

# Potensi Mikroorganisme Resisten Seng dari Pantai Timur Surabaya Sebagai Biosorben

WAHYU IRAWATI

*Universitas Pelita Harapan, Lippo Karawaci, Tangerang*

Diterima: 11 Juni 2019 – Disetujui: 12 September 2019  
© 2019 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

## ABSTRACT

East coast of Surabaya is one of region in Indonesia which contaminated by heavy metals, such as zinc. Zinc is one of essential heavy metals for organisms but be dangerous for human if consumed in high concentration. So, it is important to to solve the problem to reduce the concentration of zinc in east coast of Surabaya through bioremediation using microorganism. Zinc resistant microorganism could be isolated from zinc contaminated region and be used for bioremediation agent because some microorganism developed resistance mechanism to zinc by bioaccumulation or biosorption. The aims of this study are to isolate and characterize zinc resistant microorganism from east coast of Surabaya. The most resistant microorganism will be observed for the growth in medium supplemented with zinc and without zinc. The potency of the chosen isolate to biosorb of zinc was also analyzed. Water sample from east coast of Surabaya was serries dilluted and inoculated on Luria Bertani Agar medium using spread plated method. Microbial resistance to zinc was analyzed by grown the cell on medium containing various concentration of zinc to determine Minimum Inhibitory Concentration (MIC) value of each microbial isolate. Cell turbidity will be observed in the chosen isolate using spectrophotometer in wave length of 600 nm to get the growth curve. The potency of the chosen isolate to biosorb of zinc was analyzed using *atomic absorption spectrophotometer*. From this study, six bacteria and three yeast have been isolated from east coast of Surabaya, designated as PmbZn1, PmbZn2, PmbZn3, PmbZn4, PmbZn5, PmbZn6, PmbZn7, PmbZn8, dan PmbZn9. All isolates could grow on medium containing 8 mM ZnSO<sub>4</sub>. The most resistant bacterial was isolate PmbZn5 with the MIC of 9 mM ZnSO<sub>4</sub>. The potency of the isolate to biosorb of zinc was 94,79 and 93,57% in medium containing 4 mM and 7 mM ZnSO<sub>4</sub>, respectively.

**Key words:** Bacteria, biosorb, resistant, yeast, zinc.

## PENDAHULUAN

Pantai Timur Surabaya (Pamurbaya) merupakan salah satu kawasan pantai di Indonesia yang dilaporkan telah tercemar logam berat yaitu seng, nikel, tembaga, timah, dan kromium (Sari *et al.*, 2017). Pamurbaya terbentuk dari hasil pengendapan dari sistem sungai yang ada di sekitarnya dan dipengaruhi oleh laut.

Pamurbaya bermuara tujuh buah sungai besar di antaranya sungai Wonokromo dan Wonorejo. Sungai-sungai tersebut membawa limbah dari industri maupun rumah tangga yang pada akhirnya akan menumpuk dan mencemari perairan estuari Pamurbaya (Harnani & Titah, 2017). Pencemaran logam berat ini harus diwaspadai karena telah menunjukkan gejala keracunan logam berat pada masyarakat nelayan di sekitar Pamurbaya (Muhajir, 2009).

Seng merupakan salah satu logam berat esensial bagi makhluk hidup, tetapi dapat berakibat buruk pada manusia apabila dikonsumsi dalam jumlah yang tinggi. Pemaparan

---

\* *Alamat korespondensi:*

Universitas Pelita Harapan, M.H. Thamrin Boulevard  
1100, Lippo Karawaci, Tangerang 15811. Email:  
[w.irawati3@gmail.com](mailto:w.irawati3@gmail.com)

seng dalam jangka waktu yang panjang dapat merusak pankreas dan mengganggu metabolisme protein sehingga menyebabkan arterosklerosis (Plum *et al.*, 2010).

Mikroorganismes diciptakan dalam inisiatif dan rancangannya yang agung agar dapat berperan dalam memperbaiki kualitas lingkungan maupun makhluk hidup. Bioremediasi tembaga dengan menggunakan mikroorganismes alami merupakan tawaran solusi yang menjanjikan untuk mengatasi masalah pencemaran tembaga dengan aman dan murah. Mikroorganismes diciptakan Allah dengan struktur khusus yang mendukung fungsinya serta hal ini dapat dimanfaatkan untuk kepentingan bioremediasi lingkungan. Menurut Irawati *et al.* (2017), ada bakteri dan khamir yang dapat bertahan hidup di lingkungan tercemar dan melakukan mekanisme resistensi dengan cara bioakumulasi maupun biosorpsi tembaga.

