

Isolasi dan Uji Sensitivitas Merkuri pada Bakteri dari Limbah Penambangan Emas di Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat: Penelitian Pendahuluan

Isolation and Mercury Sensitivity Test of Bacterias Isolated from Waste Disposal in Gold Mining Area in West Sekotong of West Lombok Region: Preliminary Study

Atiqa Ulfa*, Endang Suarsini, Mimien Henie Irawati al Muhdhar

Universitas Negeri Malang, Jalan Semarang no 5, Malang, Indonesia

*Corresponding author: tikaemerson@gmail.com

Abstract: Pertambangan tanpa ijin bahan galian golongan B menimbulkan masalah yang rumit terkait dengan penggunaan merkuri dalam pengolahannya. Hasil analisis kandungan merkuri pada bulan Juni 2015 dari limbah penambangan emas rakyat di desa Sekotong Barat, diketahui bahwa kandungan merkuri pada bak penampungan limbah sebanyak 4,04-29,88 ppm. Tingginya kandungan merkuri tersebut dikhawatirkan akan mengkontaminasi sumber air warga karena limbah dari penampungan sementara dibuang langsung ke halaman rumah warga. Senyawa-senyawa organik yang terdapat dalam limbah merupakan sumber nutrisi bagi mikroba. Mikroba akan mengurai senyawa-senyawa tersebut menjadi bentuk yang lebih sederhana dan stabil sehingga kadar zat pencemar yang terkandung dalam limbah tersebut menjadi turun. Reaksi enzimatik oleh bakteri merupakan kunci terselenggaranya proses transformasi bertahap dalam pengelolaan limbah dari substrat yang umumnya berupa dengan susunan molekul kompleks, menjadi unsur-unsur yang sederhana. Penelitian pendahuluan ini bertujuan untuk mengisolasi dan menguji sensitivitas merkuri dari bakteri yang diperoleh dari limbah penambangan emas di desa Sekotong Barat Lombok Barat. Bakteri diisolasi dari limbah yang berada di tempat penampungan sementara. Limbah tersebut diambil dari tiga lokasi yang berbeda. Bakteri yang diisolasi kemudian diinokulasi pada medium NA-HgCl. Identifikasi dari bakteri yang ditemukan dilakukan berdasarkan ciri morfologi, dan fisiologi melalui uji biokimia yang meliputi uji indol, sitrat, urease, motilitas, H₂S, katalase, koagulase, amilase, dan uji fermentasi karbohidrat. Uji sensitivitas terhadap merkuri dilakukan dengan metode sumuran. Hasil penelitian menunjukkan terdapat empat jenis bakteri yang berhasil diisolasi, dan semuanya merupakan bakteri Gram positif. Uji fisiologi menunjukkan bahwa hanya K3 yang bersifat non motil, semua koloni menunjukkan hasil negatif untuk uji indol, dan sitrat, hasil positif untuk urease hanya ditunjukkan isolat K2. Hasil positif fermentasi glukosa hanya ditunjukkan isolat K1, isolat K2 menunjukkan hasil variatif, sedangkan dua isolat lainnya menunjukkan hasil negatif. Hasil uji amilase positif ditunjukkan isolat K1 dan K3, katalase positif ditunjukkan isolat K2, K2, K3, sedangkan koagulase positif ditunjukkan isolat K1, dan K2. Uji sensitivitas menunjukkan bahwa dua isolat bersifat resisten dan dua isolat intermediate terhadap merkuri.

Keywords: bakteri, limbah, merkuri

1. PENDAHULUAN

Sektor pertambangan perlu mendapatkan perhatian khusus oleh publik karena mempunyai resiko lingkungan yang tinggi. Salah satu masalah yang sampai saat ini masih menjadi permasalahan adalah maraknya kegiatan pertambangan tanpa ijin (PETI). Istilah PETI semula dipergunakan untuk pertambangan emas tanpa ijin, tetapi dalam perkembangan selanjutnya permasalahan PETI tidak hanya pada komoditi bahan galian golongan B (bahan galian vital) seperti emas tetapi juga diterapkan pada pertambangan tanpa ijin untuk bahan galian lain baik golongan A (bahan galian strategis seperti batu bara, besi, timah, bauksit, dan lain-lain)

