

Bioremediasi Logam Timbal (Pb) Menggunakan Bakteri *Indigenous* Pada Tanah Tercemar Air Lindi (*Leachate*)

Bioremediation of Lead using Indigenous Bacteria Isolated from Leachete Contaminated Soil

Bambang Rahadi^{1*}, Liliya Dewi Susanawati¹, Rinda Agustianingrum²

¹Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya Jl. Veteran, Malang 65145

²Program Studi Teknik Lingkungan, Jurusan Keteknikan Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya Jl. Veteran, Malang 65145

*Email korespondensi : b.rahadi@gmail.com

ABSTRAK

Meningkatnya jumlah penduduk serta pesatnya arus urbanisasi merupakan faktor yang mempengaruhi besarnya volume sampah perkotaan. Pengelolaan sampah perkotaan yang kurang terencana akan menimbulkan permasalahan lain yaitu pencemaran tanah oleh logam berat seperti logam berat timbal (Pb). Salah satu pilihan untuk mengatasi masalah kontaminasi Pb adalah bioremediasi menggunakan mikroba. Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh dan mengidentifikasi secara morfologis bakteri *indigenous* dari tanah tercemar air lindi (*leachate*) yang berpotensi dapat mereduksi logam berat Pb. Sampel tanah berasal dari tanah timbunan sampah di TPA Supit Urang Malang. Penelitian merupakan penelitian experimental. Metode pengambilan tanah menggunakan komposit sampel dan isolasi bakteri menggunakan teknik *streak plate*. Tahapan penelitian meliputi kultivasi bakteri, uji morfologi, dan uji reduksi logam. Tahap *screening* uji reduksi logam dilakukan pada konsentrasi 10, 30, dan 50 ppm untuk memperoleh bakteri resisten logam. Uji tingkat kepadatan juga dilakukan dengan menggunakan metode turbidimetri. Hasil penelitian didapat 10 isolat murni bakteri, dan semua bakteri memiliki resistensi terhadap Pb. Tiga isolat yang memiliki kemampuan menurunkan Pb yaitu isolat 4, 5, dan 6. Ketiga isolat tersebut memiliki persentase penurunan Pb sebesar 35.3%, 69.1%, dan 60.8%. Hasil identifikasi morfologi dan uji biokimia pada tiga isolat menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan genus *Bacillus*.

Kata kunci : bakteri *bioremoval* Pb, *bacillus*, Tempat Pembuangan Akhir Supit Urang

ABSTRACT

The increasing population and the rapid urbanization flows are factors affecting the magnitude of urban waste volume. Management of urban waste that is less planned will cause soil pollution by heavy metals like lead (Pb). One of the options to solve the Pb contamination is the bioremediation using microbes. This research was conducted to morphologically identify the indigenous bacteria from polluted soils (leachate) that could potentially reduce Pb. Soil samples taken from Supit Urang landfill. Research is an experimental study. The soil retrieval method uses sample composites. Bacterial isolation using a streak plate technique. The stages of research include bacterial cultivation, morphological test, and metal reduction test. The screening phase of metal reduction test is conducted at concentrations of 10, 30, and 50 ppm to obtain metal resistant bacteria. Density tests are performed using the turbidimetry method. The results of the study gained 10 isolates of pure bacteria, and all bacteria had resistance to Pb. Three isolates that have the ability to lower Pb are 4, 5, and 6 isolates. The three isolates had a percentage decrease of Pb of 35.3%, 69.1%, and 60.8%. Three isolates of the bacterium was a genus of Bacillus.