Menurut Ahirwar *et al.* (2016), bakteri memiliki kemampuan khusus untuk mendegradasi, mendetoksifikasi dan mengakumulasi logam berat sedangkan Hlihor & Gavrilesco (2009) mengatakan bahwa khamir mampu melakukan biosorpsi terhadap logam berat seperti Ag, Au, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, U, Th, dan Zn. Mekanisme penyerapan logam berat pada khamir di tentukan pada dinding sel khamir. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi dan karakterisasi mikroorganismes resistens seng dari Pantai Timur Surabaya serta mengetahui potensi isolat bakteri terpilih dalam melakukan biosorpsi seng.

## METODE PENELITIAN

### Isolasi dan karakterisasi mikroorganismes resistens seng

Satu mililiter sampel air Pantai Timur Surabaya dilarutkan ke dalam sembilan mililiter akuades steril kemudian dilakukan pengenceran seri. Setiap hasil pengenceran seri sampel tersebut diinokulasikan sebanyak 100 ml ke dalam medium Luria Bertani (LB) dengan penambahan ZnSO<sub>4</sub> berbagai konsentrasi secara aseptik. Inokulasi

dilakukan dengan metode sebar pada cawan petri, kemudian diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 24 jam. Isolasi dan karakterisasi dilakukan pada komunitas mikroorganismes yang tumbuh pada konsentrasi ZnSO<sub>4</sub> tertinggi. Karakterisasi yang dilakukan meliputi bentuk, ukuran, elevasi, tepi, pigmentasi dan penampakan optik (Irawati *et al.*, 2019).

Uji resistensi dilakukan pada setiap isolat bakteri atau khamir dengan melihat *minimum inhibitory concentration* (MIC). Isolat bakteri atau khamir ditumbuhkan pada medium LB padat dengan penambahan berbagai konsentrasi ZnSO<sub>4</sub>. Uji resistensi dilanjutkan pada konsentrasi yang lebih tinggi hingga tidak terjadi pertumbuhan lagi. Nilai MIC adalah batas tertinggi dimana isolat bakteri atau khamir tidak mengalami pertumbuhan (Irawati *et al.*, 2019). Isolat bakteri atau khamir yang resistensinya paling tinggi digunakan sebagai isolat terpilih untuk penelitian selanjutnya.

### Kurva pertumbuhan isolat

Pertumbuhan isolat bakteri atau khamir terpilih diamati pertumbuhannya pada medium LB tanpa ZnSO<sub>4</sub> dan dengan penambahan ZnSO<sub>4</sub> konsentrasi 4 mM dan 7 mM. Kurva pertumbuhan diukur setiap tiga jam sekali hingga 48 jam menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm.

### Uji potensi biosorpsi isolat terhadap seng

Isolat bakteri atau khamir terpilih ditumbuhkan pada LB cair dengan penambahan ZnSO<sub>4</sub> konsentrasi tertentu kemudian diinkubasikan dalam penggojogan 200 rpm. Kultur bakteri dengan sentrifugasi 4000 rpm kemudian supernatan didestruksi dengan HNO<sub>3</sub> menggunakan pemanasan 200 °C. Konsentrasi seng di dalam supernatan dianalisis dengan menggunakan *atomic absorption spectrophotometer*. Potensi biosorpsi seng diukur dengan menggunakan rumus (Andreazza *et al.*, 2010):

$$\% \text{ biosorpsi} = \frac{\text{konsentrasi seng awal}}{\text{konsentrasi seng akhir}} \times 100\%$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi dan karakterisasi mikroorganismen resisten seng

Komunitas bakteri hasil isolasi mikroorganismen dari sampel air limbah Pantai Timur Surabaya pengenceran  $10^{-4}$  yang ditumbuhkan pada media LB agar dengan penambahan 0,5 mM  $ZnSO_4$  mampu tumbuh dan berkembang dengan baik (Gambar 1).

