

Aktivitas Reduksi Merkuri pada Bakteri yang Diisolasi dari Air dan Sedimen di Sungai Musi

Mercury Reducing Activity of Bacteria Isolated from Water and Sediment of Musi River

Titik Fadilah Amelia, Ace Baehaki^{*)}, Herpandi

Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Pertanian
Universitas Sriwijaya, Indralaya, Ogan Ilir 30662 Sumatera Selatan
Telp./Fax. (0711) 580934

^{*)}Penulis untuk korespondensi: ace76_none@yahoo.com

ABSTRACT

This study aims to isolate mercury resistant bacteria from water and sediment in Pulau Salah Nama which located on the River Musi Palembang, characterized mercury resistant bacteria growing at the highest concentration of HgCl₂ and test the power of these bacteria in reducing mercury. The research was conducted from June 2015 until September 2015 using experimental methods laboris and descriptive data analysis. Reaseach consisted of several stages, including sampling, bacterial isolation, characterization to determine the type of bacteria and mercury reducing power of bacteria. Isolation of bacteria produced 10 isolates. A1 was bacteria isolated from water and A2 was bacteria isolated from sediment. From 10 isolates selected 2 isolates of the highest concentration of HgCl₂. Selected isolate A1 have the lowest mercury reduction power of 39.26% and selected isolate A2 have the highest mercury reduction power of 65.93%. In control medium without inoculant a dedine in mercury concentration of 39.44%. Based on the characterization of the bacteria biochemical activity known A1 and A2 were *Bacillus subtilis*.

Keywords: *Bacillus subtilis*, bacterial resistant mercury, mercury reduction power

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengisolasi bakteri resisten merkuri dari air dan sedimen di Pulau Salah Nama yang terletak di Sungai Musi Palembang, mengkarakterisasi bakteri resisten merkuri yang tumbuh pada konsentrasi HgCl₂ tertinggi dan menguji kemampuan bakteri tersebut dalam mereduksi merkuri. Penelitian ini dilaksanakan pada Juni 2015 sampai September 2015 dengan menggunakan metode eksperimental laboris dan analisis data secara deskriptif. Data diperoleh melalui beberapa tahapan yaitu pengambilan sampel, isolasi bakteri, karakterisasi untuk mengetahui jenis bakteri dan pengujian daya reduksi bakteri terhadap merkuri. Isolasi bakteri menghasilkan 10 isolat, A1 merupakan isolat dari air dan A2 merupakan isolat dari sedimen. Dari 10 isolat dipilih 2 isolat yang tumbuh pada media dengan konsentrasi HgCl₂ tertinggi yaitu 0,2 ppm. Isolat A1 yang terpilih mempunyai daya reduksi merkuri terendah yaitu 39,26% dan isolat A2 mempunyai daya reduksi merkuri tertinggi yaitu 65,93%. Pada media kontrol tanpa inokulasi terjadi penurunan konsentrasi merkuri 39,44%. Berdasarkan karakterisasi aktivitas biokimianya diketahui bakteri A1 dan A2 adalah *Bacillus subtilis*.

Kata kunci: *Bacillus subtilis*, bakteri resisten merkuri, daya reduksi merkuri

PENDAHULUAN

Sungai Musi merupakan sungai terbesar di wilayah Sumatera Selatan, sungai ini membelah Kota Palembang menjadi bagian Ulu dan Ilir dan memiliki peranan yang sangat penting bagi masyarakat Kota Palembang misalnya untuk air minum, kebutuhan memasak, mandi, sarana transportasi, sumber mata pencaharian bagi nelayan dan sebagainya. Tidak hanya bagi rumah tangga, Sungai Musi juga dibutuhkan sebagai sumber air maupun sarana

transportasi oleh sektor industri misalnya tekstil, petrokimia, *crude palm oil*, karet, batubara dan semen (Emilia *et al.* 2013). Banyak kapal pengangkut barang milik pabrik yang berada sekitar sungai hampir setiap hari lalu-lalang di Sungai Musi. Perkembangan industri dan pertambahan jumlah penduduk yang pesat dapat berdampak terhadap penurunan kualitas sungai milsanya pendangkalan dan akumulasi polutan.

Salah satu bahan pencemar yang dikhawatirkan keberadaannya karena memiliki tingkat toksisitas yang tinggi dalam

lingkungan perairan adalah pencemar logam berat (Prasojo *et al.* 2013). Merkuri (Hg) yang merupakan salah satu unsur logam berat yang paling berbahaya dan beracun yang dapat membahayakan bagi kehidupan baik itu bagi manusia maupun makhluk hidup lainnya. Dampak yang timbul dari akibat kontaminasi merkuri bisa menyebabkan kematian (Lasut 2011).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Setiawan *et al.* (2013) kadar merkuri total dalam air Sungai Musi di wilayah Pulokerto, Jembatan ampera, dan Pulau Salah Nama masing-masing 17,250 ppb, 19,250 ppb dan 21,750 ppb. Kadar tersebut melampaui batas maksimal kandungan Merkuri untuk Kriteria Mutu Air berdasarkan Peraturan Pemerintah Nomor 82 Tahun 2001 tentang Pengelolaan Kualitas Air Dan Pengendalian Pencemaran Air; batas maksimal kandungan Merkuri mutu air kelas I, II, III, dan IV masing-masing 0,001 mg/L (1 ppb), 0,002 mg/L (2 ppb), 0,002 mg/L (2 ppb), dan 0,005 mg/L (5 ppb).

Di dalam air, merkuri dapat mengalami biotransformasi menjadi senyawa organik metilmerkuri atau fenil merkuri akibat proses dekomposisi oleh bakteri. Selanjutnya senyawa organik tersebut akan terserap oleh jasad renik yang selanjutnya akan masuk dalam rantai makanan dan akhirnya akan terjadi akumulasi dan biomagnifikasi dalam tubuh hewan air misalnya ikan dan kerang, akhirnya dapat masuk ke dalam tubuh manusia yang mengkonsumsinya (Widhiyatna 2005). Namun demikian, secara alamiah di perairan laut pun dapat ditemukan sejumlah bakteri lain yang mampu melakukan reduksi terhadap ion-ion Hg sehingga dapat mengurangi resiko keracunan (Ijong 2011).