Keyword : bacteria bioremoval of Pb, bacillus, Supit Urang landfill

PENDAHULUAN

Meningkatnya jumlah penduduk serta pesatnya arus urbanisasi merupakan faktor yang mempengaruhi besarnya volume sampah perkotaan. Salah satu kota dengan timbulan sampah yang terus meningkat yaitu Kota Malang tepatnya di TPA Supit Urang. Produksi sampah di Kota Malang terus meningkat setiap tahunnya. Berdasarkan data yang dihimpun dari Pemerintah Kota Malang *dalam* Anam (2011), produksi sampah Kota Malang pada tahun 2007 sebanyak 17,204,000 kg.hari⁻¹, tahun 2008 sebanyak 25,963,600 kg.hari⁻¹, tahun 2009 sebanyak 32,566,000 kg.hari⁻¹, dan tahun 2010 sebanyak 45,000,000 kg.hari⁻¹. Dengan semakin banyaknya sampah yang ditimbulkan, semakin rentan pula terjadi pengelolaan sampah yang kurang terencana. Pengelolaan sampah yang kurang terencana ini akan menimbulkan permasalahan lain, yaitu pencemaran tanah akibat logam berat.

Pencemaran tanah akibat logam berat yang berasal dari sampah terjadi karena adanya *leachate* atau lindi yang dihasilkan dari proses dekomposisi sampah. Lindi itu sendiri adalah cairan dari sampah yang mengandung unsur terlarut dan tersuspensi (Ali, 2011). Lindi dari sampah perkotaan mengandung berbagai macam logam berat, salah satunya adalah timbal (Pb). Pencemaran logam berat yang berasal dari rembesan air lindi perlu diolah untuk mengurangi konsentrasi pencemarnya. Salah satu pilihan yang bisa dilakukan untuk mengatasi masalah kontaminasi logam Pb adalah bioremediasi menggunakan mikroba (Suhendrayatna, 2001). Menurut Priadie (2012), bioremediasi merupakan penggunaan mikroorganisme yang telah dipilih untuk ditumbuhkan pada polutan tertentu sebagai upaya untuk menurunkan kadar polutan tersebut. Mikroorganisme yang mampu melakukan remediasi logam berat di antaranya adalah bakteri (*Bacillus sp*, *Pseudomonas sp*, dan *Escherichia coli*); kapang (*Penicillium chrysogenum*, *Rhizopus stolonifer* dan *Aspergillus oryzae*) dan khamir, *Saccharomyces cerevisiae*) (Suhendrayatna, 2001). Menurut Feliatra (1996) *dalam* Dharmawibawa (2004), metode biologi atau

biodegradasi oleh mikroorganisme merupakan salah satu cara yang tepat, efektif dan hampir tidak ada pengaruh sampingnya pada lingkungan karena tidak menghasilkan racun atau *blooming*. Penggunaan mikroba *indigenous* untuk menurunkan atau mereduksi logam Pb perlu diuji sebagai alternatif untuk pemulihan tanah ataupun air tercemar. Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh dan mengidentifikasi secara morfologis bakteri *indigenous* dari tanah tercemar air lindi (*leachate*) yang berpotensi dapat mereduksi logam berat Pb. Penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk mengetahui kemampuan mikroba *indigenous* yang berasal dari tanah tercemar air lindi dalam penurunan logam berat Pb. Hasil penelitian juga dapat mengungkapkan efektifitas mikroba dalam mendegradasi logam berat Pb.

BAHAN DAN METODE

Lokasi Pengambilan Sampel Tanah

Sampel tanah yang tercemar air lindi (*leachate*) diambil di TPA Supit Urang Kota Malang. Lokasi pengambilan sampel dilakukan di sel aktif dan sel pasif (Sel IV dan Sel V) TPA Supit Urang. Metode pengambilan sampel tanah ini dilakukan secara komposit untuk mendapatkan gambaran umum (*unbiased estimation*) sebagai atribut mikroba disuatu areal atau petak relatif homogen.

Kultivasi/Isolasi Bakteri

Larutan NaCl (85%) 1 ml diencerkan dalam 100 ml akuades. Sampel diencerkan dengan NaCl fisiologis menggunakan vortex di dalam tabung reaksi. Sampel tanah diambil sebanyak 1 gram dan dilarutkan dalam larutan garfis 9 ml. Selanjutnya membuat pengenceran berseri hingga 10⁻⁶ pada tabung lain yang telah berisi 9 ml garfis dengan mengambil 1 ml pada pengenceran sebelumnya. Kemudian memindahkan 1 ml biakan dari tabung pengencer ke media Nutrient Agar yang telah disiapkan dan kemudian diratakan dengan memutar membentuk angka 8 hingga 10 kali. Diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1 x 24 jam. Setelah terlihat ada pertumbuhan bakteri, dilihat bentuk koloni bakteri yang

