
**Efek Kadmium terhadap profil DNA *Bacillus cereus* ATCC 9632 dan
Pseudomonas aeruginosa WT pada Limbah Sintetik Elektroplating**
Umi Sholikah¹, Yulinah Trihadiningrum²

¹ Environmental Engineering, Institut Teknologi Kalimantan, Kalimantan. Email: umisholikah@itk.ac.id

² Environmental Engineering, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya. Email:
yulinah_t@enviro.its.ac.id

Abstract

The electroplating industry produces wastewater containing heavy metals. The high surface area of bacteria has the potency to reduce heavy metals content in wastewater since it has ability to absorb the metals. This study aims to find out the bacterial DNA profile after Cd bioremoval process using *Bacillus cereus* 9632 and *Pseudomonas aeruginosa* WT. Bacterial culture is applied in synthetic electroplating wastewater. Some Cd concentrations are used to perform Range Finding Test by bacterial culture. The study was conducted in a batch system for three days. The viability test was done by measuring the value of Optical Density and Total Plate Count, while bacterial DNA profile was analyzed by using electrophoresis. The cell viability of *B.cereus* ATCC 9632 and *P.aeruginosa* WT had the same pattern which is the higher concentration of Cd metals on cell bacteria surface, the lower cell bacteria viability. The DNA of the control bacteria has the difference between the size and number of bands.

Keywords: Bacillus cereus, Pseudomonas aeruginosa, bacteria.

Abstrak

*Industri elektroplating menghasilkan limbah yang mengandung logam berat. Luas permukaan yang tinggi dari bakteri berpotensi untuk menyisihkan logam berat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil DNA bakteri setelah proses bioremoval Cd menggunakan *Bacillus cereus* 9632 dan *Pseudomonas aeruginosa* WT. Kultur bakteri diaplikasikan dalam limbah sintetik elektroplating. Beberapa konsentrasi Cd digunakan untuk melakukan Range Finding Test oleh kultur bakteri. Penelitian ini dilakukan dengan sistem batch selama tiga hari. Uji viabilitas dilakukan dengan mengukur nilai Optical Density dan Total Plate Count, sedangkan untuk profil DNA bakteri dianalisis dengan menggunakan elektroforesis. Viabilitas sel dari *B.cereus* ATCC 9632 dan *P.aeruginosa* WT memiliki pola yang sama yaitu semakin tinggi konsentrasi logam Cd, viabilitasnya semakin rendah. DNA dari bakteri kontrol dengan bakteri perlakuan memiliki perbedaan yang dapat dilihat dari ukuran dan jumlah band.*

Kata Kunci: Bacillus cereus, Pseudomonas aeruginosa, bakteri.

1. Pendahuluan

Kontaminasi logam berat di lingkungan merupakan hal yang harus diperhatikan karena toksisitasnya dapat mengancam kelangsungan hidup manusia dan lingkungan (Murthy *et al.*, 2012). Logam berat memiliki potensi dalam menimbulkan efek toksik pada organisme. Pada konsentrasi yang tinggi, logam berat dapat menyebabkan gangguan pada manusia, fauna, flora, dan mikrobiota lainnya (Garcia *et al.*, 2012). Unsur logam dapat dilepaskan secara alami melalui proses pelapukan, letusan gunung berapi, pembakaran kayu, atau debu yang tertiuap angin (Balabanova *et al.*, 2011). Selain itu, aktifitas antropogenik seperti pertanian, industri, proses pembakaran, dan efluent domestik juga merupakan kontributor utama pencemar logam berat di lingkungan. Industri yang menghasilkan logam berat pada limbahnya yaitu industri elektroplating, tekstil, baterai, pupuk, plastik, dan pertambangan (Sinicropi *et al.*, 2010).

Kadmium termasuk logam merupakan salah satu logam berat yang paling beracun. Konsentrasi kadmium dalam beberapa limbah industri dalam kisaran 0,1-100 mg/L. Berdasarkan US EPA (1995) menjelaskan bahwa kadar kadmium maksimum harian sebesar 0,73 mg / L dan rata-rata bulanan sebesar 0,17 mg / mL (Vullo *et al.*, 2008). Kadmium dapat bersifat racun pada tingkat yang sangat rendah. Keracunan kadmium dapat menyebabkan *osteomalasia*, *osteoporosis*, patah tulang spontan, tekanan darah tinggi, dan disfungsi *myocardic*. Pada lingkungan yang tercemar logam berat secara alami juga terdapat sekelompok bakteri yang resisten terhadap logam berat tersebut seperti *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Serratia*, dan *Enterobacter* (Caslake *et al.*, 2005).

