

Bakteri Indigen yang Diisolasi dari Danau Toba: *Acinetobacter junii* DT2.1 Multiresisten Tembaga, *Methylen Blue*, dan *Basic Fuchine*

WAHYU IRAWATI*, POLIN P. AMBARITA, VANNESA EL SHADAY, SINTIA Y. RAHMAWATI

Program Studi Biologi, Universitas Pelita Harapan, Tangerang, Indonesia

Diterima: 19 Maret 2023 – Disetujui: 18 Agustus 2023
© 2023 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

ABSTRACT

Lake Toba is one of the industrial waste disposal sites around the location. Copper and dyes are pollutants that are toxic and harmful to organisms. Bioremediation using indigenous bacteria isolated from polluted sites is a promising solution to overcome environmental pollution. Bacteria that have multi-resistance to copper and dyes are expected to increase the efficiency of industrial waste treatment. This study aims to: 1) isolate and characterize copper-resistant bacteria, 2) determine the level of resistance of bacterial isolates to copper, 3) test the resistance of bacteria to dyes. Physiological characterization of bacterial isolates was carried out by observing colony and cell morphology, also Gram staining. Molecular characterization was carried out by analysis of the 16S rDNA gene. The copper resistance level was tested by determining the Minimum Inhibitory Concentration MIC value. The dye resistance test was carried out by growing bacteria on a medium containing 100 ppm of dye. There were eight isolates of copper-resistant bacteria with MIC values ranging from 3-7 mM CuSO₄ with code as DT1.1; DT1.2; DT1.3; DT1.4; DT1.5; DT2.1; DT2.2; and DT3.1. The three highly resistant bacteria were strains DT1.1 and DT1.3 which were identified as *Lysinibacillus macroides* and strain DT2.1 was identified as *Acinetobacter junii* with an MIC value of 7mM CuSO₄, respectively. The results of the resistance test to dyes showed that only *A. junii* strain DT2.1 was resistant to 100 ppm Methylene Blue and Basic Fuchine.

Key words: indigenous bacteria; Lake Toba; multi-resistance; dye; copper.

PENDAHULUAN

Kawasan tepi Danau Toba merupakan kawasan padat penduduk. Selain karena keindahan alamnya, Danau Toba banyak dimanfaatkan oleh masyarakat untuk pariwisata, sumber air bersih, budidaya ikan, pembangkit listrik tenaga air, dan lain sebagainya (Silaban & Silalahi, 2021). Sebagai tempat pariwisata, Danau Toba mendapat gelar sebagai Kawasan Strategis

Pariwisata Nasional (Buaton & Purwadio, 2015), sehingga banyak wisatawan asing maupun lokal yang mengunjungi Danau Toba untuk mengagumi keindahan ciptaan Tuhan tersebut. Pemanfaatan sumber daya yang intensif terjadi seiring dengan pertambahan penduduk dan peningkatan ekonomi masyarakat di sekitar Danau Toba (Lukman, 2013).

Penelitian mutu air menggunakan metode Storet membuktikan bahwa kualitas air Danau Toba tergolong ke dalam kelas C, artinya tercemar sedang (Silaban & Silalahi, 2021). Salah satu jenis limbah pencemar di Danau Toba adalah tembaga (Cu) (Tampubolon *et al.*, 2013). Air Danau Toba merupakan sumber air yang digunakan masyarakat untuk keperluan mandi, makan dan

* *Alamat korespondensi:*

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi,
Universitas Pelita Harapan. Jl. M.H. Thamrin Boulevard
1100, Lippo Karawaci, Tangerang 15811, Banten, Indonesia.
E-mail: w.irawati3@gmail.com.

minum sehingga pencemaran air harus diatasi dengan baik. Salah satu limbah yang berbahaya apabila terkandung dan terserap ke dalam biota air adalah tembaga (Cahyani *et al.*, 2012). Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa konsentrasi limbah tembaga di Danau Toba berkisar sebesar 0,020-0,045 mg/l (Garno *et al.*, 2020). Kandungan tembaga di perairan akan berubah seiring waktu yang tergantung kondisi aktivitas pembuangan limbah domestik dan limbah pabrik oleh masyarakat (Tampubolon *et al.*, 2013). Tembaga bersifat toksik sehingga mengganggu kesehatan manusia seperti mual, keram, dan pusing apabila terpapar oleh limbah tembaga. Bahkan limbah tembaga dapat menyebabkan gangguan organ kronis seperti ginjal dan liver (Sekarwati *et al.*, 2015).

