

**Uji Kemampuan Tumbuh Isolat Bakteri dari Air dan Sedimen Sungai Tallo
Terhadap Logam Timbal (Pb)**

Fahrudin, Nur Haedar, Slamet Santosa, Sri Wahyuni

*Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddin
E-mail: fahrudin@gmail.com*

Abstract

The stretch of the Tallo River which stretches across the Makassar city area, and not far from the Makassar Industrial Area, causes contamination of various heavy metals. Some bacteria grow in the presence of toxic properties on heavy metals. The purpose of this study was to obtain bacterial isolates that were able to grow at several concentrations of lead (Pb). Bacteria were isolated by using Nutrient Agar has been added Pb (NO)₃ 10 ppm. Resistance test was conducted by turbidimetry using a spectrophotometer. Based on research that has been done, the result of isolation of resistant bacteria lead from Tallo River showed that 5 isolates from samples of sediment with code isolates SM3, SM5, SM6, SM9 and SM10, while for the water samples obtained 3 isolates by code isolates AR1, AR2 and AR3. Ability to resist bacteria ie until the concentration of 50 ppm, while the highest growth ability of each different isolates, the highest growth capability isolates SM3, SM6 SM10 and AR3 at a concentration of 10 ppm. SM5 isolates had the highest growth capability at a concentration of 15 ppm. AR2 isolates had the highest growth capability at a concentration of 20 ppm. Isolates SM9 and AR1 has the highest growth capability at a concentration of 25 ppm.

Keywords: heavy metals, sediments, lead, Tallo River

PENDAHULUAN

Timbal (Pb) merupakan logam toksik yang mudah terakumulasi dalam organ manusia dan dapat mengakibatkan gangguan kesehatan berupa anemia, gangguan fungsi ginjal, gangguan sistem syaraf, otak dan kulit. Logam Pb yang masuk ke dalam tubuh dapat dalam bentuk Pb-organik seperti tetra etil Pb dan Pb anorganik seperti oksida Pb. Toksisitas Pb baru akan terlihat bila orang mengkonsumsi Pb lebih dari 2 mg perhari, ambang batas dari Pb yang boleh dikonsumsi adalah 0,2-2,0 mg per hari (Laws, 1993; Hendozko *et al.* 2010).

Senyawa logam berat tidak dapat didegradasi secara biologi. Penyisihan secara biologi yang dapat terjadi hanya merupakan adsorpsi oleh jasad hidup, dan logam berat tersebut akan terakumulasi di dalam sel jasad hidup tersebut. Beberapa mikroorganisme dari jenis bakteri yang dapat mengakumulasi ion-ion logam berat dalam selnya, sehingga dapat berkurang konsentrasi ion logam dalam lingkungan. Dengan melewati limbah cair yang mengandung logam berat pada suatu

kumpulan sel mikroba yang diimobilisasi, atau suatu lumpur aktif (*activated sludge*) yang diinokulasikan mikroorganisme pengakumulasi logam berat. Buangan limbah cair tersebut diharapkan sudah tidak lagi mengandung logam berat, sehingga tidak mengakibatkan polusi dan keracunan logam berat (Fahrudin, 2010).

Sungai Tallo dimanfaatkan secara maksimal sebagai sarana transportasi air, pariwisata, sumber air baku, dan budi daya perikanan. Tentunya akan menjadi perhatian khusus dalam penempatan zona budi daya perikanan laut dan zona tangkap di sekitar muara Sungai Tallo. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Setiawan *et al.* (2015), kandungan Pb terbesar terdapat pada sampel sedimen yang berasal dari muara Sungai Tallo yaitu 66,6 ppm. Pada penelitian ini penilaian ambang batas logam berat pada sedimen mengacu pada *Canadian Council of Ministers for the Environment* (CCME). Berdasarkan acuan tersebut, nilai ambang batas untuk logam berat Pb dalam sedimen sebesar 30,2 ppm. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Zulfikar *et. al* (2013), kandungan logam berat timbal pada sebagian air di Tallo memiliki konsentrasi timbal sebesar 0,395mg/L dari standar dengan nilai 0,05 mg/L. Dengan demikian, kandungan Pb pada sedimen dan air yang berasal dari Sungai Tallo telah melebihi nilai ambang batas.