Rusaknya DNA bakteri dapat disebabkan karena adanya efek dari logam berat. Menurut Valko *et al.* (2005) menyatakan bahwa studi-studi yang dilakukan selama dua dekade menunjukkan bahwa jenis-jenis logam seperti besi (Fe), Cuprum (Cu), Kadmium (Cd), Merkuri (Hg), Nikel (Ni) memiliki kemampuan untuk merusak DNA, peroksidasi lipid, inaktivasi protein dan efek lainnya. Efek lain yang ditimbulkan oleh logam berat ketika terkontaminasi dalam jumlah yang relatif tinggi adalah terjadinya produksi *Reaktif Oksigen Spesies* (ROS) yang memicu tekanan oksidatif akibat ketidakseimbangan dengan sistem antioksidan sel (Flora *et al.*, 2008). Dijelaskan pula oleh Rumahlatu (2012) bahwa logam berat dapat menyebabkan efek negatif pada hampir semua tingkat organisasi kehidupan yaitu dari tingkatan biokimia, fisiologis hingga pada tingkatan populasi. Oleh karena itu, perlu diketahui efek dari logam cadmium pada limbah sintetik electroplating terhadap profil DNA *Bacillus cereus* 9632 and *Pseudomonas aeruginosa* WT.

2. Metodologi

Bakteri perlakuan adalah *B.cereus* ATCC 9632 dan *P.aeruginosa* WT hasil kultur Laboratorium Balai Kesehatan Yogyakarta, Indonesia. Sumber kadmium menggunakan kadmium klorida digunakan digunakan untuk simulasi limbah sintetik elektroplating. Simulasi air limbah menggunakan *Nutrient Broth* (Oxoid) yang dicampur dengan kadmium klorida. Penelitian menggunakan sistem *Batch reactor* dengan volume 250 ml. Penelitian ini diawali dengan karakterisasi limbah dan *Range Finding Test* untuk menentukan kisaran konsentrasi logam berat.

1. Range Finding Test

Range finding test dilakukan untuk menetapkan konsentrasi logam yang akan digunakan dalam penelitian. Penentuan konsentrasi logam dilakukan dengan uji resistensi pada *B. cereus* ATCC 9632 dan *P. aeruginosa wild type*. Metode yang digunakan dalam uji resistensi adalah metode *streak plate* pada media NA-CdCl₂. Konsentrasi yang digunakan untuk logam Cd adalah 10 mg/L, 20 mg/L, 30 mg/L, 40 mg/L, 50 mg/L, dan 60 mg/L. Inkubasi untuk uji resistensi dilakukan 24 jam dan koloni yang tumbuh merupakan bakteri yang resisten terhadap logam Cd dan Zn.

2. Viabilitas sel

Viabilitas sel dapat diketahui dengan mengukur pertumbuhan bakteri (kepadatan sel) menggunakan spektrofotometer (*Optical Density*) dan *Total Plate Count* (TPC).

Optical Density

Satu ose isolat *Bacillus cereus* ATCC 9632 dan *Pseudomonas aeruginosa* WT (24 jam inkubasi) diinokulasikan dalam 200 ml media cair *Nutrient Broth* (NB) dalam labu Erlenmeyer 250 mL, diinkubasikan di atas *rotary shaker* (130 rpm) pada suhu ruang. Uji viabilitas dilakukan dengan perlakuan konsentrasi 10 mg/L, 15 mg/L, dan 25 mg/L CdCl₂ dan diinkubasi di atas *rotary shaker*

(130 rpm) pada suhu ruang. OD diukur pada panjang gelombang (λ) 600 nm dengan selang waktu 6 jam dari jam ke-0 sampai dengan 72 jam.

Total Plate Count

Satu ml kultur bakteri dimasukkan ke dalam cawan petri steril dan ditambahkan 9 mL medium *Nutrient Agar*, kemudian diputar membentuk angka delapan agar isolat bakteri terdistribusi merata dalam medium. Kultur diinkuasi selama 24 jam pada suhu ruang dan pertumbuhannya diamati dengan menggunakan *colony counter* (Harley & Prescott, 2002).