Limbah lainnya yang dapat memengaruhi kualitas air dan kehidupan di sekitarnya adalah limbah pewarna (Komarawidjaja, 2016). Pigmen dalam limbah pewarna sangat sukar untuk terdegradasi secara alami dan akan menjadi limbah di lingkungan dalam jangka waktu yang lama (Irawati *et al.*, 2022). Limbah pewarna membahayakan tubuh organisme apabila terhirup ataupun tertelan menyebabkan iritasi saluran pencernaan, gangguan sianosis, bahkan iritasi pada kulit (Hamdaoui & Chiha, 2014).

Kebersihan dan kualitas air di Danau Toba sangat perlu diperhatikan keamanannya karena merupakan sumber air minum masyarakat sekitar. Tingkat ketercemaran air Danau Toba sebagian besar berasal dari limbah domestik dan limbah pabrik seperti tembaga dan pewarna. Penanganan limbah dapat dilakukan menggunakan pendekatan kimia melalui fotokatalitik dan biologis melalui mikroorganisme (Naimah *et al.*, 2014). Penanganan limbah menggunakan metode fotokatalitik mampu melakukan degradasi limbah tanpa meninggalkan residu, namun memiliki kekurangan sulit diterapkan dan membutuhkan energi yang besar (Syahroni & Djarwanti, 2015). Bioremediasi yang merupakan solusi biologis dengan menggunakan bakteri indigen yang diisolasi dari tempat tercemar merupakan salah

satu solusi yang menjanjikan untuk mengatasi pencemaran lingkungan (Irawati *et al.*, 2020).

Irawati (2017) memaparkan bahwa bakteri mampu melakukan bioakumulasi tembaga dan pewarna yang ada di lingkungan sehingga dapat bertahan hidup di lingkungan tercemar. Bakteri yang mampu bertahan hidup di lingkungan tercemar tersebut disebabkan oleh sifat resistensi yang terbentuk selama bakteri beradaptasi. Industri tekstil umumnya membuang pewarna dan logam berat ke dalam air limbah, sehingga memerlukan penggunaan teknik bioremediasi yang mampu menghilangkan tembaga dan pewarna. Sampai saat ini hanya sedikit penelitian yang telah dilakukan untuk mempelajari multipotensi bakteri, yang menunjukkan kemampuan untuk meremediasi tembaga dan pewarna. Penelitian ini bertujuan untuk: 1) melakukan isolasi dan karakterisasi bakteri resisten tembaga, 2) menentukan tingkat resistensi isolat bakteri terhadap tembaga, 3) menguji resistensi bakteri terhadap pewarna. Bakteri indigen yang memiliki kemampuan multiresistensi terhadap tembaga dan pewarna diharapkan dapat meningkatkan efisiensi pengolahan limbah industri.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Teachers College Universitas Pelita Harapan pada bulan Juni 2022 sampai dengan Januari 2023.

Alat dan Bahan

Penelitian ini membutuhkan alat yaitu *laminar airflow*, *micropipet*, *erlenmeyer*, cawan petri, jarum ose, batang L, Bunsen, dan inkubator. Bahan yang dibutuhkan adalah *Luria Bertani Agar* (LB Agar), sampel air Danau Toba, dH₂O. Larutan 1 M CuSO₄ dan pewarna 10.000 ppm larutan pewarna *methylene blue*, dan *basic fuchine* dibuat sebagai stok dan ditambahkan ke dalam medium padat steril secara aseptis sesuai dengan perlakuan.

Prosedur Penelitian

Isolasi dan karakterisasi bakteri resisten tembaga

Metode sebar dilakukan untuk meng-inokulasikan sampel ke dalam medium LB padat secara aseptis dengan melakukan pengenceran seri. Medium padat diberi penambahan CuSO_4 dengan konsentrasi 1, 2, dan 3 mM. Sampel yang telah disebar ke medium kemudian diinkubasikan selama 24 jam dengan suhu 37°C . Bakteri yang tumbuh kemudian diamati karakteristiknya berdasarkan warna, bentuk, tepi, dan juga penampang optik yang dimiliki setiap isolat bakteri. Pemurnian isolat dilakukan untuk mendapatkan bakteri yang paling murni dari koloni yang didapatkan. Uji pewarnaan gram dilakukan untuk melihat jenis membran dan bentuk sel bakteri.

