Pertumbuhan isolat bakteri diawali dengan fase lag (adaptasi) dan fase ini mempengaruhi fase pertumbuhan lainnya. Secara keseluruhan, terlihat adanya pertumbuhan sel pada hari ke-3. Namun secara pasti, belum dapat ditentukan apakah awal pertumbuhan pada 72 jam (hari ke-3) atau sebelum 72 jam karena peneliti mengambil data pada hari ke-0, ke-3, dan ke-7.

Data rata-rata pertumbuhan tiap isolat digunakan untuk menghitung waktu generasi dari tiap isolat bakteri. Waktu generasi digunakan untuk mengetahui isolat manakah yang melakukan pembelahan sel yang tercepat pada masing-masing logam. Perhitungan waktu generasi dari tiap isolat dapat dilihat pada tabel 4.11 dibawah ini.

Tabel 4.11 Waktu generasi tiap isolat bakteri pada logam Pb, Zn, dan Hg

No	Kode isolat bakteri	Pb	Zn	Hg
		G (jam)	G (jam)	G (Jam)
1	OA2E1	0	10,94	13,29
2	OA1E	4,91	6,34	4,92
3	SA1A	10,08	8,03	9,50
4	SA2A1	6,73	8,18	5,99
5	MB1C	12,31	14,16	9,34
6	OA2G	6,65	7,40	6,81
7	OA2E2	10,12	9,22	9,59

Pada tabel diatas menunjukkan variasi waktu generasi untuk tiap isolat pada tiap logam. pada tabel dapat dilihat bahwa isolat OA1E mempunyai waktu generasi tercepat dari semua isolat untuk semua logam. Sedangkan isolat OA2G mempunyai waktu tercepat untuk logam Pb dan Zn setelah isolat OA1E. Waktu generasi tercepat untuk logam Hg setelah isolat OA1E adalah isolat SA2A1. Pada

isolat bakteri 0A2E1 tidak dapat dilakukan penghitungan waktu generasi karena isolat mengalami penurunan jumlah sel pada hari ke-3

Perbedaan waktu generasi ini menunjukkan bahwa kecepatan pembelahan sel juga dipengaruhi dari lingkungan. Perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menemukan waktu generasi optimal dari tiap isolat. Sehingga diharapkan dapat ditemukan kondisi lingkungan yang cocok untuk waktu generasi yang optimal (Mayanti *et al.*, 2009 karena kondisi optimal ini akan mempercepat metabolisme dan pembelahan sel akan lebih cepat terjadi.

4.3 Hubungan Antara Uji Resistensi Dengan Uji Pertumbuhan Isolat yang Telah Diberi Logam Pb, Zn, dan Hg.

Prinsip dari kedua uji ini adalah pertumbuhan mikroba dengan perlakuan pemberian logam uji. Tetapi perbedaan dari kedua uji ini adalah untuk uji resistensi menggunakan media padat sedangkan untuk uji pertumbuhan menggunakan media cair. Selain itu, data dari tiap uji mempresentasikan tujuan yang berbeda. Uji resistensi dilakukan untuk mengetahui tingkat resistensi tiap isolat. Perbandingan isolat bakteri terbaik antara uji resistensi dan uji pertumbuhan bakteri disajikan pada tabel 4.12 di bawah ini.

Tabel 4.12 Perbandingan hasil antara uji resistensi dan uji pertumbuhan

No	Kode isolat bakteri	Kode isolat bakteri hasil uji resistensi			Waktu generasi isolat terpilih dari masing-masing logam (jam)
		Pb	Zn	Hg	
1	0A1E	√			4,91
2	MB1C		√		14,16

3	OA2G			√	6,81
---	------	--	--	---	------

Dari tabel 4.12 telah ditentukan tiga isolat untuk uji resistensi yaitu OA1E, MB1C, dan OA2G sebagai kandidat yang mempunyai resistensi terbaik untuk logam Pb, Zn, dan Hg dikaji dari rata-rata diameter zona halo yang terbentuk. Sedangkan uji pertumbuhan digunakan untuk mengetahui pertumbuhan dari masing-masing isolat terhadap perlakuan logam berat. Hasil yang didapat dari uji pertumbuhan ini bahwa isolat OA1E melakukan pembelahan sel lebih cepat dari isolat lainnya yang terlihat dari waktu generasinya.