Salah satu usaha untuk detoksifikasi merkuri dapat dilakukan menggunakan mikroorganismenya resisten merkuri, misalnya bakteri resisten merkuri. Mikroorganismenya yang terdapat pada daerah tercemar merkuri berperan utama untuk detoksifikasi merkuri. Apabila bakteri tersebut dapat beradaptasi pada lingkungan dengan tingkat kontaminasi logam berat yang tinggi, maka diasumsikan bahwa penggunaan bakteri tersebut sangat efektif dalam meningkatkan reduksi logam

berat. Oleh karena itu, mikroorganismenya yang terdapat pada daerah tercemar merkuri merupakan sumber untuk isolasi bakteri resisten merkuri (Pratiwi 2012). Untuk itu pada penelitian ini akan dilakukan isolasi, karakterisasi dan pengujian daya reduksi merkuri bakteri resisten merkuri dari Sungai Musi.

Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan isolat bakteri resisten merkuri dari perairan Sungai Musi, menentukan jenis bakteri yang resisten terhadap merkuri, dan menentukan kemampuan isolat bakteri resisten merkuri dalam mereduksi ion merkuri di perairan.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya dan Balai Besar Laboratorium Kesehatan Palembang pada bulan Juni 2015 sampai dengan September 2015.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel air Sungai Musi, medium NA, NB, HgCl₂, aquadest, NaCl 0,9%, larutan kristal violet, etil alkohol, safranin, zat warna hijau malakit, Karbol fuchsin, alkohol asam, *metilen blue*, glukosa, laktosa, manitol, indikator *bromthymol blue*, medium cair *trptic soy broth*, media *Triple Sugar Iron Agar*, media *water tripton*, media padat urea christensen, medium padat miring *simmons citrate agar*, indikator *bromthymol blue*, medium *ornithin broth*.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu botol steril, cawan petri, gelas ukur, jarum ose, tabung reaksi, *incubator*, *incubator shaker*, mikroskop, *atomic absorption spectrophotometer* (AAS).

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratoris. Parameter pengujian meliputi karakteristik bakteri yang

tumbuh pada konsentrasi merkuri tertinggi, dan kemampuan bakteri dalam mereduksi merkuri.

Pada penelitian ini terdapat dua jenis sampel, yaitu sampel air (A1) dan sedimen (A2), dari kedua sampel ini dilakukan isolasi bakteri menggunakan media NA yang ditambahkan HgCl₂ dengan 5 konsentrasi berbeda, yaitu HgCl₂ 0,01 ppm, 0,03 ppm, 0,05 ppm, 0,1 ppm dan 0,2 ppm. Identifikasi bakteri dan pengujian daya reduksi merkuri dilakukan pada bakteri yang tumbuh di media dengan konsentrasi HgCl₂ tertinggi.

Tahapan Penelitian

Pengambilan sampel

Sampel air dan sedimen diambil dari Pulau Banjar, namun oleh masyarakat sekitar lebih dikenal sebagai Pulau Salah Nama. Pulau Banjar termasuk dalam wilayah Kabupaten Banyuasin. Pengambilan sampel dilakukan di 5 subtitik. Sampel air diambil menggunakan alat *water sampler* pada kedalaman tertentu, sampel sedimen diambil dengan menggunakan alat pengambil sedimen pada dasar Sungai Musi. Kemudian sampel digabungkan untuk setiap subtitik sampling. Sampel air dan sedimen disimpan dalam wadah gelap pada suhu dingin.

Isolasi bakteri

Isolasi Bakteri dilakukan dengan teknik pengenceran berseri, sebanyak 1 mL sampel air diencerkan dengan 9 mL aquadest, untuk sampel sedimen diambil 1 gram lalu diencerkan dengan 9 mL akuades. Pengenceran dibuat 10⁻¹ - 10⁻⁷. Pengenceran terakhir diambil sebanyak 1 mL lalu dituang pada cawan Petri yang berisi medium nutrisi agar yang telah ditambahkan larutan HgCl₂ dengan konsentrasi berbeda-beda yaitu 0,01 ppm, 0,03 ppm, 0,05 ppm, 0,1 ppm dan 0,2 ppm. Proses isolasi dilakukan dengan teknik cawan tuang. Selanjutnya cawan Petri diinkubasi pada suhu 37 °C selama 2 x 24 jam untuk mendapatkan isolat bakteri resisten merkuri. Dari hasil isolasi ini akan dipilih satu isolat bakteri yang tumbuh pada konsentrasi HgCl₂ tertinggi pada sampel air dan sampel sedimen sehingga didapatkan 2 isolat bakteri.

Purifikasi isolat

Kedua isolat yang terpilih dipurifikasi untuk memperoleh isolate murni. Adapun langkah purifikasi tersebut yaitu dengan mengambil satu koloni isolat bakteri dari cawan petri secara aseptis, kemudian dinokulasikan ke permukaan medium padat NA yang telah ditambahkan larutan HgCl₂ sesuai konsentrasi awalnya, inokulasi ini dilakukan dengan metode gores, lalu diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam. Koloni bakteri yang dipilih dalam pemurnian ini adalah *single colony*. Bakteri dianggap telah murni dilihat dari penampakan bentuk dan warna koloni yang seragam

Identifikasi bakteri

Identifikasi dilakukan berdasarkan pengamatan morfologi sel, pewarnaan gram, uji biokimia yang terdiri dari uji oksidase, katalase, fermentasi karbohidrat dengan substrat glukosa, laktosa, manitol, maltosa, dan sukrosa, uji motilitas, uji Indol, TSIA, *methyl red*, *voges proskauer*, *litmus milk*, *bile esculine*, pembentukan sitrat, *phenyl alanin* dan urea.