Uji MIC isolat bakteri resisten tembaga

Metode *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) merupakan metode yang dipilih untuk uji resistensi bakteri, yang dilakukan dengan menumbuhkan bakteri di dalam medium dengan konsentrasi tembaga tertinggi hingga bakteri tidak lagi dapat bertumbuh di konsentrasi tersebut. Batas konsentrasi tertinggi yang sudah tidak dapat ditumbuhi isolat diambil sebagai nilai MIC (Irawati *et al.*, 2019). Tiga bakteri yang paling resisten yaitu memiliki nilai MIC tertinggi kemudian diidentifikasi berdasarkan 16S rDNA untuk mengetahui nama spesies bakteri.

Uji resistensi pewarna

Isolat bakteri yang paling resisten terhadap CuSO_4 akan diuji resistensinya terhadap pewarna *methylene blue* dan *basic fuschine*. Biakan murni ditumbuhkan dengan cara *streak* ke dalam medium LB padat yang mengandung 100ppm *methylene blue* dan 100 ppm *basic fuschine* kemudian diinkubasikan selama 24 jam dalam inkubator dengan suhu 37°C . Pertumbuhan bakteri dan kemampuan bakteri dalam mendekolorisasi pewarna diamati dengan melihat adanya zona bening di sekeliling koloni.

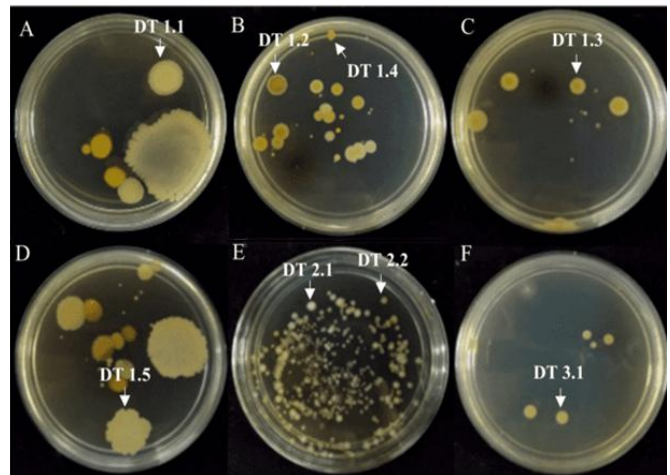
Analisis Data

Analisis data yang dilakukan adalah analisis deskriptif yaitu dengan mengumpulkan data hasil penelitian untuk kemudian mengolah, menyusun, menganalisis data untuk menjawab tujuan penelitian (Sugiyana, 2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Resisten Tembaga

Hasil isolasi bakteri indigen dari Danau Toba menunjukkan adanya pertumbuhan komunitas koloni bakteri pada medium yang mengandung 1, 2, dan 3 mM CuSO_4 . Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa Danau Toba tercemar tembaga sehingga diduga terdapat bakteri yang resisten tembaga. Paparan bakteri ke habitat yang terkontaminasi tembaga untuk waktu yang lama memaksa bakteri untuk mengembangkan mekanisme resistensi tembaga. Mekanisme yang digunakan dalam resistensi tembaga bakteri meliputi bioakumulasi yang



Gambar 1. Pertumbuhan komunitas bakteri pada medium yang mengandung CuSO_4 . Cawan A, B, C, D merupakan medium dengan konsentrasi 1 Mm CuSO_4 , cawan E merupakan medium dengan konsentrasi 2 mM CuSO_4 , cawan F merupakan medium dengan konsentrasi 3 Mm CuSO_4 .

melibatkan kompleksasi ion logam di dalam dan di luar sel melalui biosorpsi (Gupta *et al.*, 2015). Hasil isolasi bakteri resisten tembaga diperoleh 8 jenis koloni bakteri yang memiliki karakter berbeda. Bakteri yang tumbuh masing-masing diberi kode isolat DT 1.1; DT 1.2; DT 1.3; DT 1.4; DT 1.5; DT 2.1; DT 2.2; DT 3.1.

