

RESISTENSI DAN POTENSI BAKTERI INDIGENOUS DARI TANAH SEKITAR INDUSTRI DAUR ULANG BATERAI AKI TERHADAP PENURUNAN KADAR TIMBAL (Pb)

Yulmaniati¹, Rasyidah², Rizki Amelia Nasution³

Universitas Islam Negeri Sumatera Utara Medan^{1,2,3}

Yulmaniati321@gmail.com¹, Rasyidah@uinsu.ac.id², rizkiamelianst@uinsu.ac.id³

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui resistensi dan potensi bakteri indigenous dari tanah sekitar industri daur ulang baterai aki dalam menurunkan kadar timbal (Pb). Metode yang digunakan meliputi isolasi bakteri menggunakan media NA+Pb (NO₃)₂ 100 ppm, dilanjutkan dengan uji karakterisasi, uji resistensi, dan uji potensi penurunan kadar timbal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 12 isolat bakteri mampu tumbuh pada media seleksi. Berdasarkan uji pewarnaan Gram dan uji biokimia, delapan isolat teridentifikasi sebagai genus *Bacillus*, sedangkan empat lainnya termasuk genus *Pseudomonas*. Hasil uji resistensi menunjukkan bahwa enam isolat bakteri memiliki ketahanan terhadap timbal dan berpotensi menurunkan kadar logam berat tersebut. Pengujian lebih lanjut menunjukkan bahwa enam isolat tersebut mampu menurunkan kadar timbal dengan persentase mencapai 99,99%.

Kata kunci: Baterai Aki, Bakteri Indigenous, Bioremediasi, Timbal

ABSTRACT

*This study aims to determine the resistance and potential of indigenous bacteria from soil around battery recycling industries in reducing lead (Pb) levels. The method used includes bacterial isolation using NA+Pb(NO₃)₂ 100 ppm medium, followed by characterization tests, resistance tests, and lead reduction potential tests. The results showed that 12 bacterial isolates were able to grow on the selection medium. Based on Gram staining and biochemical tests, eight isolates were identified as *Bacillus* genus, while the other four belonged to the *Pseudomonas* genus. Resistance tests revealed that six bacterial isolates exhibited lead resistance and potential for heavy metal reduction. Further testing showed that these six isolates could reduce lead levels by up to 99.99%.*

Keywords: Bioremediation, Battery, Lead, Indigenous Bacteria

PENDAHULUAN

Menurut Badan Pusat Statistik (BPS), jumlah kendaraan bermotor di Indonesia mencapai 136.137.451 unit pada tahun 2020. Jumlah kendaraan bermotor di Indonesia terus mengalami kenaikan setiap tahunnya pada setiap jenis, terutama pada mobil penumpang dan sepeda motor. Kenaikan jumlah kendaraan bermotor

juga berdampak terhadap kenaikan pemakaian baterai kendaraan bermotor atau aki. Jumlah aki bekas pada lima tahun terakhir mencapai 129 juta buah dan, jika dikonversikan, mengalami kenaikan dengan rata-rata 575.198 ton setiap tahun (Sunar, 2022).

Jumlah kendaraan bermotor di Sumatera Utara pada tahun 2020 adalah 552.046 unit, sehingga diperkirakan setiap tahunnya akan ada aki bekas dengan jumlah yang sama. Aki bekas termasuk dalam golongan limbah bahan berbahaya dan beracun (B3) dikarenakan memiliki kandungan logam berat yang meliputi timbal, kadmium, merkuri, nikel, dan asam sulfat (Budi, 2012). Kandungan baterai aki yang bersifat toksik akan memiliki dampak yang buruk jika tidak dikelola dengan benar terhadap lingkungan dan makhluk hidup. Namun, Komite Penghapusan Bensin Bertimbal (KPBB) menyatakan bahwa setiap tahunnya aki bekas lebih banyak dikelola secara ilegal (Sunar, 2022).