berbeda dan diambil single koloni secepatnya dan goreskan atau pindahkan ke media NA baru. Setelah terlihat tumbuh kembali, lanjutkan pemurnian isolat hingga benar-benar murni. Isolat yang mampu tumbuh pada media NA ditumbuhkan kembali pada media NA yang telah diperkaya $Pb(NO_3)_2$ 5 ppm. Isolat diperbanyak dalam media agar miring dan cawan petri untuk uji morfologi.

Teknik isolasi bakteri yang baik dan benar dapat menentukan bakteri yang cocok dalam proses remediasi yang diinginkan. Oleh karena itu prinsip pemilihan bakteri hasil isolasi dapat memberikan kinerja penurunan kadar polutan yang optimal (Thompson *et al.*, 2005). Pada umumnya jumlah bakteri yang diinginkan lebih sedikit dari jumlah bakteri yang tidak diinginkan, maka diperlukan proses isolasi untuk memperbanyak bakteri yang dimaksud (Barrow and Feltham, 2003).

Identifikasi Morfologi

Identifikasi morfologi dilakukan secara makroskopik dan mikroskopik. Identifikasi morfologi makroskopik merupakan proses identifikasi yang bisa dilakukan secara langsung sedangkan identifikasi morfologi mikroskopik memerlukan mikroskop. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan dari masing-masing isolat yang ditemukan serta juga dapat digunakan sebagai dasar untuk proses identifikasi genus maupun spesies bakteri dengan uji lanjut (uji biokimia maupun uji molekuler). Sebelum proses identifikasi morfologi dilakukan, 10 isolat yang diperoleh dipindahkan ke media cair *nutrient broth* (NB) untuk proses selanjutnya.

Pengamatan makroskopik dilakukan secara langsung menggunakan metode Benson. Karakteristik makroskopik diketahui dengan cara mengidentifikasi morfologi koloni bakteri seperti bentuk, bentuk tepian, warna, elevasi, dan sifat koloni apabila diamati dibawah cahaya (mengkilap atau suram). Karakteristik mikroskopik diketahui dengan cara mengidentifikasi bentuk bakteri yang ditemukan serta pewarnaan gram. Pengamatan hasil pewarnaan dilakukan pada perbesaran 1000x menggunakan

mikroskop dengan ditetesi terlebih dahulu dengan emersi untuk memperjelas pengamatan. Pada isolat bakteri terpilih (Isolat resisten) atau bakteri yang memiliki daya reduksi logam lebih baik juga dilakukan pengujian mikroskopik meliputi pewarnaan endospora, uji motilitas, pernafasan bakteri dan uji biokimia. Uji mikroskopik tambahan dan uji biokimia (uji katalase dan uji oksidase) dilakukan untuk mengetahui genus bakteri yang mampu mereduksi logam.

Uji Reduksi Bakteri

Isolat murni yang diperoleh, diinokulasikan pada 7 ml media cair Nutrient Broth (NB) yang telah diperkaya $Pb(NO_3)_2$ pada konsentrasi 10, 30, dan 50 ppm. Isolat murni kemudian diinkubasi ke dalam *incubator shaker* selama 24 jam pada suhu 37 °C dengan kecepatan 120 rpm. Proses *screening* menggunakan metode turbidimetri untuk mengetahui ketahanan bakteri terhadap logam. Kemudian untuk mengetahui kepadatan bakteri dilakukan pengukuran nilai *Optical Density* (OD) dengan panjang gelombang 600 nm menggunakan *spectrophotometer*. Setelah diketahui beberapa isolat yang bertahan terhadap logam berat berdasarkan tingkat kepadatannya, diambil isolat yang memiliki kepadatan tertinggi untuk dilanjutkan ke tahap uji reduksi.