3. Profil DNA Bakteri

Hasil kultur bakteri yang diinkubasi selama 3 hari disentrifugasi dan peletnya dipindahkan ke dalam *microtube* 1,5 mL. Tahapan berikutnya yaitu ekstraksi DNA seperti pada uraian di bawah ini.

Ekstraksi DNA Genom Bakteri

Ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan QIAamp DNA Kit. Buffer AVL sebanyak 560 μ L ditambahkan ke dalam *microtube* 1.5 mL yang telah berisi pelet yang telah disiapkan sebelumnya. Campuran dihomogenkan dengan menggunakan vortex selama 15 detik, diinkubasi selama 10 menit, disentrifugasi dengan kecepatan rendah. Etanol 96 % (560 μ L) dihomogenkan dengan menggunakan vortex selama 15 menit, disentrifugasi dengan kecepatan rendah. Campuran (630 μ L) dimasukkan ke dalam QIAamp *Mini column* dan *collection tube*, disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 8000 rpm. Sebanyak 500 μ L buffer AW1 ditambahkan kedalam sampel, disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 8000 rpm. QIAamp *Mini column* ditempatkan pada *collection tube* yang baru. Sebanyak 500 μ L buffer AW2 ditambahkan ke dalam sampel dan disentrifugasi selama 3 menit dengan kecepatan 14000 rpm. QIAamp *Mini column* ditempatkan pada *collection tube* yang baru, disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 14000 rpm. QIAamp *Mini column* ditempatkan pada 1.5 mL *microtube* dan ditambahkan 60 μ L Buffer AVE, diinkubasi pada suhu ruang selama 1 menit. Sampel disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 8000 rpm, disimpan pada suhu -20°C (Sambrook *et al.*, 1989).

Amplifikasi dengan PCR

Untuk mengamplifikasi DNA, reaksi dilakukan pada *microtube* 0,5 mL dengan bahan yaitu H₂O steril sebanyak 30 μ L, buffer amplifikasi 10x (500 mM KCl, 100 mM Tris.Cl (pH 8.3 pada temperatur ruang, 15 mM MgCl₂ dan 0.1 % gelatin), 4 campuran dNTP dengan konsentrasi masing-masing 1.25 mM sebanyak 16 μ L, primer 1 (dalam 5 μ L H₂O) sebanyak 100 pmoles, primer 2 (dalam 5 μ L H₂O) sebanyak 100 pmoles dan template DNA 2 μ g. campuran kemudian dipanaskan selama 5 menit pada suhu 94 $^{\circ}\text{C}$. sementara campuran masih bersuhu 94 $^{\circ}\text{C}$, tambahkan 0.5 μ L *Taq* DNA polymerase 2 units/ μ L. reaksi amplifikasi dilakukan sebanyak 35 siklus dengan PCR *thermal cycler* dengan tahapan denaturasi pada 95 $^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit diikuti dengan 34 siklus reaksi pada 95 $^{\circ}\text{C}$ selama 1 menit, annealing pada suhu 57 $^{\circ}\text{C}$ selama 1 menit dan langkah akhir elongasi pada 72 $^{\circ}\text{C}$ selama 10 menit (Sambrook *et al.*, 1989).

Elektroforesis Amplicon

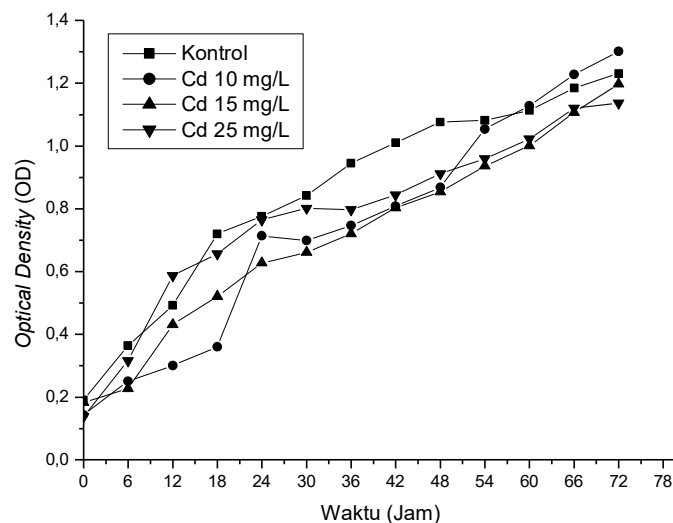
Elektroforesis genom hasil restriksi dilakukan dengan agarose gel 2 %. Dua gram bubuk agarose dilarutkan dalam 100 ml TBE 1X dengan cara dipanaskan dan diaduk hingga homogen. Setelah mendidih larutan agarose diangkat dan dituang ke dalam tangki elektroforesis. Kemudian pada larutan agarose dipasang sisir sumuran dan dидiamkan hingga agarose gel mengeras. Setelah agarose gel mengeras, sisir sumuran diambil. Kemudian pada tangki elektroforesis, larutan TBE 1X dituangkan hingga agarose gel terendam. Sebanyak 2 μ l *loading buffer* diambil dan dicampur