Industri pengelolaan aki bekas yang dilakukan secara ilegal ditujukan untuk mengambil logam timbal (Pb) dan kotak plastik untuk dimanfaatkan kembali. Proses daur ulang baterai aki yang mengandung B3 seharusnya dilakukan dengan menggunakan teknologi yang tepat sehingga tidak menimbulkan dampak buruk terhadap lingkungan. Proses daur ulang baterai aki dapat menimbulkan asap dan debu yang mengandung logam berat timbal (Pb) yang dapat mencemari tanah sekitar industri (Wiharja, 2004). Kandungan timbal di dalam tanah yang tidak terkendali dapat membuka peluang terakumulasinya timbal tersebut dalam lingkungan. Logam berat di dalam tanah dapat terserap oleh tanaman ke dalam jaringan melalui akar, yang selanjutnya akan masuk ke siklus makanan (Adhani & Husaini, 2017).

Tanah yang tercemar oleh logam berat akibat limbah industri dapat diatasi dengan melakukan bioremediasi. Bioremediasi adalah proses memanfaatkan mikroba untuk menguraikan bahan pencemar pada tanah sehingga bisa pulih seperti semula dan tidak membahayakan makhluk hidup di lingkungannya (Wignyanto, 2020).

Di Desa Bandar Khalipah, Kabupaten Deli Serdang, terdapat industri daur ulang baterai aki yang sudah beroperasi lebih dari 15 tahun. Jika hal ini terus berlanjut, tentu akan berdampak terhadap lingkungan dan masyarakat sekitar. Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti tertarik untuk meneliti bagaimana resistensi dan potensi penurunan kadar timbal oleh bakteri indigenous pada tanah sekitar industri daur ulang tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana resistensi bakteri indigenous dari tanah sekitar industri daur ulang baterai aki terhadap timbal serta genusnya dan mengetahui kemampuan bakteri dalam menurunkan timbal.

METODE PENELITIAN

Sterilisasi alat dan bahan

Sebelum melakukan penelitian, seluruh alat dan bahan yang akan digunakan dalam keadaan steril. Alat dan bahan yang digunakan disterilisasi terlebih dahulu menggunakan alat sterilisasi. Alat yang berbahan dasar kaca akan dibungkus terlebih dahulu menggunakan kertas. Bahan atau media yang akan digunakan ditutup menggunakan kapas atau aluminium foil lalu dibungkus lagi menggunakan kapas. Setelah itu bahan atau alat tersebut dimasukkan kedalam autoklaf untuk disteriliasi selama 15 menit dengan suhu 121°C.

Isolasi bakteri

Pengambilan sampel dilakukan dengan mengambil tanah dari tiga titik di sekitar industri daur ulang baterai aki kemudian dihomogenkan. Isolasi bakteri diawali dengan melakukan pengenceran bertingkat pada sampel tanah. Pengenceran dilakukan secara bertingkat dari 10^{-1} sampai 10^{-6} dengan mengocok hasil setiap tahap pengenceran dengan menggunakan vortex. Kultur hasil tingkat pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} kemudian diambil sebanyak 0,1 ml dengan menggunakan mikropipet untuk diisolasikan pada media NA yang sudah disiapkan dalam cawan petri. Inkubasi cawan petri pada posisi terbalik dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 2x24 jam. Koloni yang telah tumbuh kemudian diinokulasikan pada media selektif NA+ Pb (NO₃)₂ 100 ppm untuk menyeleksi dan pemurnian isolat yang resisten terhadap timbal. Isolat yang dapat tumbuh pada media selektif akan dilanjutkan pada uji resistensi.

Karakterisasi bakteri

Pengamatan makroskopik

Hasil dari inokulasi pada media NA akan diamati karakteristik koloninya, berdasarkan bentuk koloni, permukaan koloni, tepian koloni dan warna koloni.

Pewarnaan Gram

Warna gram dan bentuk sel bakteri dapat diketahui dengan melakukan pewarnaan gram. Satu ose isolat bakteri diambil dengan menggunakan jarum ose lalu dihomogenkan dengan aquades diatas kaca objek. Selanjutnya difiksasi dengan cara melewatkan kaca objek diatas api bunsen sampai kering. Kemudian ditetaskan larutan crystal violet di atas kaca preparat yang sudah difiksasi dan didiamkan sampai satu menit lalu bilas dengan aquades dan preparat dikeringanginkan. Setelah itu ditetaskan larutan lugol dan didiamkan selama satu menit kemudian dibilas dengan aquades kemudian dikeringanginkan. Berikutnya adalah proses dekolorisasi dengan cara meneteskan larutan alkohol 96% setetes demi setetes sampai alkohol terlihat jernih lalu bilas dengan aquades dan dikeringanginkan. Tahapan terakhir, tetaskan pewarna safranin di atas preparat dan tunggu sampai satu menit kemudian bilas dengan aquades dan dikeringanginkan. Preparat yang selanjutnya diamati

dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x, namun teteskan minyak imersi terlebih dahulu (Suryatini & Rai, 2018).