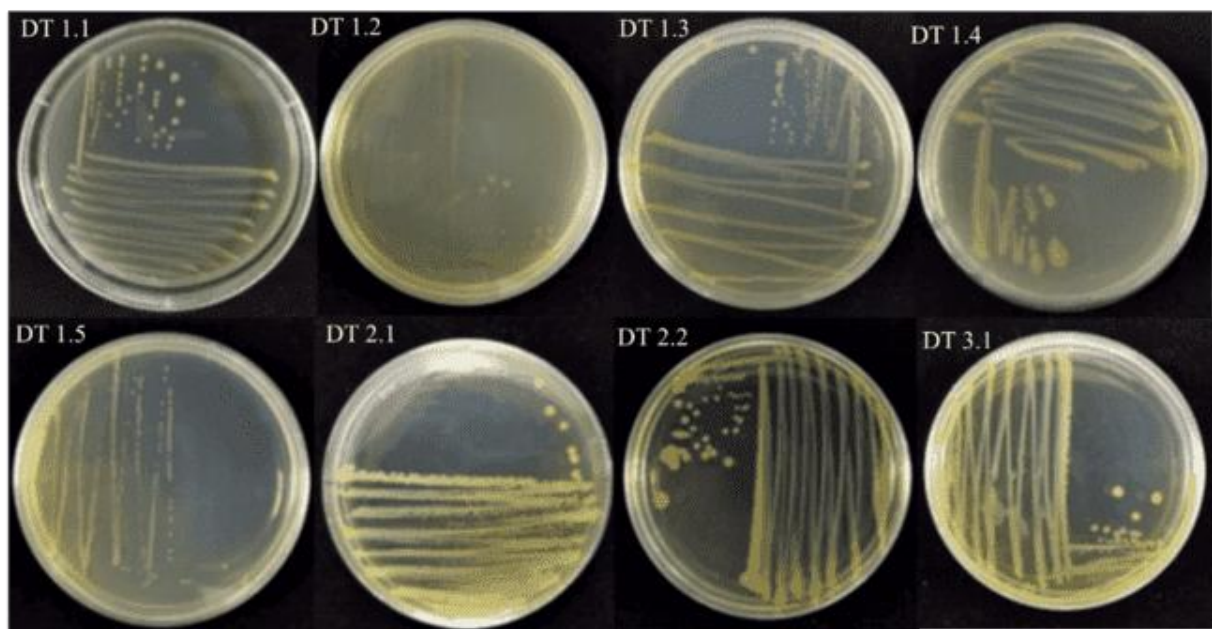
Pertumbuhan komunitas koloni bakteri menunjukkan bahwa 3 mM CuSO₄ merupakan konsentrasi yang mulai menghambat pertumbuhan bakteri. Li *et al.* (2019) melaporkan bahwa tembaga pada konsentrasi rendah merupakan unsur mikro yang dibutuhkan untuk

proses metabolisme. Pada konsentrasi tinggi, tembaga menjadi beracun karena berikatan dengan gugus fungsional protein maupun enzim dan memodifikasinya. Bakteri resisten tembaga memiliki mekanisme resistensi untuk menetralkan toksisitas tembaga. Toksisitas tembaga terjadi akibat pengikatan ion tembaga dengan komponen seluler dan biomolekul bakteri yang menghambat molekul biologis bakteri yang mengakibatkan rusaknya protein, DNA, dan membran biologis, serta terganggunya fungsi enzim dan seluler (Hobman & Crossman, 2014).

Tahapan selanjutnya dalam penelitian adalah

Tabel 1. Hasil Karakterisasi Isolat Bakteri Resistensi Tembaga dari Danau Toba.

No.	Kode isolat	Warna	Bentuk	Tepi	Optik	Gram
1.	DT 1.1	Putih	Circular	Entire	Opaque	Negatif
2.	DT 1.2	Hijau	Circular	Undulate	Opaque	Negatif
3.	DT 1.3	Kuning	Circular	Entire	Opaque	Negatif
4.	DT 1.4	Kuning	Circular	Undulate	Opaque	Negatif
5.	DT 1.5	Krem	Circular	Entire	Opaque	Negatif
6.	DT 2.1	Putih susu	Circular	Entire	Opaque	Negatif
7.	DT 2.2	Kuning muda	Circular	Entire	Opaque	Negatif
8.	DT 3.1	Putih	Circular	Entire	Opaque	Negatif



Gambar 2. Biakan murni isolat bakteri resisten tembaga dari Danau Toba.

pemurnian koloni bakteri (Gambar 2). Pemurnian dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh biakan murni yang bersifat tidak kontaminasi (Ed-Har *et al.*, 2017). Hasil karakterisasi biakan murni masing-masing isolat bakteri resisten tembaga yang meliputi karakter warna, bentuk, tepi, optik, dan identifikasi gram bakteri (Tabel 1).