Adanya resistensi menunjukkan bahwa penambahan suatu bahan (logam) tidak mempengaruhi atau memberikan pengaruh yang tidak signifikan terhadap pertumbuhan mikroba (Setiabudy dan Gan, 1995). Tetapi pada tabel 4.12 menunjukkan bahwa kandidat isolat resisten logam Zn, yaitu isolat MB1C mempunyai waktu generasi 14,16 jam, waktu generasi terlama dari isolat lainnya. Menurut Zaed (2011), waktu generasi juga dipengaruhi oleh tahapan fase dalam pertumbuhan mikroba.

Fase-fase pertumbuhan juga ditentukan oleh jenis dari isolat bakteri itu sendiri. Mayanti *et al.* (2011) dalam penelitiannya mengungkap adanya perbedaan waktu generasi dari *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, dan *Bacillus cereus* yang diisolasi dari *commercial seed* pengolah limbah cair cat dengan menanam pada media NB (*Nutrient Broth*) tanpa perlakuan. Hasil yang didapat bahwa ketiga bakteri tersebut mempunyai waktu generasi yang berbeda-beda seperti pada tabel 4.13 dibawah ini.

Tabel 4.13 Waktu generasi *Bacillus* (Mayanti *et al.* (2011))

No	Bakteri	Waktu generasi (menit)
1	<i>Bacillus licheniformis</i>	25,20
2	<i>Bacillus subtilis</i>	33,43
3	<i>Bacillus cereus</i>	30,95

Data waktu generasi dari tabel 4.13 menunjukkan bahwa ada perbedaan waktu generasi dari tiap jenis bakteri. Pada uji pertumbuhan dengan penambahan logam menunjukkan perbedaan pula pada waktu generasi tiap bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa ada banyak faktor yang dapat mempengaruhi waktu generasi selain dari pemberian logam, seperti pH, dan suhu (Thiel, 1999)

Data yang telah didapat dari uji resistensi dan uji pertumbuhan akan digunakan sebagai acuan untuk melakukan identifikasi dan uji degradasi logam berat dengan menggunakan AAS. Sehingga serangkaian uji-uji yang telah dilakukan bertujuan untuk mengungkap isolat manakah yang mempunyai tingkat resistensi tertinggi dan dapat melakukan degradasi terhadap logam uji.

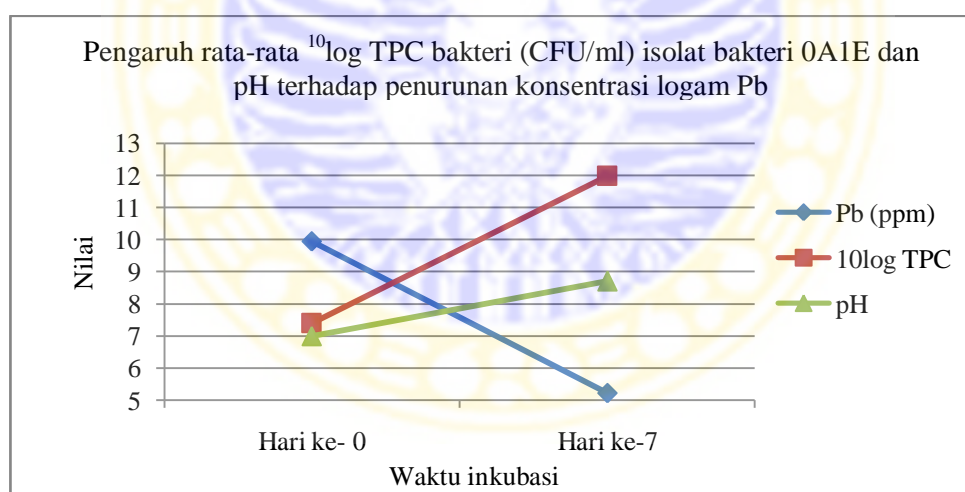
4.4 Uji Degradasi Isolat Terpilih Terhadap Logam Pb, Zn, Dan Hg Serta Perbandingannya Dengan Pertumbuhan Dan pH Isolat Bakteri

Uji degradasi dilakukan untuk mengetahui kemampuan degradasi isolat bakteri terpilih terhadap logam yang diujikan. Uji degradasi akan dikomparasikan dengan pertumbuhan sel bakteri dan perubahan pH dengan waktu inkubasi selama 7 hari. Pemilihan isolat bakteri berdasarkan uji resistensi terhadap logam pb, Zn,

dan Hg dengan memilih isolat bakteri yang mempunyai diameter zona halo terkecil untuk tiap-tiap logam. Hasil dari uji degradasi akan disajikan pada tabel 4.14 dan gambar 10-12 dibawah ini.