Uji biokimia

Uji katalase

Uji ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim katalase. Isolat bakteri yang telah tumbuh, diosekan pada kaca objek steril di dalam laminar air flow, lalu ditetaskan dengan larutan H₂O₂ 3% sebanyak 2-3 tetes.

Uji Triple Sugar Iron Agar (TSIA)

Isolat bakteri diambil menggunakan ose lalu ditusukkan pada media TSIA sampai sepertiga dasar tabung lalu diangkat dan digores secara zig-zag pada permukaan media. Kemudian media diinkubasi selama 2×24 jam pada suhu 37°C lalu diamati perubahannya.

Uji SIM

Inokulasikan isolat bakteri dengan cara mengambil isolat murni menggunakan ose lalu ditusukkan pada media SIM. Kemudian media diinkubasi selama 2×24 jam pada suhu 37°C dan amati pertumbuhan bakterinya. Untuk uji indol, isolat ditambahkan senyawa kovacs.

Uji SCA

Isolat bakteri diinokulasikan dengan metode goresan zig-zag pada bagian miring dan ditusukkan sampai bagian dasar media miring SCA. Selanjutnya media akan diinkubasi dengan suhu 28°C selama 18-24 jam. Lalu diamati perubahan warna pada media.

Uji Resistensi Bakteri terhadap timbal (Pb)

Setelah didapatkan isolat murni pada tahap sebelumnya, selanjutnya akan dilakukan uji resistensi isolat dengan menggunakan media NB yang diperkaya dengan Pb(NO₃)₂. Konsentrasi Pb(NO₃)₂ yang digunakan adalah 100 ppm dengan pengulangan dua kali. Kultur selanjutnya akan diinkubasi selama 24 jam dengan kecepatan 220 rpm dengan menggunakan incubator shaker, untuk mengetahui ketahanan bakteri terhadap timbal. Selanjutnya akan dilakukan uji Optical Density (OD) pada setiap perlakuan untuk melihat kepadatan bakteri menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm.

Uji Potensi Bakteri terhadap Penurunan Kadar Timbal (Pb)

Uji potensi bakteri dilakukan dengan menggunakan media NB yang diperkaya timbal dengan konsentrasi 100 ppm menggunakan cemaran timbal Pb(NO₃)₂ dengan pengulangan sebanyak dua kali. Bakteri diosekan sebanyak satu ose pada media yang sudah disiapkan. Kemudian diinkubasi dalam *incubator shaker* selama 24 jam pada suhu 37°C. Media yang telah diinkubasi selanjutnya akan disentrifugasi menggunakan centrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan koloni bakteri dengan media yang mengandung timbal nitrat. Cairan ini selanjutnya akan diukur konsentrasi timbalnya dengan

menggunakan Spektrofotometri Serapan Atom (SSA). Konsentrasi timbal (Pb) yang terdapat pada cairan supernatan adalah kandungan dari $Pb(NO_3)_2$ yang tidak mampu diturunkan oleh isolat bakteri. Sehingga akan ada perbedaan antara konsentrasi awal dari timbal (Pb) dengan konsentrasi akhir yang telah mengalami penurunan. Jumlah penurunan kandungan timbal (Pb) dapat dihitung dengan rumus pada persamaan berikut:

$$R = K_o - K_a \left(\frac{mg}{l}\right) \quad (1)$$

$$E = \frac{R}{K_a} \times 100\% \quad (2)$$

Keterangan:

R = konsentrasi logam timbal (Pb) yang turun

Ko = konsentrasi awal

Ka = konsentrasi akhir

E = efisiensi isolat bakteri terhadap penurunan kadar timbal.

Analisis Penelitian

Analisis data yang didapatkan di laboratorium akan disajikan secara deskriptif kualitatif dengan melampirkan gambar isolat bakteri yang didapat dan dalam bentuk tabel pada hasil uji makroskopis, uji pewarnaan dan uji biokimia. Data juga akan disajikan dalam bentuk tabel pengamatan pada hasil uji resistensi. Analisis data potensi penurunan kadar timbal akan dihitung dengan menggunakan rumus sehingga bisa diketahui kadar penurunan timbal serta efisiensi penurunan timbal isolat bakteri.