Pengujian daya reduksi merkuri

Kedua isolat bakteri resisten merkuri yang sudah dikarakterisasi akan diuji daya reduksinya terhadap merkuri. Pengujian daya reduksi merkuri ini dilakukan dengan mengacu pada penelitian Dirayah dan Muchtar (2005) dengan modifikasi, dimana sebanyak 3 ose isolat bakteri uji dari media *Nutrient Agar* diinokulasikan pada 100 mL medium cair *Nutrient Broth* (NA) dengan konsentrasi HgCl₂ sebesar 10 ppb, kemudian diinkubasi pada *incubator shaker* dengan kecepatan 100 rpm selama 1 x 24 jam pada suhu kamar. Kultur disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan bakteri dengan media NB. Supernatan dianalisis dengan *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS) untuk menentukan konsentrasi logam yang tereduksi. Analisis merkuri dilakukan sesuai metode SNI 06-2462-1991.

Analisis Data

Analisis data dilakukan secara deskriptif dengan tabulasi dan grafik. Data dideskripsikan menurut hasil pengamatan tiap parameter berdasarkan variabel perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri

Bakteri diisolasi dari sampel air dan sedimen yang diambil dari wilayah Pulau Banjar (Pulau Salah Nama) yang terletak di Sungai Musi. Berdasarkan penelitian Setiawan *et al.* (2013) terdeteksi adanya kandungan merkuri di air dan dalam tubuh ikan-ikan karnivora yang hidup di wilayah Pulau Banjar. Menurut Setiawan *et al.* (2013), tingginya kandungan Hg di Pulau yang merupakan wilayah hilir ini disebabkan air dari wilayah hulu mengalir menuju ke hilir sehingga bahan pencemar tersebut terakumulasi di wilayah hilir. Selain itu pernah berdiri pabrik kertas di Pulau ini diduga menjadi salah satu penyebab tingginya konsentrasi merkuri di air.

Pulau Banjar termasuk dalam wilayah Kabupaten Banyuasin, lokasi ini dapat ditempuh melalui jalur laut yaitu melalui Sungai Musi ataupun melalui jalur darat dari Jalan Mariana kemudian menyeberangi sungai untuk sampai ke Pulau Banjar. Pemilihan sampel untuk diambil dari air dan sedimen didukung oleh pernyataan Ruslan (2010), logam berat yang masuk ke dalam lingkungan perairan mengalami pengendapan, pengenceran dan dispersi, kemudian diserap oleh organisme yang hidup di perairan tersebut. Badjoeri dan Zarkasyi (2010) mengungkapkan bahwa air ataupun sedimen merupakan sumber isolat yang potensial untuk mendapatkan koleksi isolat bakteri.

Isolasi bakteri dilakukan ada medium padat NA dengan volume 15 mL/cawan menggunakan metode pengenceran bertingkat; sebanyak 1 mL sampel air dan 1 gram sampel sedimen masing-masing diencerkan dengan akuades 9 mL hingga pengenceran 10^{-7} . Pengenceran terakhir diambil 1 mL biakan untuk dituangkan ke media NA yang mengandung HgCl₂ dengan konsentrasi berbeda-beda yaitu sebesar 0,01 ppm, 0,03 ppm, 0,05 ppm, 0,1 ppm, dan

0,2 ppm. Inkubasi dilakukan selama 2x24 jam sampai terlihat pertumbuhan koloni. Hasil isolasi bakteri disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil isolasi bakteri resisten merkuri

Isolat	Konsentari HgCl ₂ (ppm)				
	0,01	0,03	0,05	0,10	0,20
A1 (sampel air)	+	+	+	+	+
A2 (sampel sedimen)	+	+	+	+	+

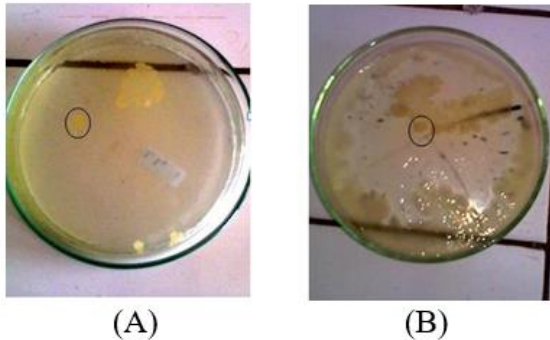
Keterangan: + = bakteri tumbuh

Tabel 1. menunjukkan bakteri mampu tumbuh pada konsentrasi HgCl₂ 0,01 ppm sampai 0,2 ppm. Bakteri yang ditumbuhkan tersebut merupakan bakteri resisten merkuri sebagaimana yang diungkapkan Manampiring dan Keppel (2011), bahwa suatu bakteri dikatakan resisten merkuri apabila dapat bertahan pada konsentrasi merkuri 0,01 ppm. Resistensi bakteri terhadap merkuri anorganik dan merkuri organik merupakan akibat dari mekanisme detoksifikasi yang merupakan serangkaian usaha suatu sel bakteri menjadi resisten terhadap merkuri. Mekanisme detoksifikasi ini tidak lepas dari kerja enzim merkuri reduktase dan organomercuri liase yang disandi oleh gen-gen yang terdapat pada plasmid dan transposon (Barkay 1992).

Penelitian sebelumnya oleh Dwyana dan Fahrudin (2012) yang melakukan isolasi bakteri resisten merkuri dari kawasan Pantai Losari Makassar dengan konsentrasi HgCl₂ 0,2 ppm, 0,42 ppm, 0,6 ppm, 0,8 ppm dan 1 ppm dimana bakteri resisten merkuri hanya dapat tumbuh pada konsentrasi HgCl₂ 0,2 ppm. Dari hasil isolasi bakteri pada 5 medium dengan konsentrasi HgCl₂ yang berbeda dipilih bakteri yang tumbuh pada konsentrasi HgCl₂ tertinggi pada sampel air dan sedimen yaitu konsentrasi HgCl₂ 0,2 ppm. Hasil isolasi pada konsentrasi HgCl₂ 0,2 ppm ditunjukkan pada Gambar 2. Bakteri yang dipilih ditunjukkan dengan gambar lingkaran pada koloni bakteri.

