

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Bakteri dari Tanah Sekitar Industri Daur Ulang Baterai Aki

Isolasi bakteri yang terdapat di tanah sekitar industri daur ulang baterai aki ditumbuhkan pada media NA (*Nutrient Agar*), dijadikan sebagai sampel untuk uji penurunan kadar timbal (Pb). Sampel tanah yang sudah diambil dihomogenkan, kemudian diencerkan sampai tingkat 10^{-6} . Hasil pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} diisolasi pada media NA (*Nutrient Agar*) dengan metode tuang. 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 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 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 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. 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 4.1.

Tabel 4. 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>

Tabel 4.1 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).

Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis, terdapat beberapa isolat yang memiliki kesamaan. Isolat yang memiliki kesamaan berdasarkan pengamatan makroskopis adalah kode BTP 01 dan 07 dengan bentuk *circular*, margin *entire*, elevasi *convex* dan warnanya putih. Lalu isolat kode BTP 05 dengan BTP 09 dengan bentuk *circular*, marginnya *entire*, elevasi *convex* dan warna cream. Kode isolat yang memiliki kesamaan berikutnya adalah isolat kode BTP 02, BTP 03 dan BTP 12 dengan bentuk *irregular*, margin *curled*, permukaan *convex* dan warna cream.

4.2 Karakterisasi

4.2.1 Pewarnaan Gram

Pengamatan mikroskopik dilakukan dengan melakukan pewarnaan gram untuk mengetahui sifat gram dan bentuk bakteri. Pewarnaan gram adalah salah satu hal paling penting dan dasar untuk mengidentifikasi bakteri. Dengan pewarnaan gram, dapat diketahui apakah bakteri kelompok gram negatif atau kelompok gram positif. Dapat diketahui pula apakah bakteri memiliki bentuk basil (batang), bentuk bulat atau bentuk spiral. Bentuk basil dibagi menjadi tiga jenis yaitu monobasil, streptobasil dan diplobasil. Bentuk bulat atau coccus terbagi menjadi enam jenis, yaitu monokokus, diplokokus, stapilokokus, streptokokus, sarkina dan tetrakokus. Sedangkan bentuk spiral terbagi menjadi tiga jenis yaitu spiral, vibrio dan spiroseta (Rini & Rohmah, 2020). Hasil pengamatan mikroskopik pada 12 isolat bakteri disajikan pada tabel 4.2.

Tabel 4. 2 Hasil Uji Pewarnaan Gram Bakteri

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>

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat, 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. Terdapat dua jenis bentuk basil yang ditemukan yaitu streptobasil yaitu bakteri berbentuk batang yang tersusun seperti rantai dan monobasil yaitu bakteri berbentuk batang tunggal.

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). Bakteri kelompok gram negatif adalah bakteri dengan kode isolat BTP 02, BTP 03, BTP 04 dan BTP 06, sedangkan kode isolat BTP 01, BTP 05, BTP 07, BTP 08, BTP 09, BTP 10, BTP 11 dan BTP 12 merupakan kelompok gram positif.

4.2.2 Uji Biokimia

Uji biokimia yang dilakukan antara lain adalah uji katalase, uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), uji *Sulfit 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. Sehingga uji biokimia digunakan sebagai alat mengidentifikasi bakteri. Hasil uji biokimia pada isolat bakteri disajikan dalam tabel 4.3.

Tabel 4. 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

Pada uji biokimia, ada tiga media yang digunakan yaitu media TSIA, SIM dan SCA, serta dilakukan uji katalase dengan menggunakan larutan H₂O₂ 3%. Uji biokimia adalah dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri dengan melihat reaksi bakteri terhadap media atau larutan yang digunakan (Haryati, 2020).

Uji biokimia menggunakan media TSIA dilakukan untuk melihat reaksi bakteri memfermentasi gula, yang akan ditandai dengan perubahan warna media menjadi kuning, serta adanya gas. Perubahan warna pada media menjadi kuning

disebabkan oleh indikator fenol merah. Bakteri dapat dikatakan bisa memfermentasikan semua jenis gula jika dalam prosesnya terjadi pengonversian piruvat menjadi asam, yang selanjutnya menjadi gas H₂ dan CO₂ yang terperangkap didalam tabung (Haryati, 2020).