HASIL PENELITIAN

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri

Hasil isolasi didapatkan 4 isolat berbeda pada setiap pengenceran sehingga seluruhnya ada 12 isolat bakteri yang didapatkan. Selanjutnya bakteri diseleksi dan dimurnikan dengan menggunakan media NA (Nutrient Agar) yang ditambah dengan $Pb(NO_3)_2$ sebanyak 100 ppm. Pada tahapan ini 12 isolat bakteri tersebut dapat tumbuh, hal ini menunjukkan 12 isolat bakteri tersebut dapat bertahan dan tumbuh pada media yang diberi tambahan $Pb(NO_3)_2$. Bakteri yang tumbuh pada media diamati karakteristik morfologinya secara makroskopisnya meliputi bentuk, ukuran, margin (tepi), elevasi dan warna koloni. Hasil pengamatan makroskopik disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Pengamatan Makroskopik Koloni Bakteri

No	Kode Isolat	Bentuk Makroskopik Koloni			
		Bentuk	Margin	Elevasi	Warna
1	BTP 01	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	<i>White</i>
2	BTP 02	<i>Iregular</i>	<i>Curled</i>	<i>Convex</i>	<i>Cream</i>
3	BTP 03	<i>Iregular</i>	<i>Curled</i>	<i>Convex</i>	<i>Cream</i>

4	BTP 04	<i>Rhizoid</i>	<i>Rhizoid</i>	<i>Convex</i>	<i>White</i>
5	BTP 05	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	<i>Cream</i>
6	BTP 06	<i>Iregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	<i>White</i>
7	BTP 07	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	<i>White</i>
8	BTP 08	<i>Iregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	<i>Cream</i>
9	BTP 09	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	<i>Cream</i>
10	BTP 10	<i>Rhizoid</i>	<i>Rhizoid</i>	<i>Flat</i>	<i>White</i>
11	BTP 11	<i>Iregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	<i>Cream</i>
12	BTP 12	<i>Iregular</i>	<i>Curled</i>	<i>Convex</i>	<i>Cream</i>

Karakterisasi

Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan untuk mengetahui bentuk dan warna gram bakteri. Dengan pewarnaan gram dapat diketahui bakteri memiliki sifat gram negatif atau positif. Dapat diketahui pula bentuk bakteri basil (batang), bulat atau spiral. Bentuk basil ada tiga jenis yaitu monobasil, streptobasil dan diplobasil. Bentuk bulat dibagi menjadi enam jenis yaitu monokokus, diplokokus, stapilokokus, streptokokus, sarkina dan tetrakokus. Sedangkan bentuk spiral ada tiga jenis, yaitu spiral, vibrio dan spiroseta (Rini & Rohmah, 2020). Hasil pengamatan pewarnaan gram terhadap 12 isolat bakteri disajikan dalam tabel 2

Tabel 2. Hasil Uji Pewarnaan Gram

No	Kode Isolat	Bentuk Mikroskopik	
		Sifat Gram	Bentuk
1	BTP 01	+	<i>Streptobasil</i>
2	BTP 02	-	<i>Streptobasil</i>
3	BTP 03	-	<i>Streptobasil</i>
4	BTP 04	-	<i>Streptobasil</i>
5	BTP 05	+	<i>Streptobasil</i>
6	BTP 06	-	<i>Monobasil</i>
7	BTP 07	+	<i>Monobasil</i>
8	BTP 08	+	<i>Monobasil</i>
9	BTP 09	+	<i>Monobasil</i>
10	BTP 10	+	<i>Streptobasil</i>
11	BTP 11	+	<i>Streptobasil</i>
12	BTP 12	+	<i>Monobasil</i>

Uji Biokimia

Uji biokimia yang dilakukan antara lain adalah uji katalase, uji Triple Sugar Iron Agar (TSIA), uji Sulfid Indol Motil (SIM) dan uji Simon Citrate Agar (SCA). Uji ini dilakukan untuk mengetahui bagaimana sifat fisiologi dari isolat bakteri. Sifat fisiologi memiliki hubungan dengan proses metabolisme di dalam sel. Hasil uji biokimia pada 12 isolat bakteri disajikan dalam tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Biokimia pada Media NA+ Pb(NO₃)₂ 100 ppm