Tabel 1 menunjukkan bahwa delapan isolat berbentuk bulat dengan penampakan optik yang buram. Warna koloni didominasi oleh warna kuning dan putih. Sebagian besar isolat bakteri mempunyai tepi koloni bulat dan sisanya bergelombang. Seluruh isolat bakteri mempunyai jenis dinding sel gram negatif. Bakteri jenis gram negatif memiliki membran, yaitu membran bagian dan membran plasma. Membran berfungsi sebagai homeostatis pada bakteri yang mengatur mekanisme resistensi terhadap tembaga. Membran sendiri tersusun atas peptidoglikan dan asam teikoat. Asam teikoat sebagai agen dalam membantu berlangsungnya pertukaran ion dalam

mekanisme resistensi terhadap tembaga karena adanya muatan negatif yang dihasilkan (Irawati, 2019). Membran luar bakteri Gram negatif mengandung komponen gugus karboksil, amina, hidroksil, fosfat dan sulfhidril yang bermuatan negatif kuat yang berperan dalam mengikat logam berat bermuatan positif (Tortora *et al.*, 2015).

Uji MIC Isolat Bakteri Resistensi Tembaga

Uji MIC merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui konsentrasi paling rendah dari suatu bahan kimia untuk dapat mencegah pertumbuhan suatu bakteri (Soelama *et al.*, 2015). Pada penelitian ini, uji MIC dilakukan pada medium LB-Agar yang diberi konsentrasi CuSO_4 mulai dari 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 mM. Uji MIC dilakukan secara bertahap dimulai dari konsentrasi CuSO_4 yang paling rendah yaitu 1 mM dan dilanjutkan pada konsentrasi yang lebih tinggi (Tabel 2).

Tabel 2 menunjukkan bahwa tiga isolat bakteri yang paling resisten adalah isolat DT 1.1,

Tabel 2. Hasil uji MIC bakteri resisten tembaga.

No	Kode Isolat	Uji MIC (mM)						Skor MIC
		1	2	3	4	5	6	
1.	DT 1.1	√	√	√	√	√	√	7
2.	DT 1.2	√	√	√	-	-	-	4
3.	DT 1.3	√	√	√	√	√	√	7
4.	DT 1.4	√	√	√	-	-	-	4
5.	DT 1.5	√	√	-	-	-	-	3
6.	DT 2.1	√	√	√	√	√	√	7
7.	DT 2.2	√	√	√	-	-	-	4
8.	DT 3.1	√	-	-	-	-	-	2

Tabel 3. Hasil identifikasi gen 16S rDNA isolat bakteri resisten tembaga dari Danau Toba.

No	Kode isolat	Hasil identifikasi	Nomor aksesori	Similaritas (%)
1.	DT 1.1	<i>Lysinibacillus macroides</i> strain civ19 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	MN177209.1	100.00
2.	DT 1.3	<i>Lysinibacillus macroides</i> strain TEDI-11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	MN233399.1	100.00
3.	DT 2.1	<i>Acinetobacter junii</i> strain DKD 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	MT613873.1	100.00

DT 1.3, dan DT 2.1 dengan nilai MIC 7 mM. Penelitian selanjutnya adalah melakukan analisis molekuler berdasarkan gen 16S rDNA untuk mengetahui nama bakteri. Identifikasi melalui gen 16S rDNA ini juga penting dilakukan untuk mencari tahu kemungkinan munculnya bakteri dengan spesies baru yang belum pernah diteliti (Noer, 2021).

Analisis gen 16S rDNA menunjukkan bahwa isolat DT1.1 dan DT1.3 masing-masing memiliki kesamaan tertinggi dengan *L. macroides* strain civ19 dan *L. macroides* strain TEDI-11 sebesar 100% sedangkan isolat DT2.1 memiliki kesamaan tertinggi dengan *Acinetobacter junii* strain DKD sebesar 100%. Berdasarkan analisis tersebut maka dapat disimpulkan bahwa isolat DT1.1 dan DT1.3 masing-masing teridentifikasi sebagai *L. macroides* strain, sedangkan isolat DT2.1 teridentifikasi sebagai *Acinetobacter junii* strain DT2.1 (Tabel 3).