Mengingat bahaya Pb bagi manusia maka perlu dilakukan tindakan pemulihan terhadap badan air yang terkontaminasi oleh timbal dengan memanfaatkan mikroorganisme. Menurut Henggar (2011), bakteri yang diisolasi dari lingkungan yang tercemar logam berat timbal mempunyai daya resisten terhadap logam timbal yang ada disekitarnya yang memiliki kemampuan adaptasi genetik. Resistensi dapat melalui mekanisme biosorpsi dan/atau bioakumulasi. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan isolat bakteri resistensi logam timbal (Pb) yang berasal dari Sungai Tallo Makassar.

METODE PENELITIAN

Pengambilan Sampel

Sampel sedimen dan air yang diperoleh dari Sungai Tallo, dengan pertimbangan bahwa sedimen dan air tersebut telah mengalami kontaminasi timbal (Pb). Sampel yang diambil dimasukkan ke dalam plastik sampel yang selanjutnya dibawa ke laboratorium untuk dilakukan pengujian.

Isolasi Bakteri Resistensi Pb

Sampel air diambil sebanyak 1 mL dan diencerkan dengan aquades steril dari 10^{-1} – 10^{-6} . Sampel pengenceran dari 10^{-4} – 10^{-6} diambil 1 mL selanjutnya ditumbuhkan pada media Nutrient Agar yang telah ditambah $Pb(NO)_3$ 10 ppm. Kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Jumlah koloni bakteri yang tumbuh dihitung dengan metode *Standart Plate Count*. Koloni bakteri yang tumbuh merupakan bakteri yang resisten terhadap Pb.

Pengamatan Morfologi

Pengamatan yang dilakukan meliputi bentuk koloni, warna koloni, tepi koloni, permukaan koloni, serta morfologi sel dan sifat gram bakteri serta adanya endospora yang dilakukan untuk mengelompokkan isolat yang diperoleh.

Tahap Pemurnian Bakteri

Koloni yang berbeda diinokulasikan pada permukaan media Nutrient Agar yang ditambah dengan 10 ppm Pb(NO)₃ dengan metode gores. Kemudian diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Tahapan pemurnian dilakukan 2 kali, Setiap koloni yang terbentuk setelah pemurnian diinokulasi pada medium Nutrient Agar miring yang ditambah 10 ppm Pb(NO)₃.

Uji Resistensi Bakteri Pada Pb

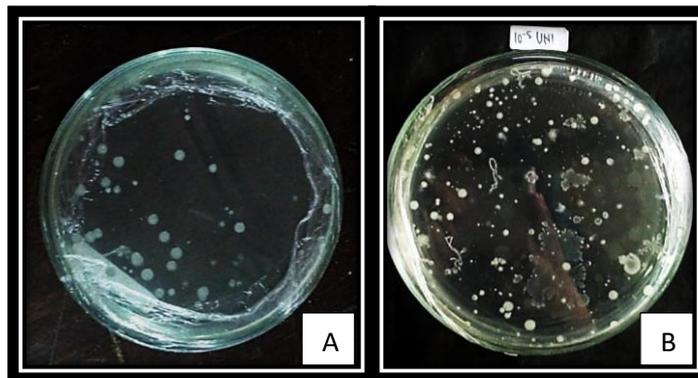
Pengujian isolat bakteri pada beberapa konsentrasi Pb dilakukan dengan metode turbidimetri. Tingkat resistensi isolat bakteri terhadap timbal (Pb) diperoleh dengan mengukur kekeruhan media pertumbuhan bakteri menggunakan spektrofotometer. Jumlah sinar yang diabsorpsi dinyatakan dalam OD (*Optical Density*) yang berbanding lurus dengan konsentrasi sel. Konsentari yang digunakan adalah 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, 50 ppm dan satu buah kontrol. Uji resistensi dilakukan dengan mengukur kekeruhan media pertumbuhan, yaitu dengan cara menumbuhkan 0,5 mL suspensi bakteri dalam media *Nutrient Broth* berbagai konsentrasi timbal (Pb). Media kemudian diinkubasi selama 2 x 24 jam. Setelah diinkubasi, dilakukan pengukuran pertumbuhan bakteri menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm, kemudian dilakukan perhitungan nilai OD (*Optical Density*) dengan rumus:

$$OD = 2 - \log \% T$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Resisten Pb