No	Kode Isolat	TSIA			SIM		SCA	Katalase
		Ferm	Gas	H ₂ S	Indol	Motil		
1	BTP 01	K/A	+	-	-	+	+	+
2	BTP 02	K/A	-	-	-	+	-	+
3	BTP 03	K/A	-	-	-	+	-	+
4	BTP 04	K/A	-	-	-	+	+	+
5	BTP 05	K/A	+	-	-	+	-	+
6	BTP 06	K/A	-	+	-	+	+	+
7	BTP 07	K/A	-	-	-	+	+	+
8	BTP 08	K/A	-	-	-	+	-	+
9	BTP 09	K/A	-	-	-	+	-	-
10	BTP 10	K/A	+	-	-	+	+	+
11	BTP 11	K/A	-	-	-	+	-	+
12	BTP 12	K/A	-	-	-	+	-	+

Keterangan:

(+) : Hasil uji positif

(-) : Hasil uji negatif

K/A : butt-kuning/ slant-merah

Hasil Uji Resistensi Bakteri Terhadap Timbal (Pb)

Uji resistensi dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri pada media NB yang diperkaya dengan Pb(NO₃)₂ 100 ppm dengan ulangan dua kali. Media selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dan akan dilakukan uji OD (Optical Density) untuk mengetahui kepadatan bakteri dengan menggunakan alat spektrofotometer. Hasil nilai OD ditunjukkan pada tabel 4.

Tabel 4. Nilai Optical Density (OD) pada media NB+ Pb(NO₃)₂ 100 ppm

No	Kode Isolat	Nilai OD (λ 600nm)		Rata-Rata
		Ulangan 1	Ulangan 2	
1	BTP 01	1.257	1.259	1.258
2	BTP 02	0.825	0.831	0.828
3	BTP 03	0.925	0.910	0.918
4	BTP 04	1.176	1.172	1.174
5	BTP 05	1.027	1.025	1.026
6	BTP 06	0.832	0.836	0.834
7	BTP 07	1.176	1.168	1.172
8	BTP 08	0.848	0.852	0.850
9	BTP 09	1.186	1.089	1.138
10	BTP 10	1.528	1.526	1.527
11	BTP 11	0.811	0.891	0.851
12	BTP 12	2.078	2.075	2.077
rata-rata				1.138

PEMBAHASAN

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri

Tabel 1 menunjukkan terdapat 3 bentuk berbeda pada isolat bakteri, yaitu bentuk circular (bulat), irregular (tidak beraturan) dan rhizoid (berakar). Pada margin atau tepian koloni bakteri, terdapat 4 jenis tepian yang berbeda yaitu entire (tepi rata), curled (bergerigi), rhizoid (tepi seperti akar) dan undulate (tepi bergelombang). Pada elevasi (ketinggian pertumbuhan koloni bakteri) hampir semua isolat bakteri memiliki elevasi (bentuknya cembung seperti tetesan air) dan flat (datar/ketinggian koloni bakteri hampir sama dengan media). Pada warna koloni bakteri terdapat dua warna yang berbeda yaitu putih dan cream (putih kekuningan).

Karakterisasi

Pewarnaan Gram

Berdasarkan tabel 2, dari 12 isolat terdapat 8 isolat yang merupakan kelompok gram positif dan 4 isolat kelompok gram negatif. Bakteri gram negatif ditandai dengan warna sel merah sedangkan bakteri gram positif ditandai dengan warna sel ungu. Berdasarkan bentuk, seluruh isolat memiliki bentuk sel basil atau silinder atau menyerupai batang. Perbedaan warna gram pada bakteri dipengaruhi oleh komponen penyusun dinding sel pada bakteri gram negatif dan positif. Bakteri gram positif mampu mempertahankan cat kristal violet karena kandungan peptidoglikan yang tebal. Bakteri gram negatif tidak mampu mempertahankan warna cat kristal violet karena terdapat lapisan lipoprotein pada dinding selnya, sehingga akan larut saat dicuci dengan etanol (Wulandari & Purwaningsih, 2019).