Tabel 4.14 Perbandingan antara penurunan konsentrasi logam (ppm) dengan Rata-rata $^{10}\log$ TPC bakteri (CFU/ml) dan perubahan pH

No	Kode isolat bakteri	Isolat terbaik resiten logam-	Penurunan konsentrasi logam (ppm)			Rata-rata $^{10}\log$ TPC bakteri (CFU/ml)			Perubahan pH media	
			Hari ke-0	Hari ke-7	Persen tase (%)	Hari ke-0	Hari ke-7	Persen tase (%)	Hari ke-0	Hari ke-7
1	0A1E	Pb	9,95	5,22	31,17	7,39	11,98	23,69	7	8,7
2	MB1C	Zn	10,12	4,15	58,17	9,26	14,17	20,95	7	7,67
3	OA2G	Hg	9,88	6,01	37,82	7,83	14,43	29,64	7	7,47



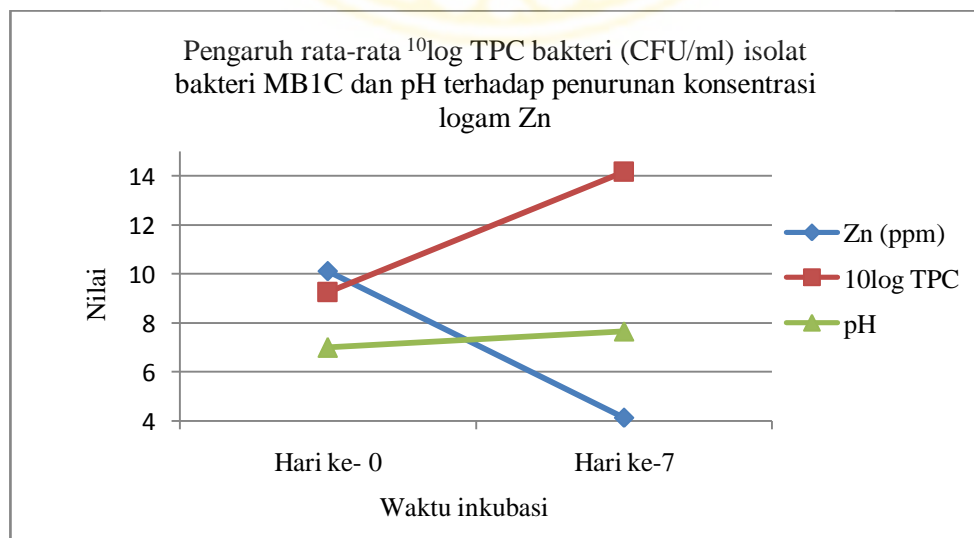
Gambar 8 Pengaruh rata-rata $^{10}\log$ TPC bakteri (CFU/ml) isolat bakteri 0A1E dan pH terhadap penurunan konsentrasi logam Pb.

Pada tabel 4.14 diatas menunjukkan bahwa secara keseluruhan isolat bakteri terpilih dapat melakukan degradasi logam uji. Proses penurunan konsentrasi logam uji terjadi seiring naiknya jumlah sel bakteri dan juga kenaikan

pH. Hasil yang disajikan membuktikan bahwa isolat bakteri terpilih melakukan suatu mekanisme sehingga konsentrasi logam di media dapat berkurang, dan pengurangan konsentrasi tiap logam oleh tiap bakteri tidaklah sama. Adanya perbedaan jumlah konsentrasi logam yang hilang membuktikan bahwa kemampuan degradasi tiap bakteri berbeda-beda.

Pada gambar 8 menunjukkan bahwa ada penurunan konsentrasi logam Pb sebesar 31,17 % (tabel 4.14) dengan waktu inkubasi selama 7 hari. Pertumbuhan sel meningkat 23,96 % dengan 7 hari waktu inkubasi, kenaikan ini terjadi seiring dengan penurunan konsentrasi logam Pb. Selain itu, pH media juga mengalami peningkatan menjadi 8,7 pada hari ke-7. Diduga aktivitas bakteri dapat mempengaruhi pH media sehingga menjadi basa. Aktivitas bakteri ini berhubungan dengan mekanisme untuk melakukan degradasi dan dapat mempengaruhi sifat media dengan melepas enzim yang mendukung proses degradasi.