Bakteri resisten timbal diisolasi dari sampel sedimen dan air yang diduga terkontaminasi timbal (Pb) di kawasan Sungai Tallo. Pada tahap isolasi digunakan media *Nutrient Agar* (NA) yang ditambahkan 10 ppm Pb(NO)₃ dan diinkubasi selama 1 x 24 jam. Setelah diinkubasi diperoleh koloni bakteri yang tumbuh pada media *Nutrient Agar* (NA) seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Pertumbuhan koloni bakteri resisten timbal. (A) Sampel sedimen. (B) Sampel air

Setelah diinkubasi, jumlah koloni bakteri yang tumbuh dihitung dengan metode SPC (*Standart Plate Count*). Berdasarkan hasil perhitungan jumlah bakteri dari kedua sampel tampak bahwa pertumbuhan bakteri dari sampel sedimen lebih tinggi yaitu $5,4 \times 10^{11}$ dibanding sampel air yaitu $1,4 \times 10^7$. Hal ini dikarenakan logam berat timbal yang masuk ke lingkungan perairan pada akhirnya akan terakumulasi di sedimen. Menurut Cunha *et al.* (2008), pencemaran logam berat yang masuk ke lingkungan perairan sungai dapat terlarut dalam air dan akan terakumulasi dalam sedimen yang dapat bertambah sejalan dengan berjalannya waktu, tergantung pada kondisi lingkungan perairan tersebut.

Koloni bakteri yang tumbuh dari tahap isolasi merupakan bakteri yang resisten terhadap timbal (Pb) karena isolasi dilakukan dengan media selektif NA (*Nutrient Agar*) yang mengandung 10 ppm $Pb(NO)_3$ dan diisolasi dari kawasan yang tercemar logam berat. Menurut Henggar (2011), bakteri yang diisolasi dari lingkungan yang tercemar logam berat timbal mempunyai daya resisten terhadap logam timbal yang ada disekitarnya disebabkan karena adanya kemampuan untuk mendetoksifikasi pengaruh logam berat. Bakteri yang hidup pada air yang terpolusi mencerminkan kemampuan mikroba tersebut untuk beradaptasi terhadap lingkungan dengan kandungan logam berat yang relatif tinggi.

Isolat bakteri yang diperoleh dari hasil isolasi kemudian dimurnikan. Tahap pemurnian dilakukan dengan memilih koloni-koloni yang berbeda kemudian diinokulasikan pada medium NA (*Nutrient Agar*) yang ditambah dengan 10 ppm $Pb(NO)_3$. Tahapan pemurnian dilakukan 2 kali untuk lebih meyakinkan bahwa koloni yang terbentuk benar-benar murni. Pada tahap pemurnian diperoleh 10 isolat bakteri dari sampel sedimen, yaitu isolat SM1, SM2, SM3, SM4, SM5, SM6, SM7, SM8, SM9 dan SM10. Sedangkan untuk sampel air diperoleh 3 isolat bakteri, yaitu isolat AR1, AR2 dan AR3. Setiap koloni yang terbentuk setelah pemurnian kemudian diinokulasikan pada medium NA (*Nutrient Agar*) miring yang telah ditambah dengan 10 ppm $Pb(NO)_3$ untuk digunakan pada pengujian resistensi. Pada uji resistensi digunakan 5 isolat dari sampel sedimen, yaitu isolat SM3, SM5, SM6, SM9 dan SM10. Sedangkan untuk sampel air digunakan 3 isolat untuk uji resistensi, yaitu isolat AR1, AR2 dan AR3.