Uji reduksi dilakukan pada tiga isolat hasil *screening*. Uji reduksi dilakukan pada media cair NB pada volume 100 ml, suspensi bakteri 10 ml, dan logam timbal 0.204 ppm sebanyak 40 ml. Kemudian diinkubasi ke dalam *incubator shaker* selama 24 jam pada suhu 37 °C dengan kecepatan 120 rpm. Sentrifugasi dengan kecepatan 10,000 rpm selama 5 menit untuk memperoleh cairan supernatant. Hasilnya kemudian diuji menggunakan *atomic absorption spectrophotometer*. Spesifikasi alat yang digunakan yaitu Incubator (MMM), LAF (Nuair), Refrigerated centrifuge (*sigma-sartorius 3-18K*), Mikroskop trinokuler (Olympus CX41), *Incubator shaker* (JEIOTECH/S1-600R), dan *Vortex* (Barnstead Thermolyne type 37600).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Timbal pada Tanah TPA Supit Urang

Berdasarkan SNI (1991) dalam Widyasari *dkk* (2013), batas maksimum timbal (Pb) adalah 0.0405 mg.L⁻¹. Konsentrasi Pb pada sampel tanah yang telah diuji adalah 0.57 ppm. Hasil pengujian mengindikasikan bahwa sampel tanah yang diperoleh dari TPA Supit Urang tercemar logam berat timbal (Pb) dan konsentrasi timbal dalam tanah melebihi batas maksimum timbal yang diperbolehkan. Berdasarkan hasil pengujian diduga dalam tanah tersebut terdapat kelompok bakteri yang toleran dan resisten terhadap logam timbal sehingga mampu mereduksi logam timbal. Mikroba merupakan organisme yang mempunyai *niche* yang sempit sehingga rentan terhadap perubahan lingkungan dan mampu bermutasi untuk bertahan (Widyati, 2008).

Isolasi Bakteri

Proses isolasi untuk memperoleh isolat murni dilakukan melalui proses kultivasi mikroba yang menghasilkan 22 koloni bakteri dari proses pengenceran tanah tercemar. Koloni yang dihasilkan dimurnikan pada proses isolasi yang menghasilkan 10 isolat murni. Metode yang dilakukan pada proses isolasi ini merupakan metode *streak plate* secara *four way streak*. Menurut William (2007), teknik *streak plate* yang bertujuan untuk mengevaluasi kemurnian kultur bakteri, meneliti keragaman spesies dalam sampel, memisahkan spesies dari kultur campuran sehingga biakan murni dapat dibuat, dan mempelajari karakteristik koloni. Paling umum teknik ini dilakukan untuk mendapatkan koloni terisolasi. Mendapatkan koloni terisolasi, sel-sel individual harus tersebar di permukaan media agar-agar. Prosedurnya dilakukan dengan menyebarkan sampel sebagai rangkaian "coretan" pada media padat dalam cawan petri. Prinsip metode isolasi *streak plate* atau cawan gores untuk mendapatkan koloni murni dengan membagi cawan menjadi 4 bagian. *Four way streak* merupakan metode untuk

mengisolasi bakteri dengan membagi media padat menjadi 4 ruang

Karakteristik bentuk koloni yang mampu bertahan adalah bentuk koloni bulat, bulat oval, bulat lonjong, dan bentuk koloni tidak beraturan. Setelah pemurnian, sepuluh isolat bakteri kemudian dimurnikan kembali pada media padat NA dalam cawan petri untuk memastikan bahwa tidak ada isolat lain yang tumbuh. Isolat bakteri murni yang tumbuh kemudian diuji resistensinya dengan media padat NA yang diperkaya Pb(NO₃)₂ sebesar 5 mg.l⁻¹. Sepuluh isolat diuji ketahanan terhadap lingkungan yang mengandung logam timbal. Hasilnya sepuluh isolat yang diperoleh resisten dan mampu hidup walaupun kondisi lingkungan (media) diperkaya dengan Pb(NO₃)₂ 5 mg.L⁻¹.