dengan 20 μ l sampel restriksi di atas *parafilm*. Sebagai penanda ukuran pita DNA, diambil 1 μ l *marker* dicampur dengan *loading dye* di atas *parafilm*. Elektroforesis dilakukan pada voltase 120 volt selama 60 menit. Setelah itu agarose gel diangkat dan direndam dalam larutan pewarna Ethidium Bromida dan diinkubasi gelap selama 10 menit. Agarose gel kemudian dicuci dengan menggunakan air mengalir. Agarose gel diamati di bawah lampu *UV Transilluminator* pada panjang gelombang 360 nm dan diamati pita DNA (Sambrook *et al.*, 1989).

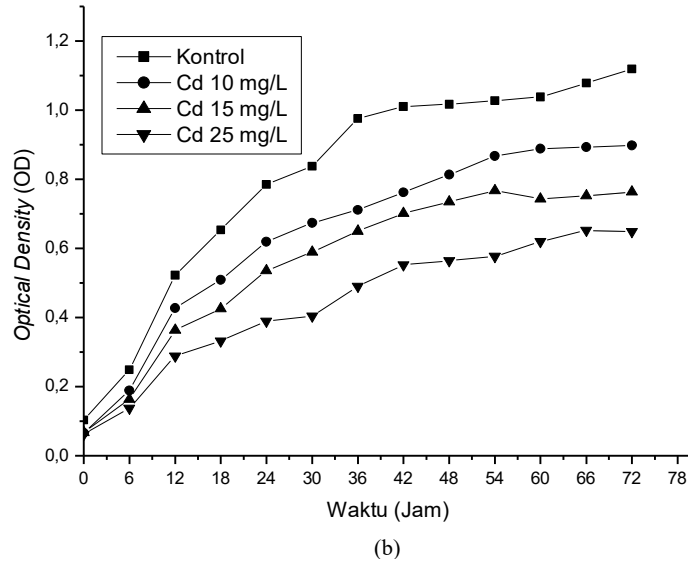
3. Hasil dan Pembahasan

Tingkat ketahanan dan kemampuan hidup pada lingkungan yang baru oleh organisme disebut sebagai viabilitas (Sobariah, 2007). Pada penelitian ini dilakukan pengukuran viabilitas terhadap *B. cereus* dan *P.aeruginosa* terhadap logam Cd yang ditambahkan ke dalam medium sesuai dengan konsentrasi yang didapatkan dari *Range Finding Test*. Viabilitas bakteri berkaitan dengan kondisi fisiologis sel bakteri yang erkaitan dengan sumber karbon, oksigen dan nitrogen untuk penunjang metabolisme. Selain itu juga dipengaruhi oleh faktor luar seperti keberadaan logam berat pH dan tekanan osmotik. Penentuan konsentrasi yang digunakan dalam uji viabilitas sel berdasarkan hasil *Range Finding Test* dimana konsentrasi tertinggi yang digunakan bukan merupakan konsentrasi tertinggi dari *Range Finding Test*. Hal ini dilakukan supaya bakteri masih dapat tumbuh dengan maksimal pada medium cair *Nutrient Broth*.

Kedua strain *B. cereus* ATCC 9632 dan *P.aeruginosa* WT dapat bertahan dalam kisaran konsentrasi kadmium hingga 25 mg/L. Pertumbuhan kultur bakteri pada medium yang mengandung logam Cd tidak sebaik kultur kontrol pada pengukuran viabilitas sel secara langsung dengan mengukur nilai *Optical Density* (OD) (Gambar 1 (a) dan (b)). Pertumbuhan bakteri menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi Cd, semakin tinggi konsentrasi Cd dapat menyebabkan efek toksik bagi bakteri. Kadmium dikenal sebagai salah satu penghambat biologis paling kuat, bahkan pada konsentrasi rendah. Bakteri memiliki kemampuan ketahanan terhadap logam berat karena memiliki gen resisten logam berat. Gen resisten logam berat ditemukan di plasmid, transposon dan kromosom bakteri. Gen-gen ini mengkodekan protein struktural dan enzimatik yang berfungsi dalam proses bioakumulasi dan biosorpsi logam. Resistansi bakteri terhadap logam kadmium dikodekan dalam operon *czcD*.