Berdasarkan bentuk, seluruh isolat memiliki bentuk sel basil atau silinder atau menyerupai batang. Terdapat dua jenis bentuk basil yang ditemukan yaitu streptobasil yaitu bakteri berbentuk batang yang tersusun seperti rantai dan monobasil yaitu bakteri berbentuk batang tunggal.

Uji Biokimia

Uji TSIA dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri dengan melihat reaksi bakteri memfermentasikan gula yang akan ditandai dengan perubahan warna media menjadi kuning serta melihat adanya gas pada media. Hasil uji menggunakan media TSIA menunjukkan pada semua isolat perubahan warna media menjadi kuning pada bagian butt (bawah) dan tetap merah pada bagian atas (K/A) yang berarti bakteri hanya mampu memfermentasikan glukosa karena warna media hanya berubah pada bagian atas. Warna merah pada media TSIA menunjukkan reaksi basa, sedangkan warna kuning menunjukkan reaksi asam (Kosasi et al., 2019). Hasil uji TSIA menunjukkan terdapat tiga isolat yang menghasilkan gas yaitu BTP 01, BTP 05 dan BTP 10. Gas ditunjukkan dengan terangkatnya media keatas. Terangkatnya media keatas diakibatkan oleh hasil fermentasi bakteri yang menghasilkan asam format. Asam format akan teroksidasi menjadi gas hidrogen

dan karbondioksida dengan bantuan enzim format hydrogenase. Gas hidrogen yang tidak bisa larut dalam media mengakibatkan media menjadi terangkat. Media TSIA juga dapat menunjukkan pembentukan H_2S yaitu untuk melihat pembentukan apakah bakteri memfermentasikan mentionin dan sistein. Hasil uji positif ditunjukkan dengan adanya endapan hitam pada dasar media. Perubahan warna media disebabkan oleh kandungan media TSIA berupa sodium tiosulfat yang digunakan bakteri sebagai sumber sulfur sehingga menghasilkan H_2S . H_2S selanjutnya beraksi dengan Fe sitrat sehingga menghasilkan ferrous sulfida yang menyebabkan warna media menghitam (Aini, 2018).

Uji biokimia menggunakan media SIM dilakukan untuk melihat apakah bakteri menghasilkan senyawa indol dan melihat motilitas bakteri. Uji motilitas menunjukkan apakah bakteri memiliki alat gerak atau tidak. Dari hasil pengamatan menunjukkan semua isolat menunjukkan hasil positif. Hasil uji indol menunjukkan semua bakteri tidak dapat menghasilkan senyawa indol yang ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan warna menjadi merah setelah media ditambahkan dengan senyawa Kovacs.

Pada uji biokimia dengan menggunakan media SCA, terdapat lima isolat bakteri yang menunjukkan hasil positif yaitu BTP 01, BTP 04, BTP 06, BTP 07, dan BTP 10. Uji sitrat bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbonnya. Dalam media SCA terdapat indikator bromothymol blue. Bakteri yang menggunakan sitrat sebagai sumber karbonnya akan merubah suasana menjadi basa sehingga akan terjadi perubahan warna indikator bromothymol blue dari hijau menjadi biru (Wulandari & Purwaningsih, 2019).

Uji katalase adalah uji biokimia dengan menggunakan H_2O_2 3% untuk mengetahui apakah bakteri menghasilkan enzim katalase. Seluruh isolat bakteri menunjukkan hasil positif, kecuali pada kode isolat BTP 09 yang menunjukkan hasil negatif. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya gelembung pada kaca objek yang telah diosekan bakteri dan ditetesi larutan H_2O_2 3%. Gelembung yang terbentuk dikarenakan adanya enzim katalase yang mengkatalisis dalam penguraian hidrogen peroksida (H_2O_2) yang berbahaya menjadi oksigen dan air sehingga tidak berbahaya bagi organisme (Panjaitan et al., 2020).