Identifikasi Morfologi

Isolat yang diperoleh sebagian besar berbentuk basil dan memiliki gram positif, kecuali pada isolat 3 dan isolat 9 yang memiliki bentuk kokus, dan pada isolat 2 dan isolat 7 yang memiliki gram negatif. Perbedaan gram tergantung pada warna yang dapat dipertahankan oleh bakteri. Komposisi kimia dinding sel bakteri gram positif terdiri dari peptidoglikan dan non peptidoglikan, sedangkan komposisi kimia dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks dimana terdapat membran luar yang melindungi peptidoglikan. Bentuk dari setiap isolat basil berbeda bentuk bakterinya yaitu diantaranya monobasil, diplobasil, dan streptobasil.

Bentuk koloni umumnya adalah bulat, bulat oval, bulat lonjong, dan tidak beraturan. Warna koloni putih, kuning mentega, biru, dan putih suram. Tepi koloni isolat bakteri memiliki tepi yang halus, bergelombang, tidak beraturan, dan tepi dengan *cilia*. Elevasinya diperoleh dengan pengamatan elevasi koloni terhadap mediumnya. Elevasi *flat* atau datar artinya koloni bakteri memiliki elevasi yang sama rata dengan mediumnya. Elevasi *reised* atau terangkat artinya elevasi koloni memiliki perbedaan dengan mediumnya (timbul). Elevasi *convex* merupakan elevasi pada koloni yang terlihat cembung. Sedangkan tepi koloni dengan tipe *in growing into medium*

merupakan elevasi koloni yang timbul seperti kedalam medium.

Tabel 1. Pengamatan mikroskopik

Nama Isolat	Bentuk Bakteri	Gram
Isolat 1	Basil/ Diplobasil	(+) <i>Positive</i>
Isolat 2	Basil/Monobasil	(-) <i>Negative</i>
Isolat 3	Coccus	(+) <i>Positive</i>
Isolat 4	Basil/Diplobasil	(+) <i>Positive</i>
Isolat 5	Basil/Streptobasil	(+) <i>Positive</i>
Isolat 6	Basil/Monobasil	(+) <i>Positive</i>
Isolat 7	Basil/Monobasil	(-) <i>Negative</i>
Isolat 8	Basil/Monobasil	(+) <i>Positive</i>
Isolat 9	Coccus	(+) <i>Positive</i>
Isolat 10	Basil/Monobasil	(+) <i>Positive</i>

Menurut Isa (2013), bakteri dengan genus *Bacillus* merupakan bakteri yang toleran terhadap toksisitas logam berat serta mampu menghilangkan logam berat di lingkungan dengan kemampuan menyerap logam tinggi. Bakteri *Bacillus* digolongkan ke dalam bakteri gram positif, berbentuk batang, aerobik dan aerobik fakultatif, dan umumnya dijumpai ditanah. Berdasarkan pengamatan mikroskopik isolat bakteri yang diperoleh umumnya berbentuk basil dan memiliki gram positif sesuai dengan pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000 x.

Screening Isolat Bakteri

a. Metode Turbidimetri

Proses isolasi bakteri yang menghasilkan sepuluh isolat bakteri yang resisten logam timbal selanjutnya dipindahkan ke media cair *nutrient broth* (NB) untuk uji lanjut resistensi terhadap logam. Isolat 1 hingga Isolat 10 dipindahkan dari media padatnya dengan mengambil satu ose penuh ke media cair NB sebanyak 7 ml. Kemudian isolat bakteri yang telah ditumbuhkan di media cair diambil sebanyak 0.5 ml untuk ditumbuhkan pada media cair NB 5 ml yang diperkaya logam timbal 10 ppm, 30 ppm, dan 50 ppm dengan masing-masing menambahkan 2.5 ml.

Berdasarkan metode turbidimetri, sepuluh isolat bakteri yang telah dipindahkan kemudian diinkubasi selama 1 x 24 jam pada *incubator shaker*. Setelah inkubasi, masing-masing isolat diuji kekeruhannya menggunakan

spectrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Hasil yang diperoleh digunakan sebagai dasar untuk menentukan isolat bakteri yang memiliki daya reduksi logam timbal yang lebih efektif berdasarkan tingkat kekeruhan.