Sejauh ini belum ditemukan informasi tentang resistensi *L. macroides* terhadap tembaga sehingga ditemukannya *L. macroides* strain DT1.2 dan DT1.3 diharapkan menyumbangkan potensi baru dalam bioremediasi tembaga dan pewarna. Sebaliknya, sudah banyak informasi yang melaporkan bakteri indigen *Acinetobacter* sp. yang diisolasi dari berbagai lingkungan tercemar serta dinformasikan bahwa spesies bakteri ini memiliki resistensi yang tinggi terhadap tembaga (Williams *et al.* 2016) karena dapat melakukan mekanisme biosorpsi tembaga (Mendez *et al.*, 2017). *A. junii*

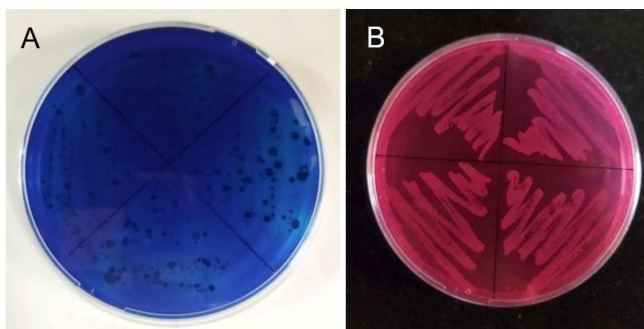
strain DT 2.1 memiliki resistensi yang cukup tinggi yaitu 7 mM dibandingkan hasil penelitian sebelumnya. *Acinetobacter* sp. strain CN2 dan CN6 yang diisolasi dari Sungai Cikapundung, Jawa Barat masing-masing memiliki resistensi dengan nilai MIC 6 dan 7 mM. Bakteri dikatakan memiliki resistensi apabila memiliki nilai MIC berkisar antara 5-7 mM CuSO₄ (Irawati *et al.*, 2019).

Uji Resistensi Bakteri Terhadap Pewarna

Hasil uji resistensi isolat bakteri terhadap pewarna *methylen blue* dan *basic fuchine* menunjukkan bahwa hanya *Acinetobacter junii* strain DT2.1 dapat tumbuh dalam medium tersebut dengan konsentrasi 100 ppm (Gambar 14).

Bakteri dari genus *Acinetobacter* diketahui menyimpan enzim yang membantu dekolonisasi zat warna, yaitu lignin peroxidase (LiP), laccase, riboflavin reductase, dan DCIP reductase (Khandare & Govindwar, 2016). *Acinetobacter* sp. CN5 ditemukan tahan hingga 500 ppm *methylen blue*, *fuchsine* dasar, dan *wantex red* dan tahan terhadap *congo red* pada 450 ppm. *Acinetobacter* sp. CN5 juga mampu mendekolorisasi *methylen blue*, *congo red*, *basic fuchsine*, dan *red wantex* masing-masing sebesar 57,64, 53,17, 91,37, dan 67,50%. Kemampuan bakteri ini dibantu oleh enzim oksidatif seperti lignin peroksidase, veratryl alkohol oksidase, lakase, tirosinase, serta enzim reduktif seperti riboflavin reduktase, azo reduktase, diklorofenol indofenol reduktase dan green HE4B reduktase pada proses metabolisme pewarna (Irawati *et al.*, 2022).

Acinetobacter sp. juga dikenal sebagai bakteri yang memiliki resistensi terhadap tembaga karena memiliki protein CopA dan CopB yang berperan mengikat ion tembaga di dalam membran dan periplasma serta memiliki enzim *multicopper oxidase*, universal stress protein, dan superoxide dismutase untuk menghindari kerusakan sel akibat stress oksidatif akibat konsentrasi tembaga yang tinggi (Irawati *et al.*, 2022). Penambahan 5 mM CuSO₄ ke dalam media meningkatkan kemampuan *Acinetobacter* sp. CN5 untuk menghilangkan warna kongo merah dari 57,64%