Berdasarkan hasil uji pewarnaan gram dan uji biokimia didapatkan dua genus bakteri yaitu genus *Bacillus* dan *Pseudomonas*. Mayoritas genus dari isolat yang ditemukan adalah *Bacillus* sebanyak delapan isolat. Isolat yang tergolong genus *Bacillus* adalah bakteri dengan kode isolat BTP 01, BTP 05, BTP 07, BTP 08, BTP 09, BTP 10, BTP 11 dan BTP12. Bakteri *Bacillus* sp memiliki toleran yang sangat tinggi terhadap logam berat, karena bakteri ini umum ditemukan pada tanah yang tercemar oleh logam berat yang bersifat toksik. Bakteri jenis ini bisa digunakan sebagai agen bioremediasi karena memiliki toleransi maksimum pada plumbum (Pb) (Jamilah & Amri, 2019). kode isolat BTP 02, BTP 03, BTP 04 dan BTP 06 merupakan genus *Pseudomonas*. Dua genus bakteri tersebut merupakan

bakteri lokal yang memiliki kemampuan dalam menyerap logam berat kedalam sel-selnya sehingga logam berat tersebut tidak bisa menyerap kedalam tanah atau terbawa kedalam aliran air bawah tanah (Putji, et al, 2006).

Hasil Uji Resistensi Bakteri Terhadap Timbal (Pb)

Hasil uji resistensi pada table 4 dapat dilihat nilai OD tertinggi ada pada bakteri dengan kode isolat BTP 12 yaitu dengan nilai rata-rata 2.077, sedangkan nilai terendah pada bakteri dengan kode isolat BTP 02 yaitu dengan nilai rata-rata 0.828. Artinya bakteri dengan kode isolat BTP 12 memiliki kemampuan resistensi terbaik dibandingkan dengan isolat lainnya. Berdasarkan hasil nilai OD didapatkan nilai rata-rata dari keseluruhan isolat adalah 1.138, sehingga ada 6 isolat bakteri yang memiliki nilai lebih dari atau sama dengan nilai rata-rata.

Tingkat resistensi bakteri pada pengujian ini ditandai dengan tingginya nilai OD (absorbansi). Semakin rendah nilai OD menunjukkan bahwa semakin rendah pula pertumbuhan bakteri pada media, semakin tinggi nilai OD menunjukkan semakin tinggi pula tingkat resistensi bakteri (Fahrudin et al., 2019). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian (Seniati et al., 2019) yang menunjukkan bahwa ada hubungan korelasi antara jumlah koloni dengan nilai OD atau mempunyai pola linier. Hubungan kedua parameter tersebut menunjukkan setiap adanya peningkatan nilai OD atau nilai absorbansi akan diikuti oleh meningkatnya jumlah bakteri.

Hasil Uji Potensi Bakteri Terhadap Penurunan Kadar Timbal (Pb)

Isolat bakteri yang diuji penurunan kadar timbal adalah isolat dengan nilai resistensi lebih dari atau sama dengan nilai rata-rata. Berdasarkan pengukuran nilai OD terdapat enam isolat bakteri yang menunjukkan adanya potensi, yaitu BTP 01, BTP 04, BTP 07, BTP 09, BTP 10 dan BTP 12. Isolat dengan nilai OD yang tinggi akan memiliki potensi yang lebih baik dalam menurunkan kadar timbal. Tingginya nilai OD dipengaruhi oleh kepadatan bakteri yang menunjukkan bakteri tersebut tahan dan dapat beradaptasi dengan logam (Rahadi et al., 2019).

Berdasarkan hasil uji penurunan kadar timbal yang dilakukan pada isolat bakteri dengan kode BTP 01, BTP 04, BTP 07, BTP 09, BTP 10 dan BTP 12, semua isolat mampu menurunkan kadar timbal sampai 99,99%. Hasil penelitian menunjukkan kadar awal timbal adalah 36,3946 ml/l dan kadar akhir timbal <0,003 mg/l. Kemampuan bakteri untuk menurunkan kadar logam berat timbal dipengaruhi oleh gen yang terdapat di kromosom, plasmid dan transposon yang mengatur mekanisme sel. Permukaan sel pada bakteri bermuatan negatif karena terbentuk dari berbagai struktur anion, sedangkan logam berat adalah ion yang bermuatan positif sehingga bisa terjadi ikatan antara permukaan sel bakteri dengan ion logam berat. Logam berat juga dapat diakumulasi didalam sel bakteri dan membentuk ikatan antara logam berat dengan protein yang disebut metallothionein (Hasyimuddin et al., 2018). Metallothionein adalah protein kaya sistein intraseluler yang dapat