maupun C (seperti batu kapur, batu apung, tanah liat, batu tulis, marmer, dan bahan-bahan galian lain yang sejenis) yang biasanya termasuk pada pertambangan skala kecil (PSK). Pertambangan tersebut sebagian besar tidak memiliki ijin usaha penambangan berupa Surat Ijin Pertambangan Daerah. Kondisi tersebut membuat pemerintah daerah sulit dalam mengawasi dan mengontrol kegiatannya, sehingga banyak kasus lingkungan yang ditimbulkan dari kegiatan pertambangan tersebut. Permasalahan pertambangan tanpa ijin bahan galian golongan B bahkan lebih rumit lagi, hal ini terkait dengan penggunaan bahan dan zat berbahaya dalam pengolahannya. Limbah yang dihasilkan umumnya masih mengandung merkuri (Rahmawati, 2011). Merkuri yang sering



digunakan dalam penambangan bijih emas adalah merkuri elemental yaitu merkuri dalam bentuk aslinya (Munir, 2015).

Rianto., *et al* (2012) menjelaskan bahwa dalam proses penambangan, urat kuarsa yang mengandung bijih emas ditumbuk sampai berukuran 1-2 cm, selanjutnya digiling dengan alat gelundungan (*trommel*) sampai berbentuk serbuk pasir. Serbuk tersebut kemudian diolah dengan teknik amalgamasi, yaitu mencampur serbuk pasir urat kuarsa dengan merkuri membentuk amalgam. Amalgam kemudian dipisahkan melalui proses penggarangan (pemijaran) hingga diperoleh logam paduan emas (*bullion*).

Keberadaan emas di desa Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat telah menarik perhatian masyarakat luas sejak awal tahun 2008, bahkan banyak yang berasal dari luar kecamatan Sekotong. Munir (2015) menyebutkan bahwa hampir 50% dari 40.000 orang penduduk Sekotong terlibat dalam kegiatan yang berhubungan dengan penambangan dan pengolahan emas. Penambangan liar ini sulit untuk dihentikan karena bagi masyarakat setempat, menambang merupakan mata pencaharian mereka saat ini, namun jika kegiatan penambangan terus dilakukan maka akan semakin banyak pula merkuri yang terbuang ke lingkungan dan mengakibatkan pencemaran lingkungan sekitar.

Hasil wawancara dengan beberapa orang penambang di desa Sekotong Barat pada bulan Juni 2015 diperoleh informasi bahwa diperlukan 1 ton merkuri untuk memisahkan 20 kg bijih emas. Para penambang menggunakan merkuri untuk memisahkan bijih emas dari batuan kuarsa. Limbah hasil penambangan dan limbahnya dibuang begitu saja ke halaman rumah penduduk.

Hasil analisis kandungan merkuri dari limbah penambangan emas rakyat pada bulan Juni 2015, diketahui bahwa kandungan merkuri pada bak penampungan limbah sebanyak 34,65-82,72 ppm. Tingginya kandungan merkuri tersebut dikhawatirkan akan mengkontaminasi sumber air warga. Berdasarkan Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 82 tahun 2001 tentang pengelolaan kualitas air dan pengendalian pencemaran air kandungan merkuri untuk baku mutu air kelas satu adalah sebesar 0,001 ppm.

Arbestain., *et al* (2009) menjelaskan bahwa air limbah penambangan yang dihasilkan baik setelah penyaringan atau melalui kegiatan pencucian yang dibuang di sekitar lahan pertanian menyebabkan tanah di sekitar lokasi penambangan mengandung kadar kontaminasi Hg tinggi. Limbah merkuri dari para penambang emas liar di desa Sekotong Barat dibuang begitu saja ke halaman rumah penduduk. Jika hal ini terus dilakukan tanpa adanya upaya pengolahan limbah merkuri yang baik, dikhawatirkan akumulasi merkuri akan meluas ke sumber air warga terutama pada musim hujan dan dapat menurunkan fertilitas tanah. (Nulailah, 2012) menyebutkan bahwa apabila air sumur yang digunakan terkontaminasi merkuri maka akan berdampak negatif, misalnya dapat menyebabkan kebutaan, kerusakan kromosom, cacat pada bayi dalam kandungan dan bahkan dapat

mengakibatkan kematian. Selain itu, pada musim kemarau merkuri di tanah akan semakin cepat menguap sehingga mempercepat kontak dengan manusia. Dash & Dash (2012) menjelaskan bahwa merkuri dalam bentuk Hg^{2+} yang berada di tanah akan menguap ke atmosfer dalam bentuk Hg^0 .