Hasil isolasi dan karakterisasi mikroorganismen resisten seng diperoleh enam bakteri dan tiga khamir yang dapat tumbuh hingga 8 mM  $ZnSO_4$ . Hasil pengamatan morfologi menunjukkan bahwa masing-masing isolat memiliki *shape, margin, elevation, size, pigmentation* dan *optical property* yang berbeda-beda. Isolat tersebut diberi kode PmbZn1, PmbZn2, PmbZn3, PmbZn4, PmbZn5, PmbZn6, PmbZn7, PmbZn8, dan PmbZn9. Isolat PmbZn5 merupakan isolat khamir yang paling resisten (Tabel 1). Pertumbuhan isolat bakteri dan khamir pada medium yang mengandung 2 mM  $ZnSO_4$  dapat tumbuh dengan baik (Gambar 2; Gambar 3).

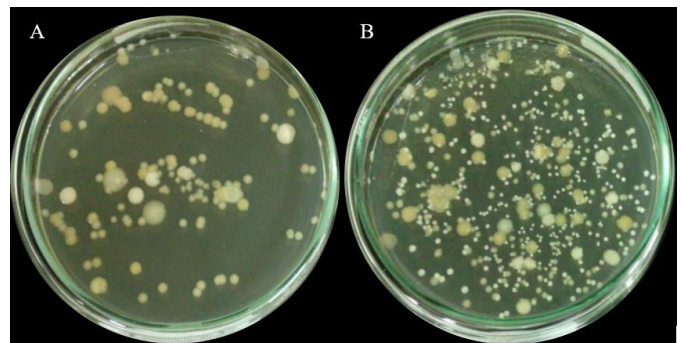
Hasil pewarnaan Gram pada masing-masing isolat menunjukkan morfologi sel yang berbeda-beda. Tabel 2 menunjukkan perbedaan bentuk sel, jenis sel dan tipe Gram setiap isolat. Berdasarkan pengamatan mikroskopis diketahui bahwa isolat PmbZn1, PmbZn2, dan PmbZn7 adalah khamir sedangkan tujuh isolat lainnya adalah bakteri. Bakteri Gram negatif lebih banyak yaitu enam isolat dibanding Gram positif, yaitu hanya satu isolat. Hasil penelitian ini serupa dengan hasil penelitian Irawati *et al.* (2019) yang melakukan isolasi bakteri resisten tembaga dari sungai Cikapundung. Hasil isolasi tersebut diperoleh lima bakteri Gram negatif yang paling resisten. Bakteri Gram negatif lebih resisten dibanding Gram positif karena memiliki membran yang mengandung gugus karboksil yang dapat berperan sebagai pengikat logam berat. Keramati *et al.* (2011) mengatakan bahwa bakteri Gram positif jarang yang memiliki resistensi terhadap logam berat. Hasil penelitian Keramati *et al.* (2011)

menunjukkan bahwa hanya 20% bakteri hasil isolasi yang resisten terhadap tembaga.

Isolat bakteri PmbZn5 merupakan isolat yang paling resisten dengan nilai MIC= 9 mM  $ZnSO_4$  sehingga menjadi isolat terpilih untuk penelitian selanjutnya. Plone & Phyton (2013) mengatakan bahwa kemampuan resistensi mikroorganismen terhadap logam berat dapat diuji dengan menentukan nilai MIC. Prinsip uji MIC ini ialah untuk menentukan konsentrasi minimum dari logam berat yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganismen. Uji MIC logam berat untuk setiap mikroorganismen bertujuan untuk dapat menentukan strain yang paling resisten yang dapat dimanfaatkan sebagai agen bioremediasi (Ezzouhri *et al.*, 2009).