Pengukuran OD dilakukan untuk proses skrining lanjutan untuk menentukan isolat yang memiliki kemampuan lebih tinggi. Berdasarkan pengukuran OD awal dan pengukuran OD secara triplo menunjukkan adanya potensi pada tiga isolat yang memiliki nilai OD paling tinggi dari isolat lain. Isolat 4, 5, dan 6 memiliki nilai OD yang tinggi dibandingkan isolat lain. Tingginya nilai OD dipengaruhi oleh kepadatan pertumbuhan bakteri. Bakteri mengalami peningkatan jumlah karena kondisi lingkungan yang sesuai, ketersediaan makanan, serta kecepatan pertumbuhan yang tinggi. Menurut Lewaru *dkk* (2012), hasil *optical density* (OD) menunjukkan tingkat kepadatan bakteri artinya isolat yang memiliki nilai OD tinggi tersebut tahan dan dapat beradaptasi terhadap logam.

b. Uji Reduksi Timbal

Uji reduksi logam digunakan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri menurunkan logam timbal pada konsentrasi 10 ppm, 30 ppm, dan 50 ppm. Pengujian dilakukan dengan perbandingan volume yang digunakan 1 : 20, volume media cair NB yang digunakan 100 ml, logam Pb 50 ml, dan kultur bakteri 10 ml. Kultur bakteri diperoleh dari penanaman isolat sebanyak satu ose penuh dalam 50 ml NB. Kultur isolat bakteri yang diperkaya logam timbal kemudian di inkubasi pada *incubator shaker* dengan kecepatan 120 rpm pada suhu 37 °C selama 24 jam. Isolat 4, 5 dan 6 dapat dikatakan tahan dengan adanya logam timbal. Isolat bakteri Isolat 4 memiliki persentase konsentrasi logam paling tinggi mencapai 99% pada ketiga perlakuan yang diberikan.

Tabel 2. Nilai uji penurunan logam Pb

Isolat	Awal (ppm)	Akhir (ppm)	Total reduksi (ppm)	Penurunan Logam (%)
Isolat 4	10	<0.0044	9.996	99.96
	30	0.026	29.974	99.91
	50	0.266	49.734	99.46
Isolat 5	10	1.558	8.442	84.42
	30	3.929	26.071	86.90
	50	6.583	43.417	86.83
Isolat 6	10	0.912	9.088	90.88
	30	3.003	26.997	89.99
	50	6.098	43.902	87.80

Reduksi Logam Timbal

Uji kemampuan isolat bakteri dalam menurunkan logam berat di medium tumbuh dilakukan dengan menginokulasikan 1 ose penuh koloni bakteri ke dalam 50 mL medium NB dan diinkubasi selama 24 jam. Kemudian menginokulasikan 10% (v/v) isolat bakteri ke dalam 100 ml NB yang diperkaya $Pb(NO_3)_2$ pada masing-masing konsentrasi 0.204 ppm selama 24 jam. Perhitungan jumlah reduksi bakteri terhadap Pb dilakukan menggunakan spektrofotometer serapan atom (SSA). Perlakuan di sentrifugasi menggunakan *refrigerated centrifuse*. Hasilnya akan diperoleh cairan media yang mengandung Pb setelah proses inkubasi dan pada bagian bawah *tube* merupakan endapan dari bakteri.

Tabel 3. Persentase penurunan logam Pb

Isolat	Awal (mg.L ⁻¹)	Akhir (mg.L ⁻¹)	Penurunan logam (%)
Isolat 4		0.132 a	35.294
Isolat 5	0.204	0.063 a	69.120
Isolat 6		0.080 a	60.784

Tiga isolat di atas merupakan bakteri yang mampu mengurai logam Pb dan berpotensi dapat digunakan sebagai *bioremoval*. Pengujian ulang terhadap daya reduksi logam Pb pada konsentrasi tersebut juga menunjukkan persentase yang tinggi. Pada konsentrasi yang sama isolat 4 memiliki nilai persentase lebih rendah yaitu 35%. Sedangkan pada isolat 5 dan 6 persentase penurunan sebesar 69% dan 60%.