Hasil uji menggunakan media TSIA menunjukkan semua isolat terjadi perubahan warna media menjadi kuning pada bagian butt (bawah) dan tetap merah pada bagian atas (K/A). Hasil uji menunjukkan semua isolat 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). Pada media TSIA terdapat 3 jenis gula, yaitu glukosa, laktosa dan sukrosa. Bakteri dapat dikatakan memfermentasi semua jenis gula jika pada bagian atas dan bawah media berubah menjadi kuning, dan dikatakan tidak bisa merubah semua jenis gula jika bagian atas dan bawah media tetap berwarna merah (Sudarwanti & Maisyarah, 2017).

Uji TSIA juga dapat menunjukkan apakah bakteri menghasilkan gas atau tidak. Pada hasil uji terdapat 3 bakteri dengan kode isolat BTP 01, BTP 05 dan BTP 10 yang menghasilkan gas, ditunjukkan dengan terangkatnya media keatas. Terangkatnya media keatas disebabkan oleh hasil fermentasi bakteri yang menghasilkan asam format. Asam format akan dioksidasi menjadi gas hidrogen dan karbondioksida dengan bantuan enzim formate hydrogenase. Gas hidrogen tidak bisa larut dalam media, sehingga terakumulasi dalam bentuk gelembung udara antara media dan tabung, sehingga media menjadi terangkat (Aini, 2018).

Media TSIA juga dapat menunjukkan pembentukan H₂S, yaitu untuk melihat apakah bakteri memfermentasikan mentionin dan sistein. Hasil uji positif ditunjukkan oleh bakteri kode isolat BTP 06 dan BTP 07, yang ditandai dengan adanya endapan hitam atau ada bagian dari media yang berubah menjadi hitam. Perubahan warna media menjadi hitam disebabkan oleh kandungan media TSIA berupa sodium tiosulfat digunakan oleh bakteri sebagai sumber sulfur sehingga menghasilkan hidrogen sulfida (H₂S). Hidrogen sulfida selanjutnya akan bereaksi dengan Fe sitrat sehingga menghasilkan ferrous sulfide yang menyebabkan perubahan warna pada media menjadi hitam (Aini, 2018).

Uji biokimia selanjutnya menggunakan media SIM untuk melihat apakah bakteri membentuk senyawa indol dan untuk mengetahui motilitas bakteri. Dilakukannya uji motilitas bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya pergerakan sel bakteri. Uji motilitas menunjukkan hasil positif pada semua bakteri, yang ditunjukkan dengan pertumbuhan bakteri menjauhi garis inokulasi. Bakteri dapat tumbuh menjauhi garis inokulasinya dikarenakan adanya alat gerak bakteri berupa flagela atau *gliding motility*, sedangkan hasil negatif dikarenakan tidak adanya alat gerak pada sel bakteri (Panjaitan et al., 2020).

Hasil uji indol menunjukkan semua bakteri tidak dapat menghasilkan senyawa indol yang ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan warna menjadi merah setelah diberi tambahan senyawa kovacs. Senyawa kovacs digunakan untuk mengetahui apakah bakteri menghasilkan indol dari bakteri dari asam amino dan triptofan. Triptofan merupakan asam amino yang bisa dioksidasi oleh beberapa bakteri menjadi tiga produk akhir, yaitu amonia, asam piruvat dan indol. Indol dapat dideteksi menggunakan senyawa kovacs karena bahan aktif yang terdapat dalam kovacs yaitu dimethylaminobenzaldehyde akan bereaksi dengan indol hingga membentuk produk berupa lapisan merah muda (Rifai, 2021).

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 (H₂O₂) yang berbahaya menjadi oksigen dan air sehingga tidak berbahaya bagi organisme (Panjaitan et al., 2020).