### Kurva pertumbuhan isolat

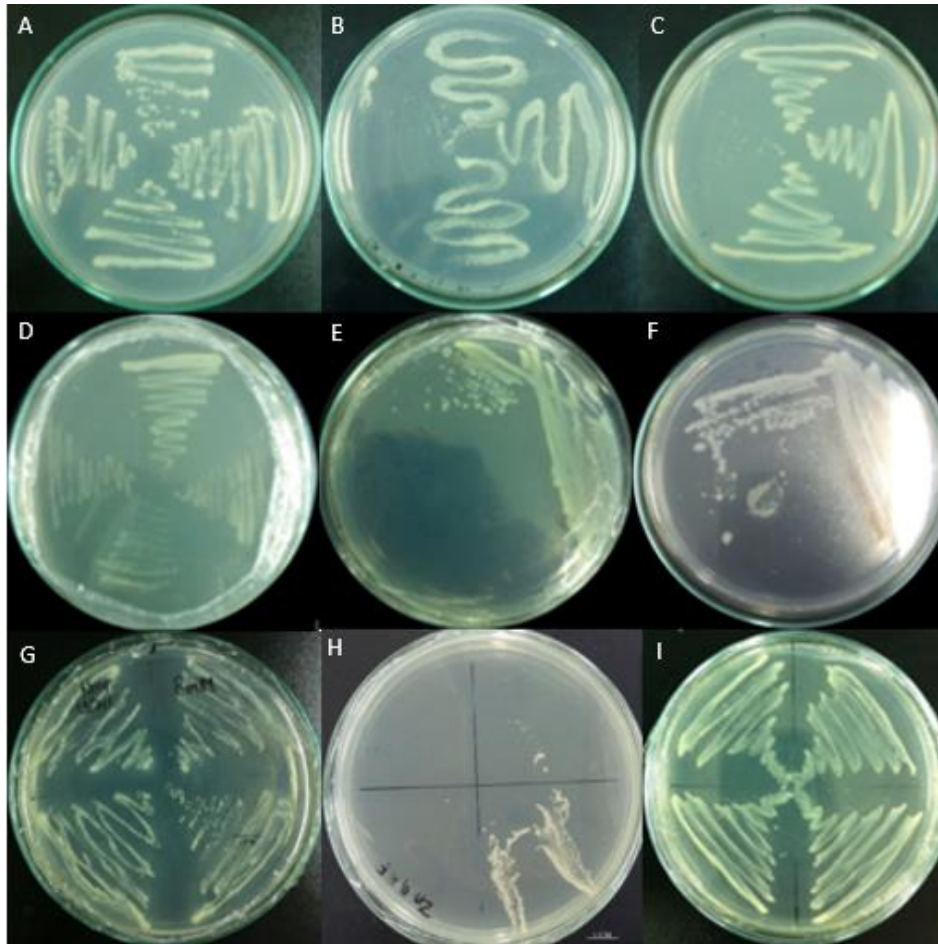
Pertumbuhan isolat bakteri terpilih PmbZn5 pada medium yang mengandung 4 mM dan 7 mM  $ZnSO_4$  dan tanpa  $ZnSO_4$  menunjukkan adanya perbedaan kurva pertumbuhan isolat bakteri pada medium dengan penambahan  $ZnSO_4$  dan tanpa  $ZnSO_4$  (Gambar 4). Pertumbuhan isolat bakteri PmbZn5 pada medium tanpa seng mengalami pertumbuhan eksponensial tanpa mengalami fase lag. Penambahan 4 mM  $ZnSO_4$  mengakibatkan isolat bakteri PmbZn5 mengalami fase lag selama 21 jam kemudian setelah itu memasuki fase eksponensial walaupun sangat lambat. Pada konsentrasi yang lebih tinggi, yaitu 7 mM  $ZnSO_4$ ,



Gambar 1. Komunitas bakteri resisten seng pada medium yang mengandung 0,5 mM  $ZnSO_4$ . Ket.: A= pengenceran  $10^{-5}$ , dan B= pengenceran  $10^{-4}$ .

Tabel 1. Karakterisasi morfologi koloni mikroorganisme resisten seng.