Koloni yang terpilih pada medium A1 dan A2 dipurifikasi untuk memperoleh isolat

murni. Pemurnian dilakukan dengan mengambil satu *single colony* secara aseptis dan dinokulasikan ke permukaan medium NA dengan konsentrasi HgCl_2 0,2 ppm. Pemurnian dilakukan dengan teknik cawan gores. Pemindahan dilakukan sebanyak 5 kali sampai koloni yang tumbuh memiliki penampakan seragam yang menandakan koloni bakteri yang tumbuh merupakan bakteri dari jenis yang sama.



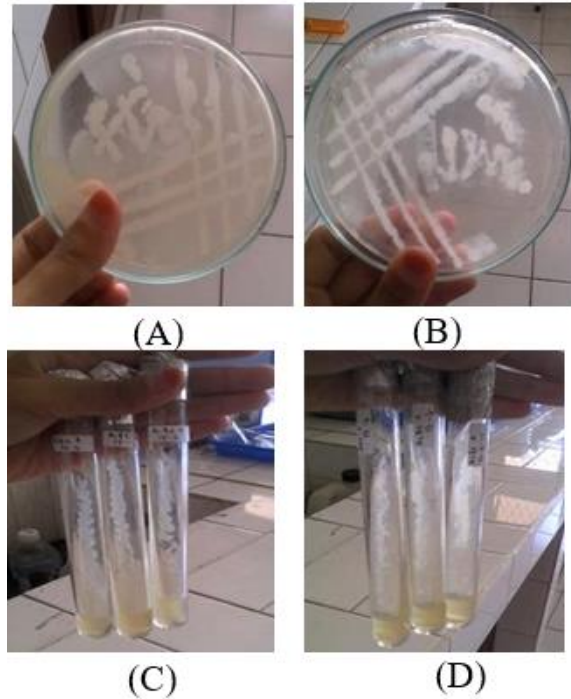
Gambar 1. Isolat bakteri pada HgCl 0,2 ppm: (A) Isolat A1; (B) Isolat A2.

Setelah pemurnian, selanjutnya dilakukan identifikasi bakteri untuk menentukan jenis bakteri tersebut. Menurut Waluyo (2004) dengan menanamkan bakteri pada berbagai medium, maka akan diketahui sifat-sifat suatu koloni bakteri. Isolat yang dimurnikan dengan digores pada cawan dan tabung reaksi didapat dilihat pada Gambar 2.

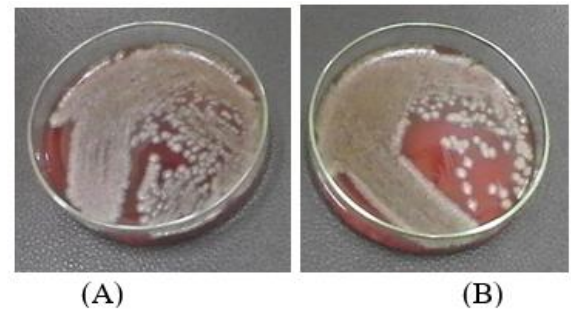
Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri dilakukan dengan pengujian morfologi yaitu dengan pewarnaan gram dan pengujian aktivitas biokimia. Aktivitas biokimia setiap bakteri berbeda-beda disebabkan bakteri memiliki aktivitas enzimatis yang berbeda. Sifat metabolisme bakteri dalam uji biokimia biasanya dilihat dari interaksi metabolit-metabolit yang dihasilkan dengan reagen-reagen kimia. Selain itu dilihat kemampuannya menggunakan senyawa tertentu sebagai sumber karbon dan sumber energi (Waluyo 2004).

Proses identifikasi bakteri yang pertama adalah pewarnaan gram untuk melihat penampakan sel bakteri sehingga diketahui jenis gram bakteri. Penampakan bentuk koloni dan sel bakteri dapat dilihat pada Gambar 3 dan Gambar 4.



Gambar 2. Isolat bakteri pada HgCl 0,2 ppm yang telah dimurnikan: (A, C) Isolat A1; (B, D) Isolat A2.



Gambar 3. Bentuk koloni bakteri resisten merkuri: (A) A1; (B) A2.



Gambar 4. Bentuk sel bakteri resisten merkuri: A2.

Menurut Pratiwi (2008) bentuk-bentuk bakteri, yaitu bulat (tunggal: *coccus*, jamak: *cocci*), batang atau silinder (tunggal: *bacillus*, jamak: *bacilli*), dan spiral yaitu berbentuk

batang melengkung atau melingkar-lingkar. Pada Gambar 3 diketahui bahwa bentuk koloni bakteri A1 dan A2 adalah batang atau silinder.