Salah satu alternatif penanggulangan lingkungan tercemar merkuri adalah dengan teknik bioremediasi, yang merupakan salah satu pemanfaatan mikroorganisme untuk memperbaiki lingkungan yang tercemar. Sholikah (2000) menjelaskan bahwa peran mikroba dalam pengolahan air limbah sudah banyak memberikan hasil yang menggembirakan. Senyawa-senyawa organik yang terdapat dalam air limbah merupakan sumber nutrisi bagi mikroba. Mikroba akan mengurai senyawa-senyawa tersebut menjadi bentuk yang lebih sederhana dan stabil sehingga kadar zat pencemar yang terkandung dalam limbah tersebut menjadi turun. Reaksi enzimatik oleh bakteri merupakan kunci terselenggaranya proses transformasi bertahap dalam pengelolaan air limbah dari substrat yang umumnya berupa bahan organik dengan susunan molekul kompleks, menjadi unsur-unsur yang sederhana. Beberapa jenis bakteri diketahui mempunyai kemampuan mereduksi atau menyerap logam berat. Bakteri yang tahan terhadap cekaman merkuri disebut bakteri resisten merkuri (BRM). Mekanisme yang terdapat dalam BRM untuk mereduksi merkuri salah satunya dengan mengubah Hg^{2+} menjadi Hg^0 dengan enzim merkuri reduktase yang dikode gen *merA* (Iftita., *et al.* 2014).

Dash & Das (2012) menyatakan bahwa bioremediasi menggunakan mikroba merupakan langkah yang paling menjanjikan dalam mengatasi lingkungan tercemar merkuri. Notodarmojo (2005) menjelaskan bahwa bakteri umumnya hidup bersama dan saling tergantung antar spesies dan membentuk suatu konsorsium bakteri maka kemampuan untuk merombak berbagai jenis zat pencemar jauh lebih banyak dibandingkan jika hidup secara soliter. Hal sejalan dengan penelitian Neneng., *et al* (2012) yang menemukan bahwa biakan polikultur (konsorsium) bakteri *Pseudomonas* sp. dan bakteri *Klebsiella* sp. lebih efektif digunakan untuk proses bioremediasi merkuri pada lahan pasca tambang emas. Efektivitas tersebut disebabkan karena adanya kombinasi mekanisme kerja yang terjadi antara kedua bakteri tersebut. *Pseudomonas* sp. menggunakan reaksi reduksi secara enzimatik dengan menggunakan bantuan enzim merkuri reduktase untuk mengubah Hg^{2+} menjadi Hg^0 , sedangkan bakteri *Klebsiella* sp. memiliki kemampuan untuk menghasilkan hidrogen sulfida (H_2S) di bawah kondisi aerobik yang dapat mengendapkan ion Hg^{2+} yang terlarut menjadi HgS yang tidak larut dalam air sehingga dapat dengan mudah dipisahkan dari larutan. Kombinasi mekanisme kerja ini yang menyebabkan proses reduksi merkuri pada kultur yang ditanam pada isolat campuran kedua jenis bakteri ini lebih besar dibandingkan dengan isolat tunggal.

Penelitian pendahuluan ini bertujuan untuk mengisolasi dan menguji sensitivitas bakteri terhadap



merkuri dari limbah penambangan emas di Desa Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat. Bakteri diisolasi dari limbah yang berada di tempat penampungan sementara. Limbah tersebut diambil dari tiga lokasi yang berbeda. Bakteri yang diisolasi kemudian diinokulasi pada medium NA-HgCl. Identifikasi dari bakteri yang ditemukan dilakukan berdasarkan ciri morfologi, dan fisiologi melalui uji biokimia yang meliputi uji indol, sitrat, urease, motilitas, H₂S, katalase, koagulase, amilase, dan uji fermentasi karbohidrat. Uji sensitivitas terhadap merkuri dilakukan dengan metode sumuran.

2. METODE

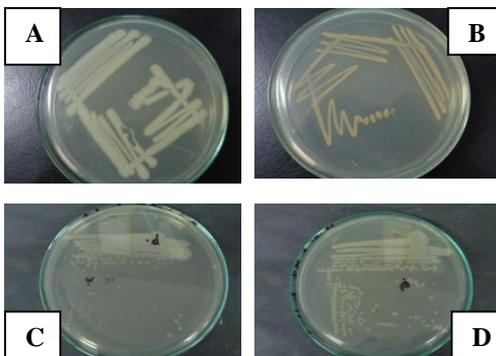
2.1. Pengambilan Sampel

Sampel diambil dari tiga lokasi penampungan limbah penambangan emas rakyat yang menggunakan merkuri di Desa Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat. Sampel dari masing-masing tempat penampungan diambil sebanyak 250 ml kemudian dimasukkan ke dalam botol reagen gelap dan dibawa menggunakan media transport. Selanjutnya, 50 ml sampel dari tiap botol diambil dan dicampur ke dalam botol yang masing-masing telah berisi 450 ml *Nutrient Broth*. Campuran tersebut kemudian dipropagasi pada suhu kamar selama 5 hari. Propagasi bertujuan untuk memperbanyak kultur bakteri.