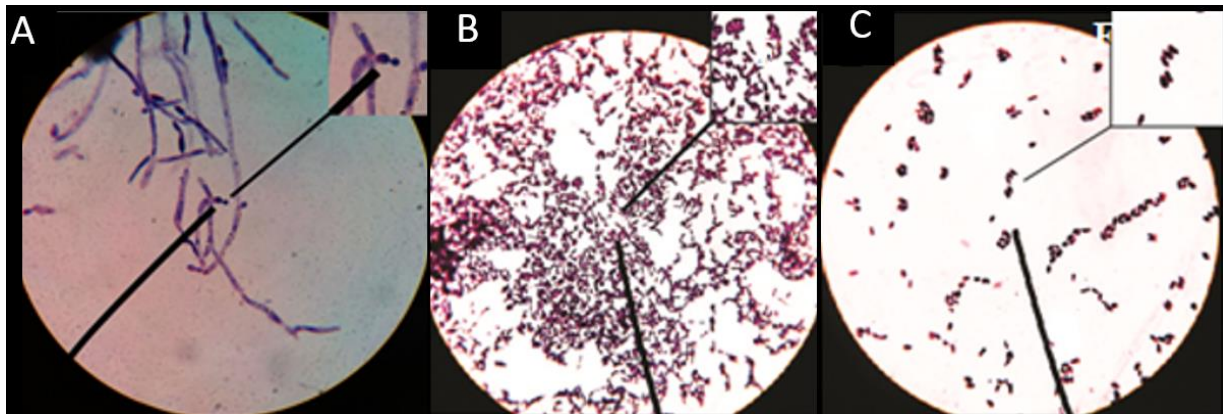
Nama isolat	Karakteristik Morfologi					
	Shape	Margin	Elevation	Size	Pigmentation	Optical Property
PmbZn1	Circular	Entire	Flat	Moderate	Cream	Opaque
PmbZn2	Circular	Entire	Flat	Moderate	Cream	Opaque
PmbZn3	Circular	Entire	Flat	Moderate	Cream	Opaque
PmbZn4	Irregular	Entire	Convex	Small	Yellow	Translucent
PmbZn5	Circular	Entire	Raised	Small	Yellow	Translucent
PmbZn6	Circular	Entire	Flat	Punctiform	Yellow	Translucent
PmbZn7	Circular	Entire	Raised	Small	White	Opaque
PmbZn8	Circular	Entire	Flat	Punctiform	White	Opaque
PmbZn9	Circular	Entire	Raised	Small	White	Opaque



Gambar 2. Pertumbuhan khamir dan bakteri resisten seng pada medium yang mengandung 2 mM  $ZnSO_4$ .  
Ket.: A. PmbZn1, B. PmbZn2, C. PmbZn3, D. PmbZn4, E. PmbZn5, F. PmbZn6, G. PmbZn7, H. PmbZn8, dan I. PmbZn9.

isolat bakteri tidak mengalami pertumbuhan hingga 50 jam masa inkubasi. Data pertumbuhan pada medium 7 mM hanya ditampilkan sampai 30

jam inkubasi. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan 4 mM  $ZnSO_4$  menghambat pertumbuhan bakteri sedangkan pada konsentrasi



Gambar 3. Morfologi sel isolat khamir dan bakteri. Ket.: Morfologi sel pada masing-masing isolat diamati dengan menggunakan mikroskop perbesaran 1000x. A. Isolat khamir PmbZn1; B. Isolat bakteri PmbZn4; C. Isolat bakteri PmbZn5.

yang lebih tinggi yaitu 7 mM bersifat toksik sehingga mengakibatkan kematian.

Ge *et al.* (2009) mengatakan bahwa seng pada konsentrasi yang rendah dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri tetapi pada konsentrasi yang tinggi menghambat pertumbuhan. Seng dapat menghambat pertumbuhan bakteri bahkan mengakibatkan kematian. Seng merupakan unsur mikro yang dibutuhkan bakteri dalam konsentrasi yang rendah namun bersifat toksik pada konsentrasi yang melebihi ambang batas yang dibutuhkan. Besarnya penghambatan terjadi seiring dengan besarnya konsentrasi seng pada medium. Menurut Nies (1999), logam berat di dalam sel terikat pada gugus sulfhidril sehingga menghambat aktivitas enzim. Logam berat juga berinteraksi dengan ion fisiologis yang lain sehingga menghambat fungsi kation tersebut karena telah berikatan dengan logam berat.

### Potensi biosorpsi isolat terhadap seng

Gambar 5 menunjukkan bahwa isolat bakteri PmbZn5 dapat melakukan biosorpsi seng sebesar 94,79% pada medium yang mengandung 4 mM  $ZnSO_4$ . Kemampuan biosorpsi isolat bakteri PmbZn5 turun menjadi 93,57% pada medium dengan konsentrasi  $ZnSO_4$  yang lebih tinggi, yaitu 7 mM  $ZnSO_4$ . Kemampuan biosorben seng pada isolat PmbZn5 lebih besar empat kali lipat dibanding *Acinetobacter* sp. IrC2 bakteri indigen

yang diisolasi dari limbah industri di Surabaya. *Acinetobacter* sp. IrC2 dapat melakukan biosorpsi seng sebesar 24,73%. Kemampuan biosorpsi isolat bakteri PmbZn5 juga lebih tinggi dibanding isolat bakteri PbSI1 yang diisolasi dari Sungai Kemisan Indonesia. Isolat tersebut dapat melakukan biosorpsi seng hingga 87,69% (Irawati *et al.*, 2017).