Bentuk dan warna sel bakteri dapat diketahui setelah dilakukan pewarnaan gram, pengecekan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 100X. Bakteri berbentuk basil merupakan bakteri yang mempunyai bentuk tongkat pendek atau batang kecil dan silindris. Basil dapat bergandengan dua, atau terlepas satu sama lain (Dwidjoseputro, 1998). *Bacilli* membelah hanya melalui sumbu pendeknya. Sebagian besar *bacilli* tampak sebagai batang tunggal. *Diplobacilli* muncul dari pasangan *bacilli* setelah pembelahan dan *streptobacilli* muncul dalam bentuk rantai. Beberapa *bacilli* tampak menyerupai *cocci*, dan disebut *coccobacilli* (Pratiwi 2008). Identifikasi dilanjutkan dengan pengujian karakteristik biokimia bakteri. Hasil pengujian biokimia kedua isolat dapat dilihat pada Tabel 2

Tabel 2. Hasil pengujian aktivitas biokimia bakteri resisten merkuri

Test	A1	A2
Pewarnaan Gram	Gram (+) basil (+)	Gram (+) basil (+)
Oksidase	Positif	Positif
Katalase	Positif	Positif
Glokose	Positif	Positif
Mannitol	Negatif	Negatif
Laktose	Negatif	Negatif
Maltose	Positif	Negatif
Sukrose	Positif	Positif
Indol	Negatif	Negatif
TSIA	K/A	K/A
Methyl red	Positif	Positif
VP	Negatif	Negatif
Litmus milk	Negatif	Negatif
Bile esculine	Positif	Positif
Motility	Positif	Positif
SiPRQ¶V ciWUaW	Negatif	Negatif
Phenyl alanin	Negatif	Negatif
Urea	Negatif	Positif
Mc Conkey	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh
Diagnosa	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>

Proses pewarnaan gram menunjukkan kedua bakteri merupakan bakteri gram positif. Pada bakteri gram positif dinding sel tersusun atas peptidoglikan dan komponen khusus berupa asam-asam teikhoat dan teikhuronat serta polisakarida, perbedaannya dengan bakteri gram negatif yaitu dinding sel

bakteri gram negatif juga tersusun atas peptidoglikan sedang komponen-komponen khusus berupa lipoprotein, selaput luar dan lipopolisakarida (Tedja 2009). Perbedaan komponen dinding sel bakteri. Bakteri gram negatif menunjukkan toleransi yang lebih besar terhadap logam daripada gram positif karena memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks yang mampu mengikat dan mengimobilisasi ion logam termasuk Hg²⁺.

Berdasarkan pengamatan bentuk koloni kedua bakteri memiliki bentuk *bacil*. Pengelompokan bakteri *bacil* gram positif terdiri dari bakteri pembentuk spora (spesies *bacillus*, *clostridium*), tidak membentuk spora (*Listeria*, *Erysipelothrix*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium*) (Anonim 2015). Menurut Mahon dan Manuselis (2011) bakteri basil gram positif pembentuk spora dengan uji katalase positif merupakan spesies *bacillus*, sedangkan bakteri *bacil* tidak membentuk spora dengan uji katalase positif merupakan bakteri *Corynebacterium* sp.

Hasil uji oksidase positif pada kedua bakteri menunjukkan bahwa kedua bakteri mampu menghasilkan enzim sitokrom oksidase, enzim dari rantai transpor elektron bakteri. Semua bakteri yang memiliki oksidase positif merupakan bakteri aerobik dan dapat menggunakan oksigen sebagai akseptor elektron terminal dalam respirasi, namun bukan tidak berarti bahwa mereka adalah bakteri aerobik sempurna (Acharya 2012).

Uji fermentasi karbohidrat bertujuan untuk mendeteksi kemampuan mikroorganisme dalam memfermentasi karbohidrat tertentu. Pola fermentasi dapat digunakan untuk membedakan antara kelompok bakteri atau spesies. Misalnya semua famili *Enterobacteriaceae* diklasifikasikan sebagai fermentor glukosa karena mereka dapat memetabolisme glukosa secara anaerob. Namun dalam famili ini fermentasi maltosa membedakan antara *Proteus vulgaris* (positif) dari *Proteus mirabilis* (negatif) (Reiner 2013). Dari hasil pengujian fermentasi karbohidrat, kedua bakteri mampu memfermentasi glukosa dan sukrosa, namun tidak mampu memfermentasi manitol dan laktosa. Bakteri A1 mampu

memfermentasi maltosa sedangkan bakteri A2 tidak. Uji indol dilakukan untuk mengetahui kemampuan organisme dalam mendegradasi asam amino triptofan dan menghasilkan *indole*. Hal ini digunakan sebagai bagian dari prosedur IMViC, sebuah tes yang dirancang untuk membedakan antara anggota keluarga *Enterobacteriaceae*. Pada pengujian yang dilakukan menunjukkan hasil uji indol kedua bakteri negatif (MacWilliams 2013). Hal ini berarti kedua bakteri tidak mampu mendegradasi asam amino triptofan karena tidak memiliki enzim triptonase yang dapat menghidrolisis asam amino jenis triptofan yang memiliki gugus samping indol sehingga indol.

Triple sugar iron (TSI) agar adalah media diferensial dalam tabung yang digunakan dalam menentukan fermentasi karbohidrat dan produksi H₂S. Gas dari metabolisme karbohidrat juga dapat dideteksi. Bakteri dapat memetabolisme karbohidrat secara aerobik (dengan oksigen) atau fermentatif (tanpa oksigen). TSI membedakan bakteri berdasarkan kemampuan mereka memfermentasi laktosa, glukosa dan sukrosa dan pada produksi hidrogen sulfida (H₂S) (Lehman 2013).

Uji TSIA pada kedua bakteri menunjukkan hasil K/A (basa/asam) dimana pada lereng media berwarna merah dan dasar media berwarna kuning. Namun tidak dihasilkan endapan berwarna hitam yang berarti kedua bakteri tidak memproduksi gas hidrogen sulfida (H₂S). Menurut Lehman (2013) reaksi K/A tanpa pembentukan H₂S menunjukkan bahwa bakteri hanya mampu memetabolisme glukosa. Bakteri dengan cepat memetabolisme glukosa awalnya memproduksi asam pada lereng dan dasar tabung, setelah inkubasi berlanjut glukosa dikonsumsi, dan karena bakteri tidak bisa menggunakan laktosa atau sukrosa maka pepton (asam amino) dimanfaatkan sebagai sumber energi secara aerobik di lereng tabung. Pemanfaatan pepton menyebabkan pelepasan amonia (NH₃) menyebabkan peningkatan pH sehingga saat ditambahkan indikator pH *phenol red*, berubah dari kuning ke merah. Di dasar tabung yang anerobik,

bakteri memetabolisme glukosa memproduksi ATP dan piruvat, yang diubah menjadi produk akhir asam stabil sehingga dasar tabung tetap asam.