2.2. Isolasi Bakteri

Media seleksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah media *Nutrient Agar* yang ditambahkan HgCl₂ 30 ppm. Isolasi bakteri menggunakan metode *pour plate* dari pengenceran bertingkat 10⁻¹ – 10⁻³.

Berdasarkan hasil inokulasi kemudian dipilih bakteri dominan yang tumbuh kemudian dimurnikan kembali ke dalam media NA- HgCl₂ 30 ppm. Dari tiap koloni tersebut kemudian dilakukan deskripsi morfologi. Dari hasil inokulasi diperoleh empat dominan yang terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Isolat Bakteri dari Limbah Penambangan Emas

2.3. Uji Sensitivitas Bakteri

Uji sensitivitas bakteri terhadap merkuri dilakukan dengan menggunakan *cup-plate technique* (metode

sumuran). Masing-masing bakteri yang telah disuspensikan ke dalam NaCl pada tingkat kekeruhan 1 McF digoreskan pada media *Mueller Hinton Agar*. Pada media agar dibuat 4 buah sumuran yang masing-masing berisi HgCl₂ 30 ppm, 20 ppm, 10 ppm dan aquades sebagai kontrol positif. Semakin kecil zona hambat disekitar sumuran menandakan bakteri tersebut semakin tahan terhadap cekaman merkuri. Hasil uji sensitivitas bakteri dapat dilihat pada Tabel 3.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Hasil Isolasi, Uji Morfologi, dan Fisiologi Bakteri

Bakteri dominan yang berhasil diisolasi diperiksa secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis meliputi bentuk, warna, elevasi, dan tepi koloni. Hasil pemeriksaan makroskopis dapat dilihat pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Makroskopis

Isolat	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepi
K1	Tidak beraturan	Putih	Cembung	Tidak rata
K2	Bulat	Kuning	Cembung	Rata
K3	Buat	Krem	Cembung	Tidak rata
K4	Tidak beraturan	Krem	Cembung	Tidak rata

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua bakteri yang berhasil diisolasi merupakan bakteri Gram positif dengan 3 bakteri berbentuk batang dan 1 bakteri berbentuk kokus. Hasil uji morfologi mikroskopis dan sifat fisiologi bakteri melalui uji biokimia dapat dilihat pada Tabel 2.

Uji biokimia untuk menunjukkan sifat fisiologi bakteri menunjukkan bahwa hanya 1 isolat yang bersifat non motil. Semua isolat menunjukkan hasil negatif untuk uji indol, dan sitrat. Uji urease menunjukkan hanya 1 isolat yang positif. Hasil positif fermentasi glukosa hanya ditunjukkan 1 isolat. Amilase positif ditunjukkan 2 isolat, katalase positif ditunjukkan 3 isolat, koagulase positif ditunjukkan oleh 2 isolat, uji *methyl red* dan *voges proskauer* menunjukkan hasil negatif untuk semua isolat.

Tabel 2. Hasil Isolasi, Uji Morfologi dan Uji Biokimia Bakteri

Hasil Uji Morfologi	Bentuk Sel Pewarnaan Gram	K1	K2	K3	K4
Hasil Uji Biokimia	In	batang positif	Kokus Positif	Batang Positif	batang positif
	Cit	-	-	-	-
	U	-	+	-	-
	Mot	+	+	-	+
	H ₂ S	B/A	B/A	B/A	B/B
	GI	+	±	-	-
	SK	-	-	-	-
karbohidrat	LK	-	-	-	-
	ML	+	-	-	-
	MN	-	-	-	-
	VP	-	-	-	-
	Amilase	+	-	+	-
	Kat/Koa	-/+	+/+	+/-	+/-
	MR	-	-	-	-

Keterangan: In= indol U= urease GI= glukosa LK= laktosa MN= manitol
 Cit= sitrat Mot= motilitas SK= sukrosa ML= maltosa VP= *voges proskauer*
 Kat= katalase Koa= koagulase MR= *methyl red*

3.1.1 Uji Indol

Uji indol dilakukan dengan menginokulasikan isolat pada media air pepton kemudian diinkubasikan selama 1x 24 jam pada suhu 37°C. Pada waktunya, reagen Kovac diteteskan perlahan pada dinding tabung hingga terlihat garis pemisah antara media dan reagen. Semua isolat yang diuji menunjukkan hasil positif. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin warna merah pada garis pemisah, sedangkan tidak terbentuknya cincin merah antara media dan reagen menunjukkan hasil negatif. Hasil positif pada uji indol menunjukkan bahwa bakteri mengandung enzim triptofanase yang merupakan katalis pengurai gugus indol yang terkandung dalam asam amino triptofan.