Gambar 14. Pertumbuhan isolat DT 2.1 pada 100 ppm pewarna. A. *methylen blue*, dan B. *basic fuchine*.

menjadi 82,58%. Penelitian selanjutnya perlu dilakukan untuk menguji kemampuan *A. junii* strain DT 2.1 dalam mengakumulasi tembaga serta mendekolorisasi pewarna sehingga dapat membuka peluang pemanfaatan bakteri indigen dalam meningkatkan efisiensi bioremediasi tembaga dan pewarna di Danau Toba.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini diperoleh hasil bahwa terdapat 8 jenis isolat bakteri resisten tembaga yang berhasil diisolasi dari Danau Toba. Masing-masing isolat bakteri diberi kode DT 1.2, DT 1.3, DT 1.4, DT 1.5, DT 2.1, DT 2.2, DT 3.1 dengan nilai MIC berkisar antara 2-7mM. Tiga bakteri yang paling resisten teridentifikasi sebagai *Lysinibacillus macroides* strain DT 1.1 dan DT 1.3, serta *Acinetobacter junii* strain DT2.1 dengan nilai MIC 7 mM CuSO₄. Kedua bakteri tersebut memiliki multiresistensi terhadap *methylen blue* dan *basic fuchine* dengan konsentrasi 100 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh internal UPH tahun anggaran 2022/2023 dengan Nomor Kontrak: P-112-FIP/I/2023. Terima kasih kepada Desi Sihombing, Jason G. Gaofman, Christine F. Tinambunan, dan Damai Y. Manalu, mahasiswa Universitas Pelita Harapan yang telah memberikan bantuan selama berlangsungnya penelitian dan penulisan artikel.

DAFTAR PUSTAKA

- Buaton, K.W., dan H. Purwadio. 2015. Kriteria pengembangan kawasan wisata Danau Toba Parapat, Sumatera Utara. *Jurnal Teknik ITS*. 4(1): 1-5.
- Cahyani, M., R. Azizah, dan B. Yulianto. 2012. Studi kandungan logam berat tembaga (Cu) pada air, sedimen, dan kerang darah (*Anadara granosa*) di perairan Sungai Sayung dan Sungai Gonjol, Kecamatan Sayung, Kabupaten Demak. *Journal of Marine Research*. 1(2): 73-79.
- Ed-Har, A.A., R. Widyastuti, dan G. Djajakirana. 2017. Isolasi dan identifikasi mikroba tanah pendegradasi selulosa dan pektin dari rhizosfer *Aquilaria malaccensis*. *Buletin Tanah dan Lahan*. 1(1): 58-64.
- Noer, S. 2021. Identifikasi Bakteri secara molekular menggunakan 16S rRNA. *EduBiologia: Biological Science and Education Journal*. 1(1): 1. DOI: doi.org/10.30998/edubiologia.v1i1.8596.
- Garno, Y.S., R. Nugroho, dan M. Hanif. 2020. Kualitas air Danau Toba di wilayah Kabupaten Toba Samosir dan kelayakan peruntukannya. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. 21(1): 118-124.
- Gupta, R., T. Kumar, and A. Mittal. 2015. Isolation, identification and characterization of heavy metal resistant bacteria from soil of an iron industry, Haryana (India). *Intl J Pharm Sci Res*. 7(3): 1308-1313.
- Hamdaoui, O., and M. Chiha. 2006. Removal of methylene blue from aqueous solution by wheat bran. *Acta Chimica Slovenia*. 54: 407-418.
- Harianja, D., M. Damanik, dan R. Restu. 2018. Kajian tingkat pencemaran air di kawasan perairan Danau Toba Desa Silima Lumbu Kecamatan Onanrunggu Kabupaten Samosir. *Jurnal Geografi*. 10(2): 176-183.
- Hobman, J.L., and L.C. Crossman. 2014. Bacterial antimicrobial metal ion resistance. *J Med Microbiol*. 64: 471-497.
- Irawati, W., A. Hasthosaputro, dan L. Kusumawati. 2020. Multiresistensi dan akumulasi *Acinetobacter* sp. IRC2 terhadap logam berat. *Jurnal Biologi Papua*. 114-122.
- Irawati, W., N. Ompusunggu, D. Susilowati, and T. Yuwono. 2019. Molecular and physiological characterization of indigenous copperresistant bacteria from Cikapundung River, West Java, Indonesia. *Biodiversitas*. 20(2): 344-349.
- Irawati, W., R. Pinontoan, B. Mouretta, and T. Yuwono. 2022. The potential of copper-resistant bacteria *Acinetobacter* sp. strain Cn5 in decolorizing dyes. *Biodiversitas*. 23(2): 680-686.
- Irawati, W., E.S. Djojo, L. Kusumawati, T. Yuwono, and R. Pinontoan. 2021. Optimizing bioremediation: Elucidating copper accumulation mechanisms of *Acinetobacter* sp. IRC2 isolated from an industrial waste treatment center. *Front Microbiol*. 12: 713812. DOI: 10.3389/fmicb.2021.713812.
- Irawati, W., S. Riak, N. Sopiah, and S. Sulistia. 2017. Heavy metal tolerance in indigenous bacteria isolated from the industrial sewage in Kemisan River, Tangerang, Banten, Indonesia. *Biodiversitas*. 18(4): 1481-1486.
- Khandare, R.V., and S.P. Govindwar. 2016. Microbial degradation mechanism of textile dye and its metabolic pathway for environmental safety. In: *Environmental Waste Management*. CRC Press.
- Komarawidjaja, W. 2016. Sebaran limbah cair industri tekstil dan dampaknya di beberapa desa Kecamatan Rancaekek Kabupaten Bandung. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. 17(2): 118-125.