Uji *methyl red* dan *voges proskauer* merupakan bagian dari serangkaian tes biokimia dikenal sebagai IMViC digunakan di laboratorium klinis. IMViC merupakan akronim dari indole, *methyl red*, *voges-proskauer* and *citrate*. Awalnya tes MR-VP dipasangkan digunakan untuk membedakan antara anggota keluarga *Enterobacteriaceae*, tapi sekarang mereka digunakan untuk mengkarakterisasi kelompok lain dari bakteri termasuk *Actinobacteria* (McDevitt 2013). Uji *methyl red* pada bakteri A1 dan A2 menunjukkan hasil positif. Hasil positif yang ditandai perubahan warna medium menjadi merah setelah ditambahkan *methyl red* menunjukkan pH medium di bawah 4,4 yang dihasilkan dari fermentasi glukosa.

Bakteri memfermentasi gula melalui jalur butanadiol memproduksi asetoin (yaitu, asetil metil carbinol atau 3-hydroxybutanone) sebagai perantara yang dapat lebih direduksi menjadi 2,3-butanadiol (McDevitt, 2013). Hasil uji *voges proskauer* kedua bakteri negatif, hal ini berarti bakteri tidak dapat memproduksi asetoin dari jalur butanadiol.

Tes diferensial *litmus milk* ini membedakan organisme yang dapat memfermentasi laktosa. Fermentasi laktosa menyebabkan penurunan pH yang menyebabkan lakmus berubah dari ungu menjadi merah muda. Reduksi lakmus menyebabkan lakmus menjadi putih. Selain itu, tes ini dapat membedakan organisme yang mengendapkan kasein. Kadang-kadang akumulasi hasil fermentasi laktosa berikut asam dapat menyebabkan pengendapan kasein, membentuk bekuan asam. Jika kasein sudah benar-benar dihidrolisis, NH dilepaskan dan medium berubah 3 warna menjadi coklat (Bollenbach 2010).

Pada pengujian *litmus milk* kedua bakteri tidak terjadi perubahan warna yang berarti hasil uji negatif. Hasil ini menunjukkan bahwa kedua bakteri tidak dapat memfermentasi laktosa, tidak dapat mereduksi litmus dan tidak dapat mengendapkan *casein*. Pengujian *bile esulin*

kedua bakteri menunjukkan hasil positif; terbentuknya warna hitam pada medium. Organisme menghidrolisis esculin menjadi 6,7 dihydroxycoumarin. Kumarin kemudian bergabung dengan besi sehingga medium berubah warna menjadi hitam (Lindell dan Quinn 1975).

Berdasarkan uji motilitas yang telah dilakukan bakteri A1 dan A2 bersifat motil. Motilitas pada bakteri dapat disebabkan oleh berbagai mekanisme, tetapi yang paling umum melibatkan *flagella*. Kehadiran *flagella* terjadi terutama pada *bacil* tetapi ada beberapa pada *coccus* (Shields dan Cathcart 2013). Bakteri A1 dan A2 tidak dapat memetabolisme sitrat untuk dijadikan sebagai sumber karbon dan energi. Bakteri A1 dan A2 juga tidak dapat mendegradasi untuk menghasilkan *phenylalanine deaminase*.

Kedua bakteri tidak tumbuh pada media *Mckonkey agar*, hal ini disebabkan media *Mckonkey agar* digunakan untuk isolasi bakteri gram negatif enterik dan diferensiasi fermentasi laktosa dari bakteri gram negatif non-fermentasi laktosa. Media ini umum digunakan untuk membedakan bakteri dengan kemampuan mereka untuk memfermentasi gula selain laktosa. Dalam kasus ini laktosa diganti dengan lain. *Mckonkey agar* merupakan media yang dimodifikasi digunakan untuk membedakan bakteri gram negatif atau untuk membedakan antara fenotip dengan mutasi yang menunjukkan berbagai kemampuan bakteri untuk memfermentasi gula tertentu (Allen 2013). Bakteri A2 mampu menghidrolisis urea untuk menghasilkan amonia dan karbon dioksida, sedangkan bakteri A1 tidak mampu menghidrolisis urea.

Hasil pengujian aktivitas biokimia kedua isolat bakteri menunjukkan hasil yang sama hampir di setiap ujinya, perbedaan hanya terdapat pada uji fermentasi maltose dimana isolat A1 menunjukkan reaksi positif sedangkan isolat A2 negatif. Hasil uji urea isolat A1 menunjukkan reaksi negatif sedangkan isolat A2 positif. Setelah dicocokkan dengan *Gradwob and Diagnosis* diduga kedua bakteri merupakan jenis *Bacillus subtilis*.

Adanya perbedaan reaksi biokimia dari kedua isolat menunjukkan bahwa kedua isolat memiliki strain yang berbeda. Hartsock (2015) menggambarkan bahwa dua sel bakteri dikatakan sebagai anggota dari spesies yang sama jika memiliki kesamaan genom yang tinggi. Misalnya dua bakteri memiliki kesamaan 95% dianggap memiliki spesies yang sama, adanya perbedaan 5% antara spesies yang sama tersebut dapat mencakup banyak strain bakteri yang berbeda. Perbedaan strain pada spesies yang sama menyebabkan perbedaan atribut bakteri, misalnya perbedaan dalam kemampuan metabolik seperti kemampuan memecah gula tertentu, hal ini disebabkan masing-masing strain memiliki gen yang berbeda.

Didapatkannya *Bacillus subtilis* sebagai bakteri resisten merkuri dari perairan didukung oleh penelitian Arinda dan Shovitri (2012) yang menyatakan bahwa bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus cereus* hasil isolasi dari Kali Mas Surabaya merupakan golongan bakteri dengan resistensi tinggi terhadap merkuri (*Bacteria Highly Resistant to Mercury* atau BHRM) dimana Kali Mas Surabaya memiliki kandungan merkuri yang cukup tinggi yaitu sebesar 6,38 ppm.