4.3 Identifikasi Genus Bakteri

Genus bakteri akan diidentifikasi berdasarkan hasil uji pewarnaan gram dan uji biokimia dengan melihat persamaannya menggunakan buku kunci determinasi dari *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Bakteri dengan kode isolat BTP 01, BTP 05, BTP 07, BTP 09, BTP 10, BTP 11 dan BTP12 memiliki kesamaan karakteristik dengan bakteri genus *Bacillus*. Kesamaan karakter tersebut diidentifikasi menggunakan buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology second edition volume three*. Kesamaannya adalah sifat gram positif dan memiliki bentuk basil atau batang tunggal, hasil uji indol negatif, memiliki reaksi positif pada uji katalase positif atau negatif (variatif), reaksi positif atau negatif (variatif) pada uji sitrat, dan mampu memfermentasikan gula terutama glukosa. Bakteri genus *Bacillus* memiliki hasil negatif pada uji sitrat, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbon, dan bakteri bersifat positif pada uji motil yang berarti bakteri genus ini memiliki alat gerak berupa flagella (Sayuti et al., 2017).

Klasifikasi bakteri genus *Bacillus* adalah :

Kingdom : Bacteria
Phylum : Bacillota
Class : Bacilli
Ordo : Caryophanales
Family : Bacillaceae
Genus : *Bacillus*

BTP 12 memiliki kesamaan yang sangat dekat dengan *Bacillus cereus*, yaitu mampu hasil pewarnaan gram positif, bentuk basil tunggal, bersifat motil atau memiliki alat gerak, hasil katalase positif dan indol negatif. Hasil uji biokimia menunjukkan kesamaan pada penelitian (Moritania et al., 2019) dengan isolat kode CS27, yang setelah dilakukan analisis DNA didapatkan hasil bahwa isolat tersebut adalah spesies *Bacillus cereus*.

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). Hasil penelitian Ikerismawati, terdapat tiga jenis isolat bakteri *indigenous* limbah cair agar yang memiliki potensi dalam menurunkan kadar timbal yaitu *B. pumilus*, *B. lichenformis* dan *B. alvei*. Bakteri *Bacillus* merupakan genus bakteri yang mampu menyerap logam berat kedalam sel-selnya sehingga logam berat tersebut tidak bisa bergerak kedalam substrat yang lebih jauh (Ikerismawati, 2019).

BTP 02, BTP 03, BTP 04 dan BTP 06 memiliki kesamaan karakter dengan bakteri genus *Pseudomonas*, yaitu memiliki bentuk batang atau basil, gram negatif, tidak membentuk gas pada uji TSIA, motil dan SCA positif. Persamaan diidentifikasi menggunakan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology seventh edition*. Bakteri *Pseudomonas* mampu memfermentasikan glukosa namun tidak semuanya mampu memfermentasikan laktosa dan sukrosa. Hasil biokimia BTP 04 memiliki kesamaan dengan bakteri spesies *Pseudomonas luteola* pada penelitian (Al-Saphar & Al-Faraqi, 2014) yang memiliki gram negatif, bisa memfermentasikan glukosa, motilitas dan uji indol negatif.

Klasifikasi bakteri genus *Pseudomononas* adalah :

Kingdom : Bacteria
Phylum : Pseudomonadota
Class : Gammaproteobacteria
Ordo : Pseudomonadales
Family : Pseudomonadaceae
Genus : *Pseudomononas*

Bakteri dengan kode isolat BTP 04 merupakan bakteri gram negatif. Bakteri gram negatif memiliki kemampuan dalam menurunkan kadar timbal karena bakteri ini diketahui memiliki *glutathione*. *Glutathione* adalah komponen thiol non-protein major pada sel hidup sehingga dapat mempengaruhi detoksifikasi pada logam berat timbal karena memiliki kapasitas reduksi yang

tinggi. Komponen ini juga dapat ditemukan pada bakteri gram positif namun dalam jumlah yang lebih sedikit (Agustina & Lisdiana, 2023).

4.4 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 uji resistensi disajikan dalam tabel 4.4.

Tabel 4. 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

Hasil uji resistensi pada tabel, 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. Bakteri dengan nilai OD diatas rata-rata diharapkan akan memiliki kemampuan dalam menurunkan kandungan timbal.