mengikat logam, melakukan proses detoksifikasi, menyimpan dan mengatur ion logam didalam sel (Firmani & Safitri, 2023).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan beberapa kesimpulan. Sebanyak 12 isolat bakteri berhasil diisolasi dari tanah sekitar industri daur ulang baterai aki. Dari hasil uji resistensi, terdapat enam isolat bakteri yang menunjukkan nilai di atas rata-rata, yaitu BTP 01, BTP 04, BTP 07, BTP 09, BTP 10, dan BTP 12. Enam isolat bakteri yang diuji untuk menurunkan kadar timbal menunjukkan kemampuan yang signifikan, dengan persentase penurunan kadar timbal mencapai 99%. Berdasarkan hasil uji pewarnaan gram dan uji biokimia, isolat dengan kode BTP 01, BTP 05, BTP 07, BTP 08, BTP 09, BTP 10, BTP 11, dan BTP 12 tergolong dalam genus *Bacillus*, sedangkan isolat dengan kode BTP 02, BTP 03, BTP 04, dan BTP 06 termasuk dalam genus *Pseudomonas*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhani, R., & Husaini. (2017). Logam berat sekitar manusia. Lambung Mangkurat University Press.
- Aini, F. (2018). Isolasi dan identifikasi *Shigella sp.* penyebab diare pada balita. *Bio-Site*, 4(1), 7–12.
- Fahrudin, Haedar, N., Santosa, S., & Sri, W. (2019). Uji kemampuan tumbuh isolat bakteri dari air dan sedimen Sungai Tallo terhadap logam timbal (Pb). *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*, 10(2), 58–64.
- Firmani, U., & Safitri, N. M. (2023). Bakteri penyerap logam timbal (Pb) dari sedimen dan kerang hijau di Laut Banyu Urip Ujung Pangkah, Gresik. *Journal of Aquatropica Asia*, 8(2014), 1–5.
- Hasyimuddin, Nur, F., & Indriani. (2018). Isolasi bakteri pengakumulasi logam berat timbal (Pb) pada saluran pembuangan limbah industri di Kabupaten Gowa. *Biotropic*, 2(2).
- Jamilah, & Amri. (2019). Analisis bakteri pengakumulasi logam berat timbal (Pb) di tanah pembuangan limbah industri non-pangan. *Celebes Biodiversitas: Jurnal Sains dan Pendidikan Biologi*, 2(2), 7.
- Kosasi, C., Lolo, W. A., & Sadewi, S. (2019). Isolasi dan uji aktivitas antibakteri dari bakteri yang berasosiasi dengan alga *Turbinaria arnata* (Turner J. Agardh) serta identifikasi secara biokimia. *Pharmacon*, 8, 351–359.
- Panjaitan, F. J., Bachtar, T., Arsyad, I., Lele, O. K., & Indriyani, W. (2020). Karakterisasi mikroskopis dan uji biokimia bakteri pelarut fosfat (BPF) dari rhizosfer tanaman jagung fase vegetatif. *Jurnal Ilmu Pertanian dan Lingkungan*, 1(10), 9–17.
- Putji, S. R., Sumingkrat, Noer, S. T., Agustina, S., Trisna, A., & Rofienda, D. (2016). Penelitian bioremediasi (*ex-situ*) tanah yang terkontaminasi limbah B3 yang mengandung logam berat. *Buletin Penelitian*, 28(1).

- Rahadi, B., Susanawati, L. D., & Agustianingrum, R. (2019). Bioremediasi logam timbal (Pb) menggunakan bakteri indigenous pada tanah tercemar air lindi (*leachate*). *Jurnal Sumberdaya Alam dan Lingkungan*, 6(3), 11–18.
- Rini, C. S., & Rohmah, J. (2017). *Bakteriologi dasar*. Umsida Press.
- Sunar. (2022). *Mencegah pencemaran lingkungan: melalui pengelolaan aki bekas*. Deepublish.
- Wiharja. (2004). Kajian teknologi daur ulang timah dari aki bekas yang ramah lingkungan. *Jurnal Teknik Lingkungan P3TL-BPPT*, 5(1), 69–74.
- Wignyanto. (2020). *Bioremediasi dan aplikasinya* (Edisi ke-1). UB Press.
- Wulandari, D., & Purwaningsih, D. (2019). Identifikasi dan karakterisasi bakteri amilolitik pada umbi *Colocasia esculenta L.* secara morfologi, biokimia, dan molekuler. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 6(1), 247–258.