Pertumbuhan Isolat Bakteri pada Beberapa Konsentrasi Pb

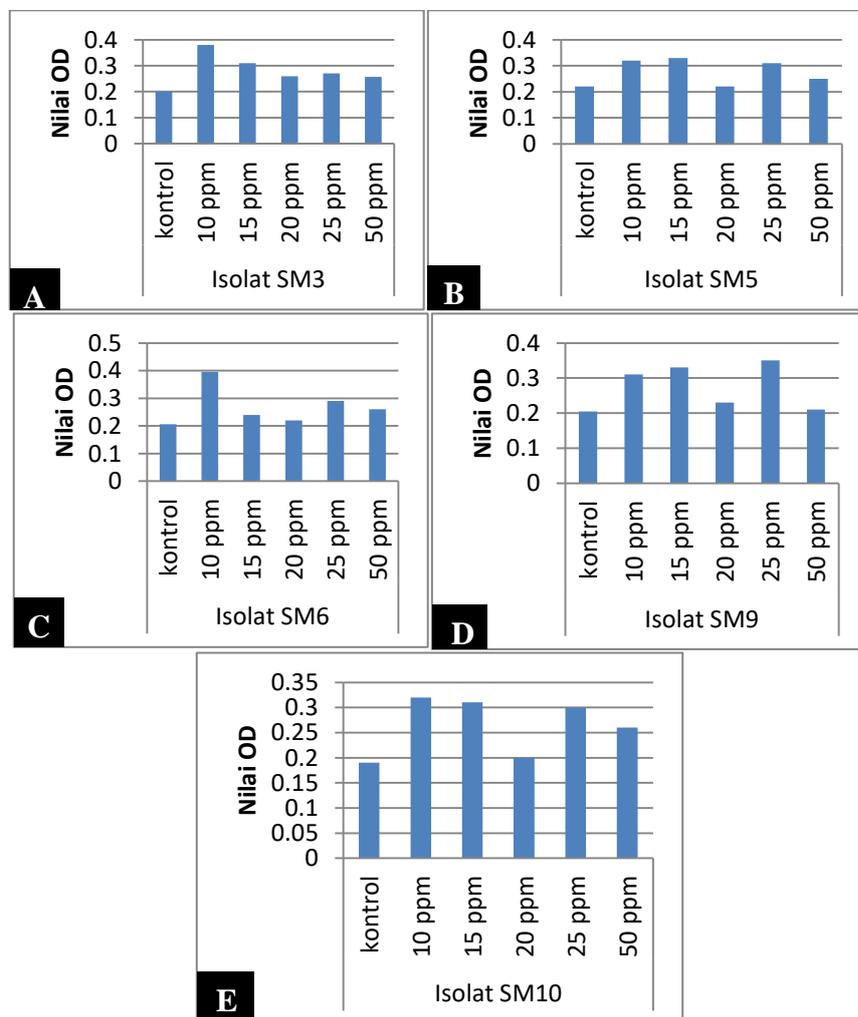
Untuk mengetahui kemampuan resistensi isolat bakteri terhadap logam berat timbal, maka dilakukan uji resistensi isolat bakteri pada beberapa konsentrasi timbal yaitu 10, 15, 20, 25 dan 50 ppm serta kontrol. Uji resistensi dilakukan pada 8 isolat, yaitu isolat SM3, SM5, SM6, SM9, SM10, AR1, AR2 dan AR3. Uji resistensi dilakukan dengan metode turbidimetri seperti terlihat pada Gambar 2.

Turbidimetri merupakan analisis kuantitatif yang didasarkan pada pengukuran kekeruhan atau turbidan dari suatu larutan akibat adanya suspensi partikel padat dalam larutan. Tingkat resistensi isolat bakteri terhadap timbal (Pb) diperoleh dengan mengukur kekeruhan media pertumbuhan bakteri menggunakan spektrofotometer, yaitu pertumbuhan bakteri melalui penentuan massa sel yang dinyatakan dengan OD (*Optical Density*). Semakin rendah nilai OD (*Optical Density*) menandakan bahwa semakin rendah pula pertumbuhan dari isolat bakteri tersebut. Panjang gelombang yang digunakan adalah 580 nm.