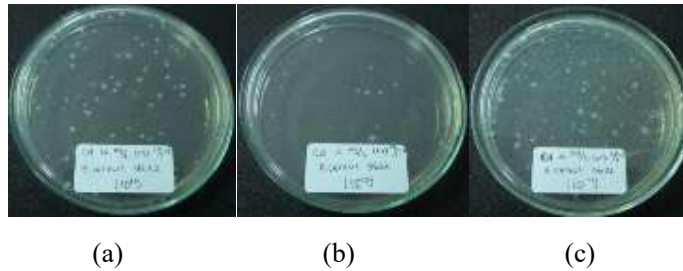


(a)

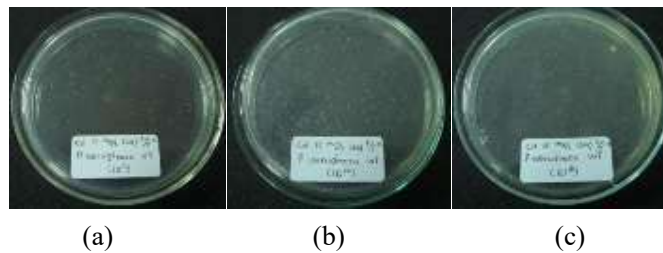


Gambar 1. Kepadatan sel (a) *B. cereus* ATCC 9632 dan (b) *P.aeruginosa* WT pada medium yang mengandung Cd

Adanya pertumbuhan yang terus meningkat tersebut menandakan adanya resistensi yang sangat tinggi terhadap logam Cd sehingga dalam pengukuran viabilitas sel secara tidak langsung dengan menggunakan *Total Plate Count* (TPC) didapatkan jumlah koloni yang melebihi ketentuan jumlah penghitungan koloni yaitu 25-250 CFU/mL (Gambar 2 dan Gambar 3). Hasil pengukuran viabilitas sel dengan metode TPC menunjukkan hasil yang sama dengan pengukuran viabilitas sel menggunakan nilai OD.



Gambar 2. Hasil CFU/mL pada 24 jam oleh *B.cereus* ATCC 9632 (a) Cd 10 mg/L, (b) Cd 15 mg/L, dan (c) Cd 25 mg/L



Gambar 3. Hasil CFU/mL pada 24 jam oleh *P.aeruginosa* WT (a) Cd 10 mg/L, (b) Cd 15 mg/L, dan (c) Cd 25 mg/L

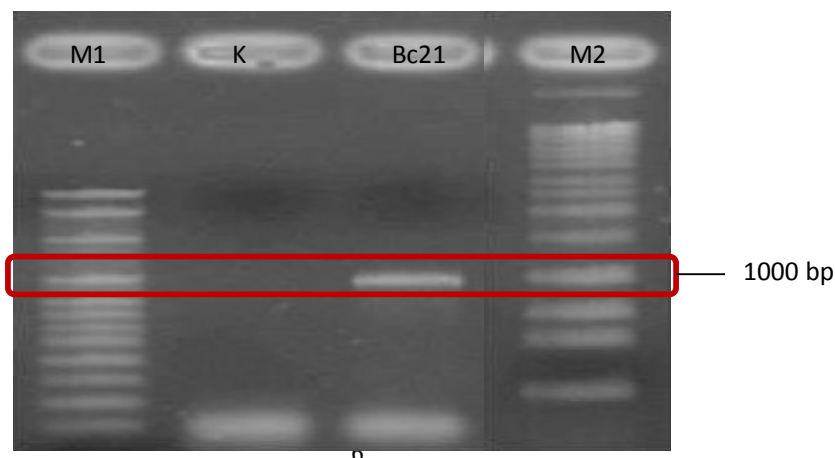
Mekanisme resistensi terhadap logam tergantung pada interaksi logam dengan sel bakteri. Ion logam esensial masuk ke dalam sel melalui transporter spesifik dan non-spesifik. Dari dua jenis sistem serapan, yang pertama adalah konstitutif, cepat, dan umumnya didorong oleh gradien kemiosmotik melintasi membran sitoplasma bakteri. Tipe serapan tersebut termasuk transporter non-spesifik yang membawa ion logam meskipun dalam kondisi berlebih. Kondisi tersebut dapat menyebabkan ion-ion logam menjadi beracun. Sedangkan untuk sistem serapan kedua adalah spesifik, relatif lambat dan hanya diekspresikan pada saat dibutuhkan (Choudhury dan Srivastava, 2001).