Berdasarkan pengujian statistik uji t, pemberian logam berpengaruh nyata terhadap penurunan logam timbal. Uji t dilakukan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian konsentrasi logam terhadap penurunan logam. Hasil dari T hit yang berdasarkan data nilai konsentrasi awal dan konsentrasi akhir adalah 5.412, nilai tersebut dibandingkan dengan taraf uji atau selang kepercayaan 95% yaitu 2.92. Berdasarkan data tersebut dapat ditarik kesimpulan, nilai t hitung lebih besar dari nilai t Tabel sehingga pemberian konsentrasi logam terhadap isolat berpengaruh nyata terhadap penurunan konsentrasi logam pada persentase 35.294%, 69.120%, dan 60.784%. Sedangkan berdasarkan uji beda nyata terkecil (BNT) 5% sebesar 0.135. Pengujian BNT dilakukan untuk mengetahui adanya pengaruh perbedaan penggunaan isolat bakteri sebagai agen *bioremoval* logam timbal (Pb). Menurut Suhendrayatna (2001), mekanisme pembersihan logam berat oleh mikroorganisme sebagian besar merupakan proses pertukaran ion. Mekanisme ini dapat dibagi atas 3 cara yaitu berdasarkan metabolisme sel yang dibagi atas; proses yang terkait pada metabolisme dan proses yang tidak terkait pada metabolisme sel, sedangkan berdasarkan posisi logam berat dapat dibagi atas; akumulasi ekstraseluler (presipitasi), akumulasi intraseluler dan penyerapan logam oleh permukaan sel. Pada proses metabolisme, logam berat terakumulasi pada membran sel (ekstraseluler) dan pada sitoplasma (intraseluler) (Wulandari dkk., 2001). Pada saat proses bioremediasi berlangsung, enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme memodifikasi struktur polutan beracun menjadi tidak kompleks sehingga menjadi metabolit yang tidak beracun dan berbahaya (Priadie, 2012).

Tingkat penurunan logam yang tinggi pada ketiga isolat, mengindikasikan adanya bakteri *indigenous* (lokal) pada tanah tercemar lindi di TPA Supit Urang. Selain data penurunan logam, data karakteristik mikroskopik juga bisa digunakan sebagai parameter untuk mengetahui genus bakteri. Berdasarkan karakteristik mikroskopik, isolat bakteri

memiliki pewarnaan gram positif dengan bentuk sel basil.



Isolat 4



Isolat 5



Isolat 6

Gambar 1. Isolat bakteri

Menurut Isa (2013), bakteri *Bacillus* sangat toleran terhadap logam Pb. Bakteri tersebut memiliki karakteristik sel berbentuk batang mempunyai ukuran $0.3-2.2 \mu\text{m} \times 1.27-7.0 \mu\text{m}$, dapat bergerak (motil), membentuk endospora, tidak lebih dari satu dalam satu sel isolatorangium, gram positif, aerobik dan anaerobik fakultatif, dan umumnya dijumpai di tanah. Isolat 4, 5, dan 6 memiliki ciri-ciri sama dengan genus *bacillus*. Selain itu, berdasarkan data uji morfologi mikroskopik dan makroskopis menunjukkan bahwa isolat 4, 5, dan 6 merupakan bakteri pada genus *bacillus*. Uji biokimia dilakukan untuk mendukung data

identifikasi morfologi. Selain uji pewarnaan gram, isolat bakteri juga diuji endospora, motilitas, katalase, jenis pernapasan, dan oksidase. Berdasarkan uji lanjut tersebut menunjukkan bahwa tiga isolat merupakan genus *Bacillus*.