3.1.2 Uji Sitrat

Uji sitrat dilakukan dengan menginokulasi isolat pada media *Simmon's Citrate* (SC). Pengujian ini bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri dalam menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Hasil positif akan ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media dari hijau menjadi biru. Hal ini disebabkan karena penggunaan sitrat oleh bakteri menyebabkan asam menghilang dari biakan sehingga terjadi peningkatan pH dan mengubah warna media dari hijau menjadi biru. Pengujian untuk keempat isolat bakteri yang ditemukan menunjukkan hasil negatif.

3.1.3 Uji Urease

Uji Urease bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri mengubah urea menjadi amoniak. Media untuk uji urease menggunakan *Urea Base Agar*. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan

warna media dari warna kuning menjadi merah muda. Dari keempat isolat yang diuji, hanya isoalat K2 yang menunjukkan hasil positif.

3.1.4 Uji Motilitas

Motilitas bakteri dapat disebabkan karena bakteri memiliki flagel (gerak aktif) atau pun karena faktor dari luar (Gerak Brown). Gerak Brown merupakan gerakan secara acak yang disebabkan karena adanya benturan dari molekul-molekul dalam medium

Media untuk uji motilitas menggunakan media NA dengan jumlah 1/10 kali lebih sedikit dari jumlah standar medium yang digunakan sehingga dapat dihasilkan media inokulasi semi solid. Hasil pengujian pada keempat menunjukkan bahwa isolat K1, K2, dan K4 menunjukkan hasil positif yaitu bakteri menunjukkan pertumbuhan menyebar disekitar tempat penusukan, sedangkan isolat K3 menunjukkan hasil negatif di mana pertumbuhan bakteri tidak menyebar dan hanya tumbuh lurus di sekitar penusukan.

3.1.5 Uji H₂S dan Fermentasi Karbohidrat

Uji H₂S menggunakan media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*). Media TSIA yang digunakan juga dapat digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri memfermentasi karbohidrat (glukosa, sukrosa, dan manitol). Untuk mengkonfirmasi hasilnya, seringkali disertai dengan uji fermentasi karbohidrat. Media inokulasi untuk uji karbohidrat terdiri dari *Bromcresol Purple* (BCP) sebagai indikator dan alkaline phosphatase serta gula yang akan difermentasikan sebanyak 1%. Media yang digunakan berada dalam 5 tabung berbeda. Bakteri



uji kemudian diinkubasikan selama 24-48 jam pada suhu 37°C.

Warna dasar media TSIA adalah kuning. Jika terjadi fermentasi karbohidrat, media akan berubah menjadi merah (asam), jika tidak terjadi fermentasi maka akan tetap berwarna kuning (basa). Pembacaan hasil uji biasanya diawali dari bagian lereng media. Jika hasil uji menunjukkan B/A (lereng berwarna kuning, dasar berwarna merah), hal ini berarti bakteri hanya dapat memfermentasi sebagian karbohidrat. Hasil uji A/A berarti bakteri dapat memfermentasi semua jenis karbohidrat, sedangkan hasil B/B berarti bakteri uji tidak dapat memfermentasi semua jenis karbohidrat. Sedangkan untuk uji fermentasi karbohidrat, hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna medium dari ungu menjadi kuning hingga jernih, sedangkan hasil negatif dilihat dari tidak adanya perubahan warna medium.

Dari keempat isolat uji, diketahui bahwa hasil uji isolat K1 adalah B/A. Hasil ini juga disertai bahwa sebagian hasil uji karbohidrat yaitu glukosa dan maltosa menunjukkan hasil positif. Berbeda dengan K1, isolat K2 menunjukkan hasil variatif untuk K2. Dikatakan variatif (\pm) karena warna ungu dari media uji terlihat memudar. Hal ini dapat disebabkan karena kemampuan bakteri yang lemah dalam memfermentasi glukosa. Selain itu, jumlah glukosa pada media juga lebih banyak dari pada kadar glukosa pada media TSIA, yakni 1% dari total volume. Hasil yang hampir sama juga ditunjukkan dari hasil pengujian isolat K3, yakni B/A pada media TSIA, sedangkan hasil negatif pada semua media uji karbohidrat. Hasil pembacaan B/B ditunjukkan oleh isolat K4 yang disertai juga dengan hasil uji negatif untuk uji fermentasi karbohidrat.