Beberapa logam berat diperlukan sebagai mikronutrien, tetapi dalam jumlah yang berlebih dapat menjadi toksik. Untuk menghindari toksisitas tersebut, logam harus segera dihilangkan dari dalam sel (Hynninen, 2010). Pola pertumbuhan pada masing-masing bakteri perlakuan semakin menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi logam. Hal tersebut disebabkan karena konsentrasi logam tersebut semakin toksik terhadap bakteri sehingga bakteri yang mengalami kematian lebih banyak dibandingkan pengaruhnya terhadap konsentrasi logam yang lebih rendah.

Pada umumnya terdapat dua mekanisme resistensi terhadap logam berat yaitu kompleksasi intraseluler oleh eukariot dan pengurangan akumulasi berdasarkan active *efflux* yang dilakukan oleh prokariot (bakteri). Pada bakteri juga terjadi pengikatan ion dan transformasi enzimatik (oksidasi, reduksi, metilasi, dan demetilasi) yang berperan sebagai mekanisme pertahanan (Hynninen, 2010).

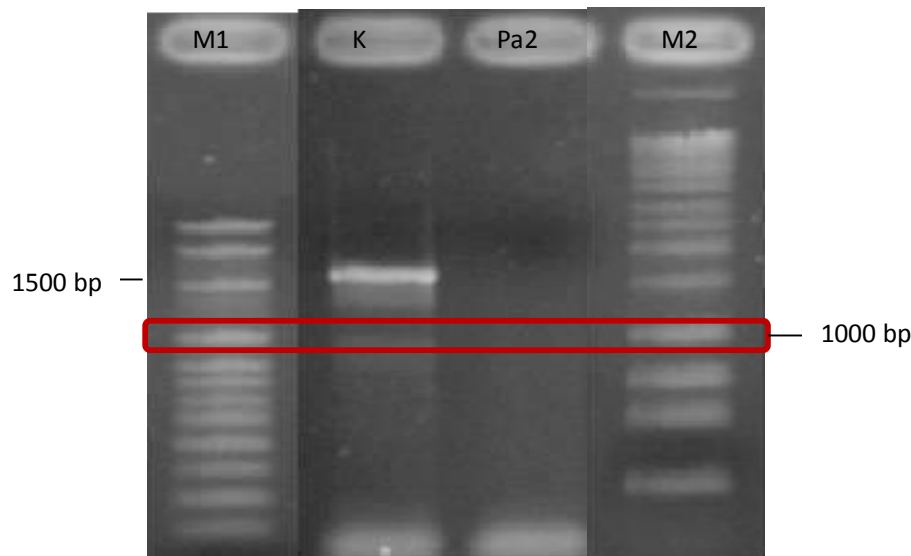
Mekanisme resistensi terhadap Cd^{2+} dipengaruhi oleh gen resisten. Efflux dari Cd^{2+} difasilitasi oleh P-type ATPase, CBA transporter and CDF chemiosmotic transporter. Selain itu, resistensi tingkat rendah dari Cd^{2+} dilakukan dengan mengikat ion dalam bentuk yang tidak aktif. Pengikatan tersebut terjadi secara nonspesifik terhadap dinding sel, tetapi pengikatan induksi logam telah diketahui (Hynninen, 2010). Adanya pengikatan logam tersebut karena adanya muatan yang sesuai antara ion yang terdapat di dinding sel dengan logam sehingga terjadi hubungan yang saling tarik-menarik antara muatan tersebut.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek dari logam Cd terhadap kondisi sel bakteri terutama profil DNA-nya. Gen yang digunakan dalam penelitian ini adalah gen *czcD* yang merupakan gen spesifik untuk resistensi terhadap logam Cd. *Sequence* gen *czcD* terdiri dari 1000 bp, polimerisasinya menggunakan primer tersebut adalah F: 5' CTTTAGATCTTTTACCACCATGGGCGCAGGTC ACTCACACGACC3' dan R: 3'TTTCAGCTGAACATCATAACCCTAGTTTCCT CTGCAGCA AGCGACTT C5'. Visualisasi DNA pada gel elektroforesis terlihat dalam bentuk *band* yang terlihat lebih terang dari pada gel. Hasil dari penelitian ini, diketahui bahwa terdapat ukuran dan jumlah *band* yang berbeda dari kontrol dengan kultur perlakuan (Gambar 2 dan Gambar 3)