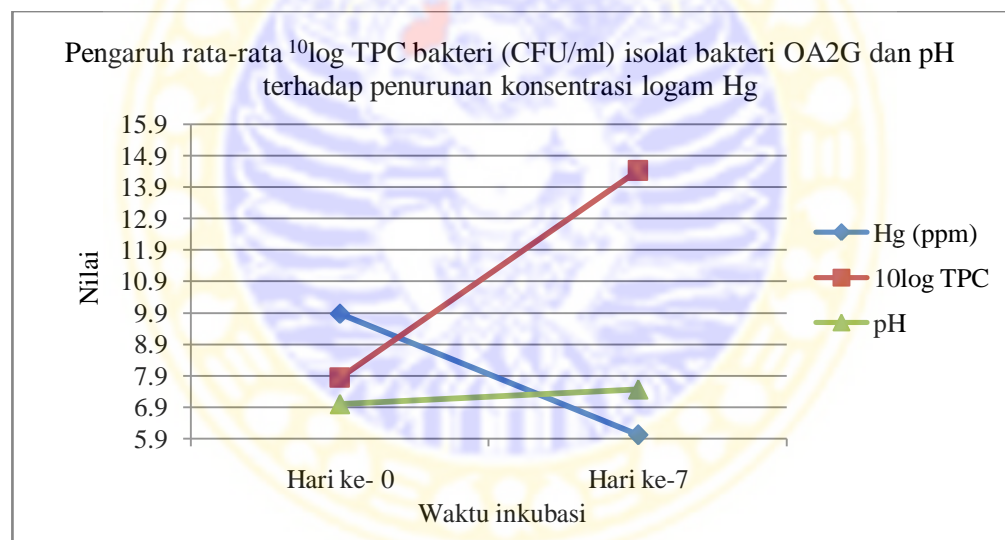
Uji degradasi logam Zn oleh isolat MB1C juga menunjukkan hasil yang sama dan disajikan pada gambar 9 dibawah ini.



Gambar 9 Perbandingan Pengaruh rata-rata $^{10}\log$ TPC bakteri (CFU/ml) isolat bakteri MB1C dan pH terhadap penurunan konsentrasi logam Zn

Pada gambar 9 menunjukkan bahwa adanya penurunan konsentrasi logam Zn oleh isolat bakteri MB1C. Penurunan konsentrasi Zn sebesar 58,17 % diikuti dengan kenaikan jumlah sel sebesar 20,95 % dengan waktu inkubasi selama 7 hari. Pada uji degradasi logam Zn juga terjadi kenaikan pH tetapi lebih rendah daripada kenaikan pH pada uji logam Pb.

Uji degradasi logam Hg oleh isolat bakteri OA2G akan disajikan oleh gambar 10.



Gambar 10 Perbandingan Pengaruh rata-rata $^{10}\log$ TPC bakteri (CFU/ml) isolat bakteri OA2G dan pH terhadap penurunan konsentrasi logam Hg

Gambar 10 menunjukkan pola yang sama untuk logam Pb, dan Zn. Penurunan konsentrasi Hg sebesar 37,82% oleh isolat OA2G dengan kenaikan jumlah sel isolat sebesar 29,64 %. Terjadi kenaikan pH menjadi 7.47 (tabel 4.14). Kenaikan pH yang terjadi lebih rendah daripada isolat OA1E, dan isolat MB1C.

Proses degradasi dari tiap isolat bakteri merupakan upaya melakukan adaptasi dengan lingkungan. Degradasi yang dilakukan oleh bakteri tidak dapat menghancurkan logam (Lovley and Lloyd, 2000), akan tetapi bakteri melakukan suatu transformasi dari suatu bentuk menjadi bentuk lain melalui proses oksidasi atau dengan proses kompleks organik lainnya. Transformasi logam mengubah sifat logam menjadi *water soluble*, mengurangi toksisitas, dan lebih mudah menguap (Garbisu and Alkorta, 1997).

Meningkatnya jumlah sel bakteri mengakibatkan konsentrasi logam menurun. Hal ini terjadi karena banyaknya sel membuat proses degradasi semakin cepat, karena bakteri melakukan bioakumulasi dan biosorpsi logam (Nithya, 2011). Pada saat terjadinya proses degradasi, pH media dapat berubah menjadi asam atau basa. Pada uji degradasi logam yang dilakukan, pH media dibuat netral (pH 7), tetapi pada 7 hari waktu inkubasi pH media menjadi naik. Peningkatan pH terjadi akibat adanya proses reduksi nitrat membentuk ammonia atau gas nitrogen (Taner, 1997). Pada proses lain, penurunan pH terjadi bila suatu proses degradasi menghasilkan asam-asam organik.