Hasil pengamatan pertumbuhan isolat bakteri pada variasi konsentrasi timbal (Pb) ditandai dengan tingkat kekeruhan pada medium tumbuh yang menunjukkan bahwa masing-masing bakteri

mempunyai batas hidup pada konsentrasi timbal yang berbeda. Berdasarkan hasil uji resistensi ke-5 isolat bakteri resisten timbal dari sampel sedimen menunjukkan bahwa kemampuan resisten tertinggi dari bakteri adalah 50 ppm. Hal ini dikarenakan masih tampak adanya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi tersebut.

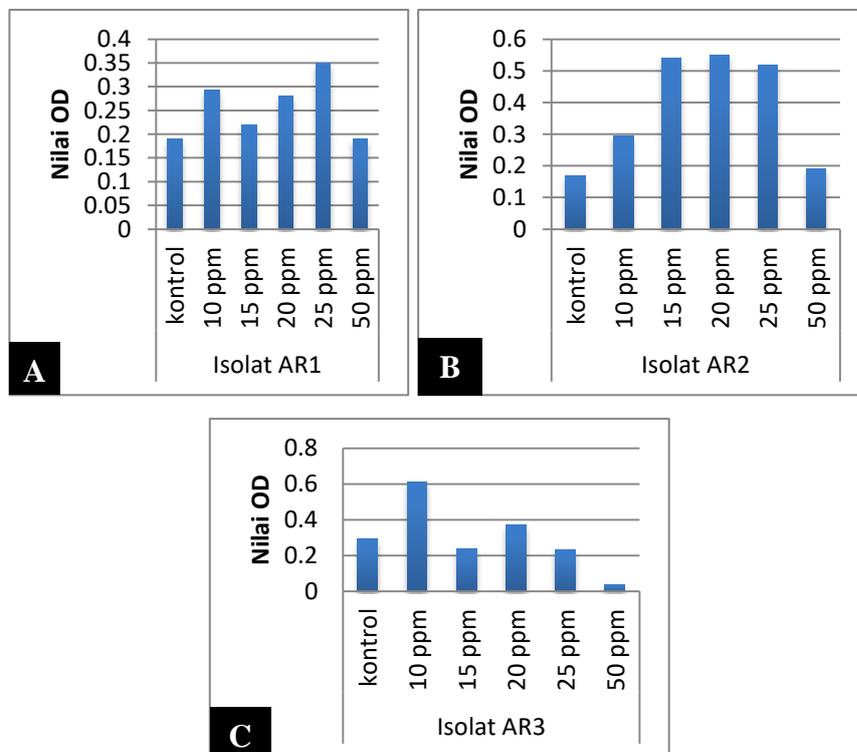
Kemampuan pertumbuhan tertinggi isolat bakteri pada berbagai variasi timbal menunjukkan hasil yang berbeda-beda. Hal ini dikarenakan isolat SM3, SM6 dan SM10 mempunyai kemampuan pertumbuhan tertinggi pada konsentrasi 10 ppm, sedangkan isolat SM5 memiliki kemampuan pertumbuhan tertinggi pada konsentrasi 15 ppm, dan isolat SM9 mempunyai kemampuan pertumbuhan tertinggi pada konsentrasi 25 ppm dibandingkan konsentrasi lain. Hal ini terlihat dari nilai OD (*Optical Density*) yang semakin tinggi pada konsentrasi tersebut.



Gambar 2. Pertumbuhan bakteri dari sampel sedimen. (A) Isolat SM3, (B) Isolat SM5, (C) Isolat SM6, (D) Isolat SM9, (E) Isolat SM10

Hasil ini dapat didukung dengan pernyataan oleh Prasetya (2012), bahwa genera bakteri dapat beradaptasi terhadap cekaman logam timbal pada konsentrasi 10 hingga 25 ppm. Perbedaan pertumbuhan isolat bakteri ini menunjukkan bahwa masing-masing isolat memiliki batas maksimum toleransi terhadap logam timbal. Menurut Husain (2005) mikroba yang hidup pada air yang terpolusi mencerminkan kemampuan mikroba tersebut untuk beradaptasi terhadap lingkungan dengan kandungan logam berat yang relatif tinggi.