Gambar 4. Visualisasi elektroforesis M1: Marker 100 bp, K: *B.cereus* ATCC 9632 Kontrol, Bc2: *B.cereus* ATCC 9632 pada medium yang mengandung Cd 25 mg/L, dan M2: marker 1 KB

Visualisasi elektroforesis pada Gambar 4. merupakan hasil dari *B.cereus* ATCC 9632, tetapi kultur pada medium yang mengandung Cd 25 mg/L terdapat *band* yang berukuran 1000 bp dimana ukuran tersebut sama dengan ukuran primer, sehingga *band* tersebut menunjukkan adanya gen penyandi resistensi terhadap Cd. Semakin tinggi konsentrasi logam, maka keberadaan plasmid juga semakin banyak sehingga terdapat banyak nukleotida yang menyandi resistensi terhadap Cd. Oleh karena itu, pada kultur kontrol tidak terlihat adanya *band* yang muncul karena tidak adanya logam dalam medium sehingga plasmidnya banyak yang hilang.



Gambar 5. Visualisasi elektroforesis M1: Marker 100 bp, K: *P.aeruginosa* WT Kontrol, Pa2: *P.aeruginosa* WT pada medium yang mengandung Cd 25 mg/L, dan M2: marker 1 KB

Visualisasi elektroforesis pada *P.aeruginosa* WT (Gambar 5.) menunjukkan hasil yang berbeda dengan *B.cereus* ATCC 9632. Pada kultur kontrol terlihat ada 3 band dengan ukuran 1500 bp yang terlihat

sangat jelas, 1400 bp yang kurang jelas, dan 1000 bp yang kurang jelas juga. Tetapi kultur pada medium yang mengandung Cd 25 mg/L tidak terdapat band.

Munculnya *band* pada masing-masing hasil elektroforesis tersebut menunjukkan bahwa pada kultur bakteri uji terdapat gen resisten logam Cd. *czcD* merupakan gen yang spesifik terhadap Cd yang memiliki ukuran 1000 bp, sehingga band yang muncul pada hasil elektroforesis adalah *band* yang memiliki ukuran yang sama dengan ukuran *czcD* yaitu 1000 bp. Munculnya band-band lain yang ukurannya selain 1000bp merupakan *unspecific binding site*. Penggunaan PCR dapat berpengaruh terhadap hasil yang didapatkan. Semua *band* seharusnya muncul pada 1000 bp, tetapi terdapat band dengan ukuran lain dan tidak munculnya band. Hal tersebut disebabkan karena beberapa hal diantaranya yaitu kurangnya optimalisasi dalam pengujian sampel dan DNA yang diisolasi terlalu sedikit. Siklus PCR yang digunakan sama dengan yang dilakukan dengan Shanab, namun dalam penggunaan PCR harus hati-hati karena dalam siklus PCR yang dimulai dari proses denaturasi awal sampai dengan visualisasi dengan ultraviolet membutuhkan suhu dan waktu yang tepat untuk masing-masing proses dan dilakukan secara berulang-ulang untuk mendapatkan hasil yang optimal.

Rusaknya DNA bakteri dapat disebabkan karena adanya efek dari logam berat. Menurut Valko *et al.* (2005) menyatakan bahwa studi-studi yang dilakukan selama dua dekade menunjukkan beberapa jenis logam berat memiliki kemampuan untuk merusak DNA, peroksidasi lipid, inaktivasi protein dan efek lainnya. Dijelaskan pula oleh Rumahlatu (2012) bahwa logam berat dapat menyebabkan efek negatif pada hampir semua tingkat organisasi kehidupan yaitu dari tingkatan biokimia, fisiologis hingga pada tingkatan populasi.