Jika berwarna semua isolat menunjukkan hasil negatif di mana tidak terdapat endapan hitam di dasar media. Selain itu, tidak terlihat adanya pembentukan gas dari semua isolat yang diinokulasi.

3.1.6. Uji MR (*Methyl Red*)

Uji *methyl red* digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasi metilen glikon. Media yang digunakan adalah glukosa fosfat. Setelah diinkubasi, pada media ditambahkan *methyl red* 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media menjadi merah setelah setelah ditambahkan *methyl red* 1%, sedangkan hasil negatif ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan warna media setelah penambahan *methyl red* 1%. Semua isolat yang diuji menunjukkan hasil negatif untuk uji MR.

3.1.7. Uji VP (*Voges Proskauer*)

Glukosa fosfat merupakan media yang digunakan untuk uji VP. Uji ini bertujuan untuk mengetahui

kemampuan bakteri dalam membentuk asetil metil karbinol (asetoin) dari hasil fermentasi glukosa. Setelah diinkubasi, pada media ditambahkan α naphthol 5% dan KOH 40% Jika setelah ditambahkan α naphthol 5% dan KOH 40% terjadi perubahan warna media menjadi merah, berarti bakteri dapat membentuk asetoin, sedangkan jika hasil negatif maka tidak terjadi perubahan warna media. Semua isolat bakteri yang diuji menunjukkan hasil negatif untuk uji VP.

3.1.8. Uji Amilase

Uji amilase bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghidrolisis amilum. Untuk mengujian, isolat diinokulasi pada media *agar starch* dan diinkubasi selama 1x 24 jam. Setelah inkubasi, media yang telah diinokulasi tersebut ditetesi lugol. Media akan berwarna hitam karena mengandung amilum. Jika pada sekitar koloni terlihat zona bening, hal itu menandakan bahwa bakteri uji memiliki enzim amilase yang menghidrolisis amilum. Isolat K1 dan K3 menunjukkan hasil positif, sedangkan K2 dan K4 menunjukkan hasil negatif.

3.1.9. Uji Katalase

Beberapa bakteri dapat menghasilkan enzim katalase atau peroksidase yang dapat menghancurkan hidrogen peroksida (H_2O_2). Hidrogen peroksida bersifat toksik sehingga dengan cepat dapat merusak komponen sel bakteri. Dengan enzim katalase, H_2O_2 akan dikatalisis menjadi H_2O dan O_2 .

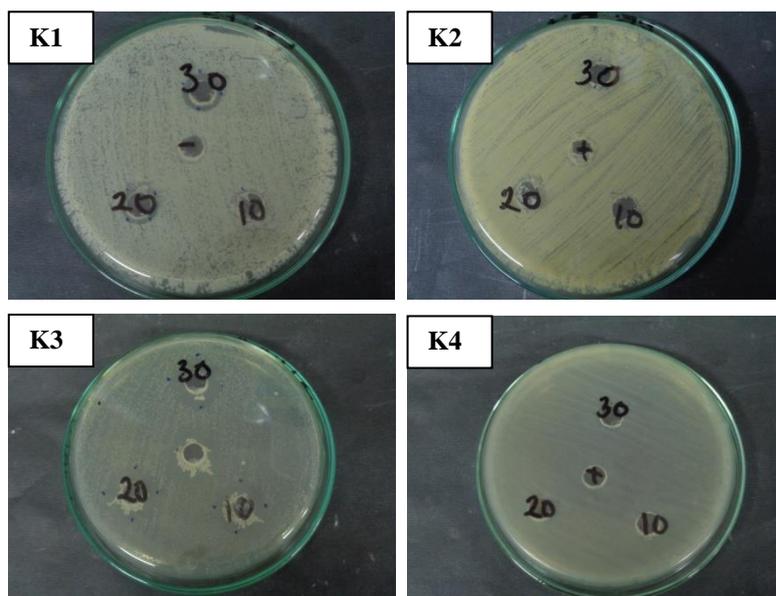
Pada uji katalase, koloni bakteri uji dicampur dengan H_2O_2 10% di atas kaca benda. Jika hasil positif, maka akan terbentuk gelembung udara di sekitar koloni. Dari semua isolat yang diuji, hanya isolat K1 yang menunjukkan hasil negatif.