Berdasarkan pemaparan diatas, diperoleh kesimpulan antara lain :

1. Isolasi bakteri dari sampel tanah tercemar air lindi di TPA Supit Urang menghasilkan 10 isolat bakteri dengan kode Isolat 1, Isolat 2, Isolat 3, Isolat 4, Isolat 5, Isolat 6, Isolat 7, Isolat 8, Isolat 9, dan Isolat 10 yang mampu bertahan pada media padat yang diperkaya Pb 5 mg.l^{-1}
2. Uji turbidimetri dan uji reduksi menunjukkan tiga isolat yang berpotensi menjadi agen *bioremoval* logam timbal yaitu Isolat 4, 5, dan 6
3. Hasil uji mikroskopik, uji katalase dan uji oksidase isolat bakteri 4, isolat 5, dan isolat 6 merupakan genus bakteri *Bacillus*
4. Bakteri *Bacillus* yang diperoleh merupakan mikroba lokal yang memiliki potensi sebagai agen bioremediasi dengan persentase penurunan Pb pada Isolat 4 sebesar 35.294%; Isolat 5 sebesar 69.120%, dan Isolat 6 sebesar 60.784%
5. Bakteri yang ditemukan merupakan bakteri genus *Bacillus*

DAFTAR PUSTAKA

- Ali M. 2011. *Monograf Rembesan Air Lindi (Leachate) Dampak Pada Tanaman Pangan Dan Kesehatan*. UPN Press. Surabaya.
- Anam M., Evi K., Bambang S. 2013. Penurunan kandungan logam Pb dan cr leachate melalui fitoremediasi bamboo air (*Equisetum hyemale*) dan zeolite. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis Biosistem* 1(2), 43-59.
- Barrow G I & Feltham R.K.A. 2003. *Cowan And Steel Manual For Identification Of Medical Bacteria*. 3rd. Ed. Cambridge University Press.
- Dharmawibawa I.D. 2004. *Isolasi identifikasi dan uji kemampuan bakteri*

Rahadi, *et al.*

pengurai minyak solar dari perairan pelabuhan Benoa Bali. Universitas Udayana. Bali

Isa I. Yuliana R. 2013. *Pemanfaatan berbagai jenis bakteri dalam proses bioleaching limbah logam berat. Laporan tahunan Penelitian Fundamental. Universitas Negeri Gorontalo. Gorontalo*

Lewaru S., Indah R., Yuniar M. 2013. Identifikasi bakteri *indigenous* pereduksi logam berat Cr (VI) dengan metode molekuler di sungai cikijing rancaekek, jawa barat. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan* 3(4), 81-92. UNPAD. Jawa Barat

Priadie B. 2012. Teknik bioremediasi sebagai alternatif dalam upaya pengendalian pencemaran air. *Jurnal Ilmu Lingkungan* 10(1), 38-48.

Suhendrayatna. 2001a. Bioremoval logam berat dengan menggunakan mikroorganisme: Suatu Kajian Kepustakaan. Makalah. Disampaikan pada *Seminar Bioteknologi, Kagoshima University, Tokyo.*

Suhendrayatna. 2001b. Bioremoval logam berat dengan menggunakan mikroorganisme. Suatu kajian kepustakaan (heavy metal bioremoval by microorganism : a literature study. *Synergy forum- ppi Tokyo institute of technology.*

Thompson I. P, Christopher V. G., Lena C., Andrew C. S. 2005. Bioaugmentation for bioremediation : the challenge of strain selection environmental microbiologi. *Environ Microbiol* 7(7), 909-915.

Widyasari N., Moelyaningrum, Anita D., Pujiati R. S. 2013. Analisis potensi pencemaran timbal (Pb) pada tanah, air lindi dan air tanah (sumur monitoring) di TPA Pakusari Kabupaten Jember. Skripsi. Univerditas Jember. Jember

Widyati E. 2008. Peranan mikroba tanah pada kegiatan rehabilitas lahan bekas tambang (roles of soil microbes in ex-minning land rehabilitation). *Info Hutan* 5(2), 151-160

Jurnal Sumberdaya Alam dan Lingkungan

Williams A., Barton E., Slatko, John R. 2007. *Laboratory Investigation in Molecular Biology.* Jones and Barlett Publisher. Canada

Wulandari S., Dewi N. F., Suwondo, 2005. Identifikasi bakteri pengikat timbal (Pb) pada sedimen di perairan Sungai Siak. *Jurnal Biogenesis* 1(2), 62-65