4. Kesimpulan

Bacillus cereus 9632 and *Pseudomonas aeruginosa* WT merupakan strain bakteri yang resisten terhadap logam Cd. Viabilitas kedua strain bakteri perlakuan memiliki pola yang sama yaitu semakin tinggi konsentrasi logam Cd, viabilitasnya semakin rendah baik dengan pengukuran langsung (*Optical Density*) maupun pengukuran secara tidak langsung (*Total Plate Count*). Profil DNA dari bakteri kontrol dengan bakteri perlakuan memiliki perbedaan yang dapat dilihat dari ukuran dan jumlah *band*. Munculnya *band* pada masing-masing hasil elektroforesis tersebut menunjukkan adanya gen resisten logam Cd pada kultur bakteri uji. Pada kultur kontrol tidak terlihat adanya *band* yang muncul karena tidak adanya logam dalam medium sehingga plasmidnya banyak yang hilang sedangkan pada kultur perlakuan band terlihat sangat jelas karena dalam sel bakteri perlakuan terdapat banyak plasmid yang mengandung logam Cd sehingga dapat mempengaruhi profil DNA *Bacillus cereus* 9632 and *Pseudomonas aeruginosa* WT.

Daftar Pustaka

- Balabanova, B., Stafilov, T., Šjan, R., Bačeva, K. (2011), "Distribution of chemical elements in Attic dust as reflection on their geogenic and anthropogenic sources in the vicinity of the copper mine and flotation plant", *Arch Environ Contam Toxicol*, Vol.61, hal.173–84.
- Caslake L.F., Harris S.S., Williams C., dan Waters N.M, (2005), "Mercury-Resistant Bacteria Associated with Macrophytes from a Polluted Lake", *Journal Springer*, Departement of Biology-Lafayette College: Philadelphia.
- Choudhury, R and Srivastava, S.(2001). "Zinc resistance mechanisms in bacteria". *CURRENT SCIENCE*, vol. 81.
- Effendi, M. (2008), "Faktor Lingkungan Mikroba- Agroindustri Produk Fermentasi", Universitas Brawijaya: Malang.

- Flora, S.J.S, (2009), "Metal Poisoning: Treatment and Management. Review Article". *Al Ameen J. Med. Sci*, Vol 2, hal 4-26.
- García, M.C.V., López, M.J., Estrella, F.S., Moreno, J. (2012), "Compost as a source of microbial isolates for the bioremediation of heavy metals: In vitro selection". *Science of the Total Environment*, Vol. 431, hal. 62–67.
- Harley, J.P. and L.M. Prescott, (2002), *Laboratory Exercises in Microbiology, 5th Edition*, The Mc Graw Hill Companies, New York.
- Hynninen, A.,(2010), "Zinc, cadmium and lead resistance mechanisms in acteria and their contribution to biosensing". Academic Dissertation in Microbiology. University of Helsinki
- Murthy, S., Bali G., Sarangi, S, K. (2012), "Biosorption of Lead by *Bacillus cereus* Isolated from Industrial Effluents:.". *British Biotechnology Journal*, hal.73-84.
- Sambrook, J., E. F. Fritsch, dan T. Maniatis, (1989), *Molecular Cloning A Laboratory Manual. Second Edition*, Cold SpringHarbor Laboratory Press, United States of America.
- Sinicropi MS, Amantea D, Caruso A, Saturnino C.(2010), "Chemical and biological properties of toxic metals and use of chelating agents for the pharmacological treatment of metal poisoning". *Arch Toxicol*, Vol.84, hal. 501–20.
- Rumahlatu, D., (2012), "Biomonitoring: Sebagai Alat Asesmen KualitasPerairan Akibat Logam Berat Kadmium pada Invertebrata Perairan", *Sainstis*, Vol 1, ISSN: 2089-0699.
- U.S. EPA, (1995), "Development Document for Proposed Effluent Limitations Guidelines and Standards for the Centralized Waste Treatment Industry", EPA 821/R-95-006. U.S. Environmental Protection Agency, Once of Water, Washington, DC.
- Valko, M., Morris, H & Cronin, M.T.D, (2005), "Metals, Toxicity and Oxidative Stress". *Current Medicinal Chemistry*, Vol 20, hal 1161-1200.
- Vullo, D.L., Ceretti, H.M., Daniel, M.A., Ramizez, S.A.M., Zalts, A. (2008), "Cadmium, zinc and copper biosorption mediated by *Pseudomonas veronii* 2E". *Bioresousce technology*, Vol. 99, hal. 5574–558.
- Sobariah, E. (2007), "Viabilitas Bakteri Probiotik In Vitro dan Pengaruh Pemberian Air Beroksigen terhadap Viabilitas Bakteri Probiotik secara In Viv", Tesis Pasca Sarjana IPB-Bogor.