3.1.10. Uji Koagulase

Uji koagulase bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menggumpalkan fibrin. Uji koagulase dilakukan dengan *slide test*. Reagen oksidase ditetaskan di atas kaca benda kemudian dicampurkan dengan koloni yang akan diuji. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya aglutinasi. Dari semua bakteri uji, isolat K1, dan K2 menunjukkan hasil positif.

3.2. Uji Sensitivitas Terhadap Merkuri

Isolat bakteri yang telah dimurnikan kemudian disuspensikan ke dalam NaCl 0,9% dengan tingkat kekeruhan 1 Mc Farland yang setara dengan 3×10^8 CFU/mL. Dengan menggunakan swab steril, suspensi kemudian digoreskan pada media MHA yang baru kemudian dibuat sumuran yang masing-masing akan diisi $HgCl_2$ 30 ppm dan aquades sebagai kontrol positif. $HgCl_2$ dipilih karena dalam bentuk senyawa tersebut, merkuri dapat larut dalam air.



Gambar 2. Uji Sensitivitas Terhadap Merkuri dengan *Cup-Plate Technique*

Hasil uji sensitivitas terhadap merkuri yang terlihat pada Tabel 3 menunjukkan bahwa isolat K4 memiliki zona hambat terkecil, yang diikuti oleh isolat K2, K1, dan K3. Dengan demikian dapat diketahui bahwa K4 lebih tahan terhadap cekaman merkuri. Sejalan ini, aplikasi bioremediasi di lapangan sebagian besar menggunakan bakteri berbentuk batang, meskipun sebagian kecil juga menggunakan bakteri berbentuk kokus.

Tabel 3. Hasil Uji Sensitivitas Bakteri Terhadap Merkuri

Konsentrasi Hg	Luas Zona Hambat (mm)			
	K1	K2	K3	K4
30 ppm	5,1	0,7	9,2	0
20 ppm	4	0	5,8	0
10 ppm	1,8	0	5	0

Menunjukkan ketahanan bakteri terhadap cekaman merkuri. Semakin kecil zona hambat menunjukkan bahwa bakteri tersebut semakin mampu bakteri tersebut mentransformasi senyawa logam merkuri kompleks menjadi senyawa lain yang lebih sederhana dengan toksisitas yang lebih rendah sehingga bisa ditolerir oleh sel bakteri. Hal ini dapat dijadikan pertimbangan untuk memilih kandidat bakteri yang akan digunakan dalam mereduksi merkuri. Namun, penelitian lebih lanjut untuk mengetahui tingkat resistensi bakteri yang tergolong dalam bakteri spektrum luas maupun spektrum sempit masih perlu dilakukan.

4. SIMPULAN

Diperoleh empat isolat bakteri (K1, K2, K3, dan K4) yang tahan terhadap logam berat merkuri dengan konsentrasi 30 ppm. Berdasarkan uji sensitivitas dengan metode sumuran, K1 dan K3 tergolong intermediet sedangkan K2 dan K4 tergolong resisten.

Namun perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui tingkat resistensi bakteri yang tergolong dalam bakteri spektrum luas maupun spektrum sempit serta koeksistensi antar bakteri untuk perlakuan yang menggunakan konsorsium.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih untuk para analis Laboratorium Unit Riset Biomedik RSUP NTB atas bantuan dan saran selama melakukan penelitian.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Ahyani, M. (2011). *Pengaruh Kegiatan Penambangan Emas Terhadap Kondisi Kerusakan Tanah pada Wilayah Pertambangan Rakyat di Bombana Provinsi Sulawesi Tenggara*. Retrieved from <http://core.ac.uk/download/pdf/11732471.pdf>.
- Alfian, Z. (2006). *Merkuri: Antara Manfaat dan Efek Penggunaannya Bagi Kesehatan Manusia dan Lingkungan*. Retrieved from <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/708/1/08E00123.pdf>, diakses tanggal 10 November 2015.
- Arbestain, C. M., Lado, L. R, Bao, M, Macias, F. (2008). *Assessment of Mercury-Polluted Soils Adjacent to an Old Mercury-Fulminate Production Plant*. Retrieved from <http://www.hindawi.com/journals/aess/2009/387419/>.
- Barkay, T, Miller. S. M., Summers. (2003). *Bacterial Mercury Resistance from Atom to Ecosystems*. Elsevier Science. doi:10.1016/S0168-6445(03)00046-9
- Barkay, T., Dobler. & Irene W. (2013). *Microbial Transformations of Mercury: Potentials*,