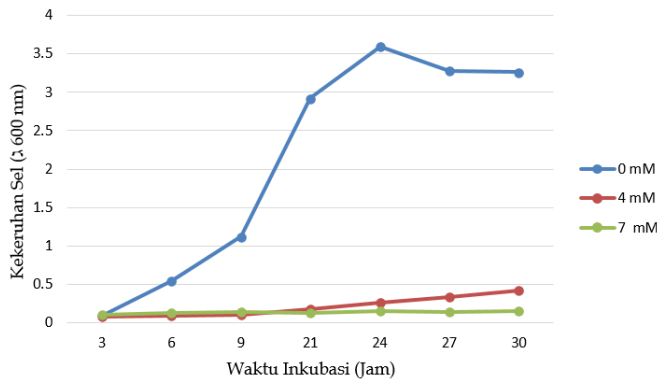
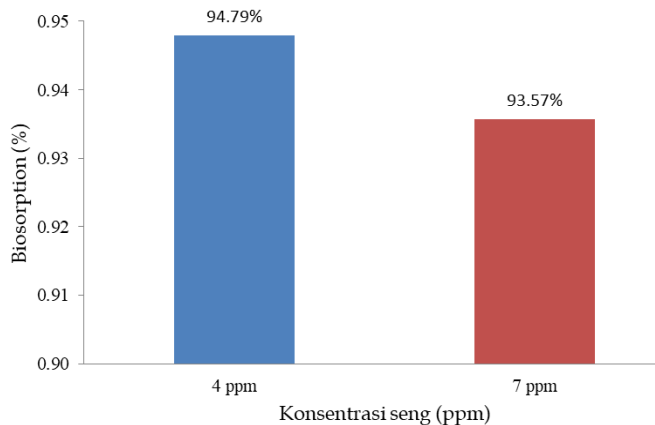
Isolat bakteri PmbZn5 dapat melakukan biosorpsi seng sebagai bentuk mekanisme pertahanan diri dari toksisitas seng. Kemampuan mekanisme biosorpsi ini menurun pada konsentrasi  $ZnSO_4$  yang lebih tinggi karena pada konsentrasi 7 mM lebih toksik dibanding 4 mM sehingga kemampuan biosorpsinya menurun. Menurut Ahemad & Malik (2012), bakteri melakukan mekanisme agar dapat bertahan hidup dalam menanggapi toksisitas logam berat. Bakteri melakukan interaksi dengan logam berat dengan cara bioakumulasi dan biosorpsi. Velkova *et al.* (2012) mengatakan bahwa gugus karboksil pada membran bakteri memiliki peranan dalam penyisihan logam berat dari lingkungan karena bermuatan negatif sehingga terlibat aktif dalam proses biosorpsi logam berat.

## KESIMPULAN

Hasil isolasi dan karakterisasi mikroorganismen diperoleh enam bakteri dan tiga khamir

Tabel 2. Karakteristik morfologi sel isolat mikroorganisme resisten seng.

Nama isolat	Pewarnaan Gram		
	Jenis sel	Bentuk sel	Tipe Gram
PmbZn1	Khamir	-	-
PmbZn2	Khamir	-	-
PmbZn3	Bakteri	Batang	Negatif
PmbZn4	Bakteri	Batang	Negatif
PmbZn5	Bakteri	Batang	Negatif
PmbZn6	Bakteri	Batang	Negatif
PmbZn7	Khamir	-	-
PmbZn8	Bakteri	Kokus	Positif
PmbZn9	Bakteri	Kokus	Negatif

Gambar 4. Kurva pertumbuhan isolat PmbZn5 pada medium tanpa dan dengan ZnSO<sub>4</sub>.Gambar 5. Potensi biosorpsi seng isolat bakteri PmbZn5 pada medium yang mengandung 4 mM dan 7 mM ZnSO<sub>4</sub>.