Berdasarkan hasil uji resistensi ke-3 isolat bakteri resisten timbal dari sampel air pada Gambar 3, menunjukkan bahwa pada konsentrasi 50 ppm bakteri masih memiliki kemampuan resisten. Hal ini dikarenakan masih adanya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi tersebut. Menurut Wulandari (2008), menyatakan bahwa bakteri yang resisten (tahan) terhadap logam berat disebabkan kemampuan untuk mendetoksifikasi pengaruh logam berat dengan adanya protein atau material granuler seperti polifosfat di dalam sel yang mampu mengikat timbal (Pb).



Gambar 3. Pertumbuhan bakteri dari sampel air. (A) Isolat AR1, (B) Isolat AR2, (C) Isolat AR3,

Terlihat bahwa setiap isolat bakteri memiliki kemampuan pertumbuhan tertinggi yang berbeda-beda. Isolat AR1 mempunyai kemampuan pertumbuhan tertinggi pada konsentrasi 25 ppm, isolat AR2 mempunyai kemampuan pertumbuhan tertinggi pada konsentrasi 20 ppm, sedangkan isolat AR3 memiliki kemampuan pertumbuhan tertinggi pada konsentrasi 10 ppm. Hal ini terlihat dari nilai OD (*Optical Density*) yang lebih tinggi pada konsentrasi tersebut. Perbedaan pertumbuhan isolat bakteri ini dikarenakan masing-masing isolat memiliki batas kemampuan toleransi terhadap logam timbal.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa Hasil isolasi bakteri resisten timbal dari Sungai Tallo diperoleh 5 isolat dari sampel sedimen dengan kode isolat SM3, SM5, SM6, SM9 dan SM10, sedangkan untuk sampel air diperoleh 3 isolat dengan kode isolat AR1, AR2 dan AR3. Semua isolat bakteri memiliki kemampuan resistensi sampai pada konsentrasi 50 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Casas, J. S and Sordo, J., 2006. *Lead, Chemistry, Analytical Aspects, Environmental Impact and Health Effects*. Departamento de Quimica Inorganica Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago Compostela, Galicia, Spain.
- Cunha, L., A. Amaral, V. Medeiros, G. M. Martins, F. Wallenstein, R.P. Couto, A.I Neto, and A. Rodriques, 2008. *Bioavalibility metals and cellular effects in the digestive gland of marine limpets living close to swallow water hydrothermal vents*. Chemosphere 71 : 1356-1362.
- Fahrudin, 2010. *Bioteknologi Lingkungan*. Alfabeta. Bandung.
- Hendozko, E., P.Szefer, and J. Warzocha, 2010. *Heavy metals in Macomabalthica and extractable metals in sediments from the southern Baltic Sea*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 73: 152–163.
- Henggar, 2011. *Bioremediasi Logam Timbal (Pb) dalam Tanah Terkontaminasi Limbah Sludge Industri Kertas Proses Deinking*. Jurnal Selulosa. 1(1) : 31 – 41.
- Husain, D., 2005. *Bakteri Pengkompleks Logam Pb dan Cd Dari Limbah Cair PT. Kawasan Industri Makasar*. Jurnal. 6(1).
- Laws, E.M., 1993. *Tocicity Reduction in Industrial Effluents*. Van Nostrand Reinhold. New York.
- Prasetya, Y., 2012. *Adaptasi Genera Bacillus Pada Media Yang Mengandung Logam Timbal*. Jurnal Scientific Conference Of Environmental Technology.
- Suksmerri, 2008. *Dampak Pencemaran Logam Timah Hitam (Pb) Terhadap Kesehatan* [Online] www.jurnalkesmas.com/index.php/kesmas/article/view/77/66. Diakses pada tanggal 3 Oktober 2016.
- Wulandari, S., 2005. *Identifikasi Bakteri Pengikat Timbal (Pb) Pada Sedimen Di Perairan Sungai Siak*. Jurnal Biogenesis. 1.
- Yalcin, G., Narin, I., and Soylak, M., 2008. *Multivariate analysis of heavy metal contents of sediments from Gumusler Creek, Nigde, Turkey*. Environmental Geology, 54: 1155-1163.