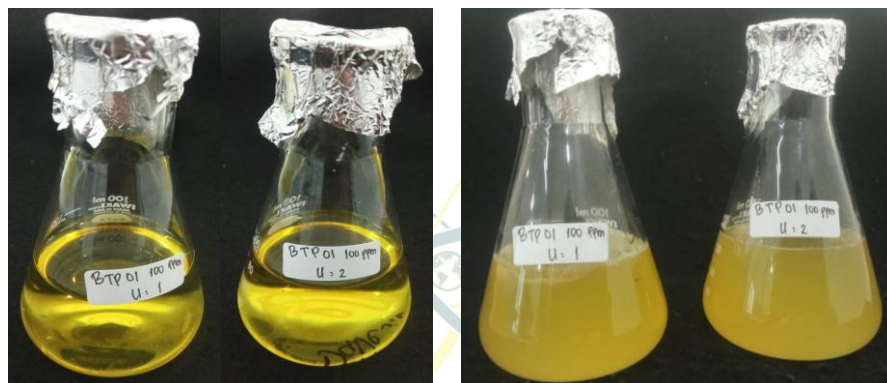
Cara kerja spektrofotometer adalah dengan melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu sesuai dengan jenis atom pada suatu obyek kaca yang disebut kuvet. Sebagian cahaya akan diserap dan sisanya akan diteruskan. Nilai absorbansi akan sebanding dengan konsentrasi larutan OD didalam kuvet (Seniati et al., 2019). Cahaya yang diserap pada spektrofotometer akan diukur sebagai absorbansi sedangkan cahaya yang dihamburkan akan diukur sebagai transmitansi. Bakteri memiliki sifat menyerap cahaya, sehingga semakin banyak jumlah bakteri semakin banyak jumlah cahaya yang diserap maka semakin tinggi nilai absorbansi. Begitupula sebaliknya, semakin rendah jumlah bakteri, semakin rendah pula jumlah cahaya yang diserap sehingga nilai absorbansi akan rendah (Lizayana et al., 2016).

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.

4.5 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).

Uji potensi bakteri terhadap penurunan kadar timbal dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media NB yang telah ditambahkan $Pb(NO_3)_2$ 100 ppm dengan dua kali ulangan. Media yang digunakan diuji kadar timbalnya untuk mengetahui kadar awal timbal. Kadar timbal akan diuji lagi setelah media yang telah ditambahkan bakteri diinkubasi selama 24 jam. Adapun perubahan warna dan kekeruhan pada media setelah masa inkubasi ditunjukkan pada gambar 4.1



Sebelum inkubasi

Setelah inkubasi

Gambar 4. 1 Perubahan media sebelum dan setelah inkubasi

Selanjutnya diuji kadar timbal pada media yang ditumbuhkan bakteri dan yang tidak ditambahkan bakteri menggunakan *Atomic Absorption Spectrofotometry* (AAS). Media yang sudah diinkubasi akan disentrifugasi untuk memisahkan cairan media yang mengandung Pb dan endapan bakteri. Sebelum dilakukan penentuan kadar timbal harus dilakukan destruksi terlebih dahulu pada larutan yang akan diuji. Destruksi adalah perlakuan untuk memisahkan atau mengubah sampel menjadi bentuk materi yang bisa diukur sehingga kandungan yang terdapat didalamnya bisa dianalisis (Asmorowati et al., 2020). Hasil uji penurunan kadar timbal oleh isolat bakteri disajikan dalam tabel 4.5.

Tabel 4. 5 Hasil Uji Penurunan Kadar Timbal oleh Isolat Bakteri

No	Kode Isolat	Konsentrasi Awal (mg/L)	Konsentrasi Akhir (mg/L)	Konsentrasi Penurunan (mg/L)	Persentase Penurunan (%)
1	BTP 01	36.3946	< 0.003	36.3916	99.99%
2	BTP 04	36.3946	< 0.003	36.3916	99.99%
3	BTP 07	36.3946	< 0.003	36.3916	99.99%

4	BTP 09	36.3946	< 0.003	36.3916	99.99%
5	BTP 10	36.3946	< 0.003	36.3916	99.99%
6	BTP 12	36.3946	< 0.003	36.3916	99.99%

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%. 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).