- Li, C., Y. Li, and C. Ding. 2019. The role of copper homeostasis at the host-pathogen axis: From bacteria to fungi. *Int J Mol Sci.* 20(1): 175-182.
- Lukman. 2013. *Danau Toba: Karakteristik limnologis dan mitigasi ancaman*. LIPI Press. Jakarta.
- Méndez, V., S. Fuentes, V. Morgante, M. Hernández, M. González, E. Moore, and M. Seeger. 2017. Novel hydrocarbonoclastic metal-tolerant *Acinetobacter* and *Pseudomonas* strains from Aconcagua river oil polluted soil. *J Soil Sci Plant Nutr.* 17(4): 1074-1087.
- Naimah, S., S. Ardhanie, B. Jati, N. Aidha, dan A. Arianita. 2014. Degradasi zat warna pada limbah cair industri tekstil dengan metode fotokatalitik menggunakan nanokomposit Tio₂-Zeolit. *Balai Besar Kimia dan Kemasan, Kementerian Perindustrian Ri.* 225.
- Noer, S. 2021. Identifikasi bakteri secara molekular menggunakan 16S rRNA. *EduBiologia: Biological Science and Education Journal.* 1(1): 1. DOI: doi.org/10.30998/edubiologia.v1i1.8596.
- Sekarwati, N., B. Murachman, dan Sunarto. 2015. Dampak logam berat Cu (tembaga) dan Ag (perak) pada limbah cair industri perak terhadap kualitas air sumur dan kesehatan masyarakat serta upaya pengendaliannya di Kota Gede Yogyakarta. *Jurnal Ekosains.* 7(1): 64-76.
- Silaban, W., dan M. Silalahi. 2021. Analisis kualitas air di perairan Danau Toba Kecamatan Pangururan, Kabupaten Samosir. *Jurnal Sains dan Teknologi.* 10(2): 299-307.
- Sugiyono. 2014. *Metode penelitian kuantitatif, kualitatif dan R&D*. Penerbit Alfabeta. Bandung.
- Syahroni, C., dan Djarwanti. 2015. Pengembangan reaktor fotokatalitik rotating drum untuk pengolahan air limbah industri tekstil. *Jurnal Riset Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri.* 6(2): 35-44.
- Tampubolon, H.S., D. Bakti, dan I. Lesmana. 2013. Studi kandungan logam berat tembaga (Cu) dan timbal (Pb) di perairan Danau Toba, Provinsi Sumatera Utara. [Thesis]. Universitas Sumatera Utara.
- Tortora, G.J., D.R. Funke, and C.L. Case. 2015. *Microbiology: An introduction.* 8th Ed. Benjamin Cummings, San Fransisco.
- Williams, C.L., H.M. Neu, J.J. Gilbreath, S.L.J. Michel, D.V. Zurawski, and D.S. Merrella. 2016. Copper resistance of the emerging pathogen *Acinetobacter baumannii*. *Appl Environ Microb.* 82(20): 6174-6188.