Sholikah dan Kuswyasari (2012) mengungkapkan bahwa bakteri genus *Bacillus* merupakan bakteri yang cukup melimpah di alam, dapat diisolasi dari berbagai habitat termasuk lingkungan yang tercemar merkuri. Pendapat ini didukung oleh penelitian Buthelezi *et al.* (2009) yang mengisolasi berbagai jenis bakteri dari instalasi pembuangan air limbah (IPAL) penduduk, salah satu bakteri merupakan jenis *Bacillus subtilis*.

Pratiwi (2012) menemukan bakteri *Bacillus subtilis* pada tanah di daerah pertambangan yang memiliki kandungan merkuri sebesar 0,01 ppm. Penelitian-penelitian sebelumnya tentang bakteri dari genus *Bacillus* dengan berbagai spesies sebagai bakteri resisten merkuri telah banyak dilakukan. Shovitri *et al.*, (2010) berhasil mengisolasi *Bacillus* dari sampel air Kali Mas Surabaya yang mampu tumbuh pada konsentrasi $HgCl_2$ 10 ppm. Manampiring dan

Keppel (2010) mengisolasi bakteri dari sedimen Sungai Tondano Manado yang salah satunya merupakan jenis *Bacillus cereus* yang mampu tumbuh pada konsentrasi HgCl_2 0,02%. Penelitian Badjoeri dan Zarkasyi (2010) menghasilkan isolat bakteri *Bacillus megaterium* yang diisolasi dari air di perairan Sungai Cisadane yang mampu beradaptasi dengan konsentrasi merkuri 10 ppm.

Pengujian Daya Reduksi Merkuri

Konsentrasi merkuri diukur untuk mengetahui persen reduksi isolat *Bacillus subtilis* dari sampel air dan sedimen. Reduksi ditunjukkan dengan menurunnya konsentrasi merkuri setelah media ditumbuhi isolat bakteri selama 24 jam. Media yang digunakan adalah NB yang mengandung HgCl_2 10 ppb, kontrol A0 digunakan sebagai konsentrasi awal merkuri. Hasil perhitungan konsentrasi merkuri pada media dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 menunjukkan hasil perhitungan daya reduksi merkuri dimana sampel A0 adalah media kontrol yang tidak ditumbuhi bakteri, sampel A1 adalah media yang ditumbuhi bakteri *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari air pada konsentrasi 0,2 ppm dan sampel A2 adalah media yang ditumbuhi bakteri *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari sedimen pada konsentrasi 0,2 ppm. Dari Tabel 3 terlihat adanya penurunan konsentrasi merkuri pada ketiga sampel. Daya reduksi terendah diperoleh dari sampel A1 yaitu sebesar 39,26% dan daya reduksi tertinggi diperoleh dari media A2 yaitu sebesar 65,93%. Persen reduksi merkuri oleh media kontrol tanpa isolat A0 sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan media A1 dengan isolat *Bacillus subtilis* dari air.

Penurunan konsentrasi merkuri pada media kontrol tanpa isolat ini menunjukkan adanya reduksi merkuri secara abiotik (Vetriani et al. 2005). Hal ini juga terjadi pada penelitian-penelitian sebelumnya, diantaranya penelitian oleh Giolmour et al. (2011); media tanpa isolat mampu menurunkan konsentrasi metil merkuri sebesar 20% dan media dengan isolat bakteri menurunkan konsentrasi merkuri sebesar 30%. Vetriani et al. (2005)

menemukan terjadi penurunan konsentrasi HgCl_2 pada media steril tanpa isolat sebesar 34% dalam waktu inkubasi selama 3 hari, namun media dengan kultur bakteri resisten merkuri menurunkan konsentrasi HgCl_2 lebih signifikan.

Vetriani et al. (2005) mengemukakan bahwa berbagai transformasi kimia yang dirangsang dengan adanya bahan organik dapat menjelaskan hilangnya Hg (II) secara nonbiologis dari media kontrol tanpa isolat. Menurut Barkay et al., (2003) secara abiotik Hg (II) dapat tereduksi dengan transformasi fotokimia atau reaksi gelap. Fotoreduksi Hg (II) adalah karena radikal bebas organik yang dihasilkan oleh fotolisis dari karbon organik terlarut, oksigen terlarut, karbon organik kompleks, dan koordinasi senyawa Fe (III) – asam organik. Dalam gelap. Hg (II) dapat tereduksi oleh fulvat dan asam humat bergabung dengan radikal bebas.

Menurut Sholikhah dan Kuswytasari (2002), kemungkinan lain yang menyebabkan pengurangan konsentrasi Hg (II) pada medium yaitu adanya (II) yang berikatan dengan komponen medium *Nutrient Broth* (NB) yaitu pepton dan meat extract. Ion Hg (II) akan berikatan dengan ion yang bermuatan negatif penyusun pepton dan *meat extract*. Pepton merupakan produk hidrolisis protein hewani atau nabati seperti otot, liver, darah, susu, casein, lactalbumin, gelatin dan kedelai. Sedangkan *Meat extract* mengandung basa organik terbuat dari otak, limpa, plasenta dan daging sapi. Dari seluruh komponen penyusun *Nutrient Broth* tersebut terdapat gugus protein. Protein sendiri terdiri dari protein struktural dan protein fungsional. Salah satu protein fungsionalnya yaitu enzim metaloprotease. Metaloprotease merupakan enzim protease (pendegradasi protein) yang paling banyak ditemukan dan dicirikan oleh kebutuhan adanya ion logam untuk aktivitasnya sehingga keberadaan logam Hg dalam medium berkurang.

Media *nutrien broth* yang digunakan terdiri dari pepton water, *beef extract* dan NaCl, dari komposisi ini media NB memiliki kandungan protein yang tinggi.