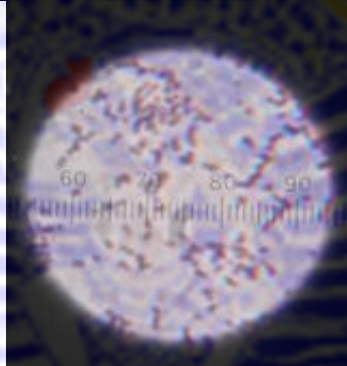
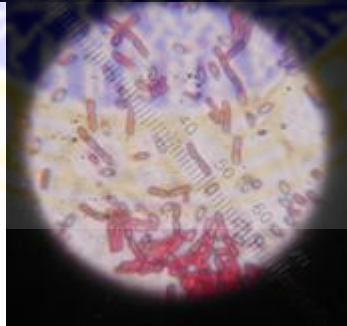
Perlu dilakukan penelitian lanjut untuk mengetahui optimalisasi tiap isolat dalam melakukan degradasi logam berat, sehingga hasil yang didapat dapat digunakan untuk menanggulangi permasalahan pencemaran logam yang terjadi di lingkungan.

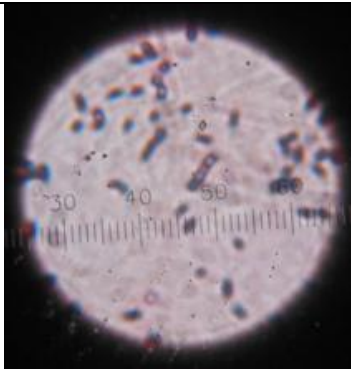
4.5 Identifikasi Isolat Bakteri Terpilih Untuk Tiap Logam Pb, Zn, Dan Hg

4.5.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram digunakan untuk mengetahui bentuk dan golongan gram dari tiap isolat bakteri terpilih. Hasil pewarnaan gram dan karakter makroskopik akan disajikan pada tabel 4.15.

Tabel 4.15 Karakter mikroskopik isolat bakteri terpilih pada tiap logam uji

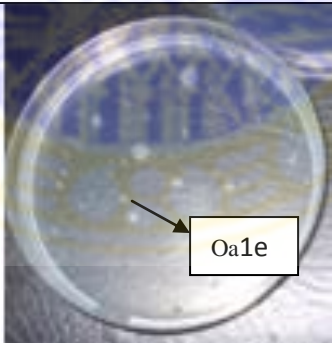

No	Kode isolat bakteri	Foto (10x100)	Gram	Bentuk sel
1	0A1E		-	kokoid
2	MB1C		-	batang

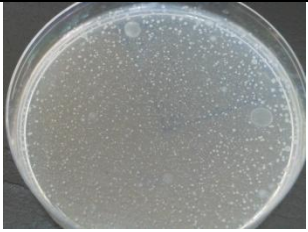
3	OA2G		+	batang
---	------	--	---	--------

4.5.2 Karakteristik Makroskopik Isolat bakteri terpilih

Pengamatan karakteristik isolat untuk mengetahui bentuk koloni, tepi koloni, dan warna koloni. Hasil pengamatan makroskopik isolat bakteri disajikan pada tabel 4.16 dibawah ini.

Tabel 4.16 Karakter makroskopik isolat bakteri terpilih pada tiap logam uji

No	Kode isolat bakteri	Foto (10x100)	Gram	Bentuk sel
1	OA1E		-	kokoid
2	MB1C		-	batang

3	OA2G		+	batang
---	------	---	---	--------

Tabel 4.17 Karakter koloni isolat bakteri terpilih

No	Kode isolat bakteri	Karakter koloni			
		Warna	Bentuk	Tepi	Elevasi
1	0A1E	Transparan kebiruan	Circular	Rata	Cembung
2	MB1C	Putih	Circular	Rata	Flat
3	OA2G	Putih	Circular	Rata	Flat

Dari hasil uji Kit dan identifikasi bakteri didapat nama genus isolat bakteri terpilih: Isolat 0A1E adalah *Vibrio sp.* mempunyai kemiripan dengan *Vibrio alginoliticus* sebesar 94,97 % ; Isolat MB1C adalah *Pseudomonas sp.* mempunyai kemiripan dengan *Pseudomonas stutzeri* sebesar 93,70 % ; Isolat OA2G adalah *Bacillus sp.* dengan kode ST65.