- Challenges, and Achievements in Controlling Mercury Toxicity in the Environment*. Retrieved from http://aesop.rutgers.edu/~barkay/barkay_wagner-dobler.pdf.
- Dash, H. R., Das, S. (2012). *Bioremediation of Mercury and the Importance of Bacterial Mer Genes*. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/233382713_Bioremediation_of_mercury_and_the_importance_of_bacterial_mer_genes._Int_Biodegteri_or_Biodegrad.
- Fatimawali, Fatmawaty, B., Yusuf. I. (2011). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Resisten Merkuri dari Muara Sungai Sario yang Dapat Digunakan untuk Detoksifikasi Limbah Merkuri*. Retrieved from <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/JIS/article/view/220>
- Hadi, C. (2015). *Bahaya Merkuri di Lingkungan Kita*. Retrieved from <http://www.poltekkes-denpasar.ac.id/files/JSH/V10N2/M.%20Choirul%20Hadi%201%20JSH%20V10N2.pdf>.
- Handayanti, E., Hairiah, K. (2009). *Biologi Tanah: Landasan Pengelolaan Tanah Sehat*. Yogyakarta: Pustaka Adipura.
- Ji, Isabelle. (2011). *The Bioavailability of Mercury in Aquatic System*. Retrieved from <http://groups.northwestern.edu/nutj/files/articles/full/Ji.pdf>.
- Munir, A. (2015). *Limbah Merkuri Selimuti Bombana, Sekotong, dan Cicitu*. Retrieved from <http://www.menlh.go.id/menlhk-bertemu-srikandi-bike-to-work-b2w-indonesia/>.
- Nascimento, Andréa M.A. & Souza, Edmar. C. (2003). *Operon mer: Bacterial Resistance to Mercury and Potential for Bioremediation of Contaminated Environments*. Retrieved from http://www.funpecrp.com.br/gmr/year2003/vol1-2/sim0005_full_text.html.
- National Institute of Mental Health. (1990). *Clinical training in serious mental illness* (DHHS Publication No. ADM 90-1679). Washington, DC: U.S. Government Printing Office.
- Notodarmojo, S. (2005). *Pencemaran Tanah dan Air Tanah*. Bandung: Penerbit: ITB. Krebs, C.J. (2009). *Ecology the Experimental Analysis of Distribution and Abundance*. USA: Benjamin Cummings, Pearson.
- Nugraha, A. W. (2015). *Isolasi Gen Pengkelat Logam Berat Merkuri (Hg) dari Bakteri Indogen Limbah Cair Agar Untuk Bahan Pengembangan Buku Ajar Pengantar Bioteknologi di Jurusan Pendidikan Biologi Universitas Malang*. Unpublished Master thesis Malang. Pascasarjana Universitas Negeri Malang.
- Nurlailah. (2013). *Pengaruh Penambahan Berbagai Konsentrasi Merkuri (Hg) Terhadap Dinamika Bakteri Pereduksi Merkuri Hg) pada Air Sumur*. Retrieved from Djunaedi. (2012). *Kajian Penataan Sumber Daya Air dan Konservasi Air Tanah pada Wilayah Kritis Air*. Retrieved from <http://repository.unhas.ac.id/bitstream/handle/123456789/4008/Publikasi%20Artikel%20%28Nurlailah%29.pdf?sequence=1>.
- Pattuju. S. M., Fatimawali, Manampiring. A. (2014). *Identifikasi Bakteri Resisten Merkuri pada Urine, Feses, dan Kalkulus Gigi pada Individu di Kecamatan Malalayang, Manado, Sulawesi Utara*. *Jurnal e-Biomedik*. Retrieved from <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/ebiomedik/article/view/5108>.
- Peraturan Pemerintah RI No. 82 Tahun 2001 Tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air*. Retrieved from http://www.minerba.esdm.go.id/library/sijh/PP8201_KualitasAir.pdf.
- Soemarno. (2000). *Identifikasi Bakteri Klinik*. Aak Yogyakarta: Depkes RI.

Penanya:

Achmad Gazali, S.Si., M.Sc.
(IKIP Budi Utomo Malang)

Pertanyaan:

Metode indentifikasi apakah yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri yang ditemukan?

Jawaban:

Identifikasi menggunakan Microbact Kit sampai diketahui genusnya.

Penanya:

Fenky Marsandi, S.Si. (Universitas Andalas)

Pertanyaan:

Apakah ada tanggapan dari pemerintah terkait penambangan yang dilakukan oleh masyarakat?

Jawaban:

Pemerintah daerah pernah menutup area penambangan liar namun penduduk setempat melakukan penambangan kembali.