resisten seng yang dapat tumbuh hingga 8 mM ZnSO<sub>4</sub>. Isolat tersebut diberi kode PmbZn1,

PmbZn2, PmbZn3, PmbZn4, PmbZn5, PmbZn6, PmbZn7, PmbZn8, dan PmbZn9. Isolat PmbZn5 merupakan isolat yang paling resisten dan dapat berperan sebagai biosorben seng pada medium yang mengandung 4 mM dan 7 mM, masing-masing sebesar 94,79 dan 93,57%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahemad, M., and A. Malik. 2012. Bioaccumulation of heavy metals by zinc resistance bacteria isolated from agricultural soils irrigated with wastewater. *Bacteriology Journal*. 2: 12-21.
- Ahirwar, N.K., G. Gupta, R. Singh, and V. Singh. 2016. Isolation, identification and characterization of heavy metal resistant bacteria from industrial affected soil in Central India. *Int. J. Pure App. Biosci.* 4(6): 88-93.
- Andreazza, R., S. Pieniz, L. Wolf, M. Lee, F.A.O. Camargo, and B.C. Okeke. 2010. Characterization of copper bioreduction and biosorption by a highly copper resistant bacterium isolated from copper contaminated vineyard soil. *Sci Total Environ.* 408: 1501-1507.
- Ezzouhri, L., E. Castro, M. Moya, F. Espinola, and K. Lairini. 2009. Heavy metal tolerance of filamentous fungi isolated from polluted sites in Tangier, Morocco. *African Journal of Microbiology Research*. 3: 035-048.
- Ge, H.W., M.F. Lian, F.Z. Wen, Y.F. Yun, F.Y. Jian, and T. Ming. 2009. Isolation and characterization of the heavy metal resistant bacteria CCNWS33-2 isolated from root nodule of *Lespedeza cuneata* in gold mine tailings in China. *J. Hazard Mater.* 162: 50-56.
- Harnani, B.R., and H.S. Titah. 2017. Kemampuan *Avicennia alba* untuk menurunkan konsentrasi tembaga (Cu) di muara sungai Wonorejo, Surabaya. *Jurnal Teknik ITS.* 6(2): 218-222.
- Hlihor, R.M., and M. Gavrilescu. 2009. Biosorption of heavy metals from the environment using Yeasts as biosorbents. *Buletinul Institutului Politehnic Din Iasi.* 21-37.
- Irawati, W., S. Riak, N. Sopiiah, 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.
- Irawati, W., N.P. Ompusunggu, D.N. Susilowati, and T. Yuwono. 2019. Molecular and physiological characterization of indigenous copperresistant bacteria from Cikapundung River, West Java, Indonesia. *Biodiversitas.* 20(2): 344-349.
- Keramati, P., M. Hoodaji, and A. Tahmourespour. 2011. Multi-metal resistance study of bacteria highly resistant to mercury isolated from dental clinic effluent. *Afr J Microbiol Res.* 5(7): 831-837.
- Muhajir, A. 2009. "Studi kandungan logam berat kadmium (Cd) ada Kerang Darah (*Anadara granosa*) dari beberapa pasar kota Malang". *Skripsi.* UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Nies, D.H. 1999. Microbial heavy-metal resistance. *Appl. Microbiol. Biot.* 51: 730-750.
- Plum, L., R. Rink, and H. Haase. 2010. The essential toxin: Impact of zinc on human. *International Journal of Environmental Research and Public Health.* 7: 1342-1365.
- Plone, and Phyton. 2013. Determination of minimal inhibitory Concentration (MICs). Retrieved from COLOSS: <http://www.coloss.org/beebook/II/afb/3/6/1> (5 Mei 2013).
- Sari, S.H., J.F. Kirana, and Guntur. 2017. Analisis kandungan logam berat Hg dan Cu terlarut di perairan pesisir Wonorejo, Pantai Timur Surabaya. *Jurnal Pendidikan Geografi.* 22(1): 1-9.
- Velkova, Z., M. Stoytcheva, and V. Gochev. 2012. Biosorption of Cu (II) onto chemically modified waste mycelium of *Aspergillus awamori*: Equilibrium, kinetics and modeling studies. *J Biosci Biotechnol* 1(2): 163-169.