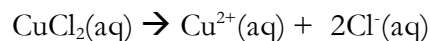
protein merupakan polimer dari monomer-monomer asam amino yang dihubungkan satu sama lain dengan ikatan peptida. Molekul protein mengandung karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen dan kadang kala sulfur serta fosfor. Atom sulfur pada asam amino *cystein* dan *methionin* akan berikatan dengan merkuri karena merkuri-merkuri memiliki afinitas tinggi terhadap sulfur (Acton 2013). Menurut Mecola (2015) salah satu usaha untuk mendetoksifikasi kandungan merkuri di dalam tubuh dapat dilakukan dengan cara mengkonsumsi makanan yang mengandung protein tinggi karena asam amino pada protein dapat menjadi fasilitator yang sangat baik untuk mendetoksifikasi merkuri.

Konsentrasi merkuri pada sampel A1 (media yang ditumbuhi bakteri *Bacillus subtilis* dari air) dan A2 (media yang ditumbuhi bakteri *Bacillus subtilis* dari sedimen) mengalami penurunan dari konsentrasi awal, persen reduksi tertinggi ditunjukkan oleh bakteri *Bacillus subtilis* dari sedimen (A2). Persen reduksi terendah ditunjukkan pada penambahan bakteri A1, perbedaan kemampuan kedua bakteri dalam mereduksi merkuri kemungkinan disebabkan karena kedua bakteri berasal dari strain yang berbeda. Hartsock (2015) mengungkapkan bahwa perbedaan strain pada spesies yang sama menyebabkan perbedaan atribut bakteri, misalnya perbedaan dalam kemampuan metabolik seperti kemampuan memecah gula tertentu, hal ini disebabkan masing-masing strain memiliki gen yang berbeda.

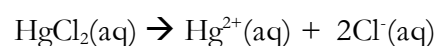
Penurunan konsentrasi merkuri oleh bakteri terjadi karena bakteri yang resisten merkuri memiliki gen resisten merkuri, *mer*Operon (Silver dan Phung 1998). *Mer*Operon terdiri dari sekelompok gen yang mengkode protein dengan fungsi regulasi, transportasi, dekomposisi dan reduksi merkuri (Narita *et al.* 2003). Umumnya struktur *mer*Operon terdiri dari gen metaloregulator (*merR*), gen transfer merkuri (*merT*, *merP*, *merC*), gen merkuri reduktase (*merA*) dan organomercuri liase (*merB*).

Di dalam larutan, zat elektrolit CuCl_2 terionisasi menjadi ion positif (Cu^{2+}) dan

ion negatif (Cl^-) dengan reaksi ionisasi sebagai berikut:



Hasil ionisasi tersebut adalah ion Cu^{2+} dan ion Cl^- yang dalam larutan akan bergerak bebas secara acak diantara molekul-molekul air (Parning *et al.* 2006). Diduga mekanisme yang sama terjadi pada HgCl_2 di air, HgCl_2 terionisasi menjadi ion positif (Hg^{2+}) dan ion negatif (Cl^-) dengan reaksi ionisasi sebagai berikut:



Ion Hg^{2+} dan ion Cl^- yang bergerak bebas secara acak di antara molekul-molekul air dimanfaatkan oleh bakteri. Mekanisme reduksi Hg^{2+} secara enzimatik terjadi melalui beberapa tahapan. Proses diawali dengan masuknya ion Hg^{2+} ke dalam sel. *MerP* merupakan protein periplasma yang berfungsi untuk menyimpan sementara Hg^{2+} di periplasma kemudian melewati ion Hg^{2+} ke *transporter inner membrane* yaitu *merT*. Dari *merT*, ion Hg^{2+} akan menuju merkuri reduktase; sisi pengikatan substratnya terdapat pada bagian C-terminus. Disini Hg^{2+} akan direduksi menjadi Hg^0 dengan adanya transfer elektron dengan NADPH sebagai donor elektron dan Hg^{2+} sebagai akseptor elektron (Brown *et al.* 2002).

Senyawa ion metil merkuri yang ada dalam badan perairan akan dimakan oleh biota perairan seiring dengan sistem rantai makanan di air dan sebagian besar mengendap dalam sedimen sehingga konsentrasi merkuri di sedimen akan lebih tinggi dari pada di air. Semakin tinggi konsentrasi merkuri menyebabkan semakin tinggi resistensi bakteri, hal ini diduga menyebabkan besarnya daya reduksi oleh bakteri yang berasal dari sedimen dibandingkan bakteri yang berasal dari air Sungai Musi.

KESIMPULAN

Bakteri resisten merkuri dari air dan sedimen di Pulau Banjar (Pulau Salah Nama) mampu tumbuh pada konsentrasi merkuri 0,2 ppm, bakteri resisten merkuri yang

berhasil diisolasi adalah jenis *Bacillus subtilis*, Daya reduksi merkuri tertinggi didapatkan dari bakteri *Bacillus subtilis* sedimen yaitu 65,93%, daya reduksi terendah oleh bakteri *Bacillus subtilis* yaitu 39,26%, dan media kontrol tanpa isolat dapat menurunkan konsentrasi merkuri sebesar 39,44%.

DAFTAR PUSTAKA

- Acharya T. 2012. Oxidase test: Principle Procedure and oxidase positive organisms. <http://microbeonline.com/oxidase-test-principle-procedure-and-oxidase-positive-organisms>. [19 Desember 2015].
- Acton QA. 2013. Amines Advances in Research and Application: 2013 Edition. Hal. 296. https://books.google.co.id/books?id=6wzL16BDWHIC&dq=mercury+affinity+for+sulfur&hl=id&source=gbs_navlinks_s. [18 November 2015].
- Allen ME. 2013. MacConkey Agar Plates Protocols. *ASM Microbelibrary*. [Http://www.microbelibrary.org/component/resource/laboratory-test/2855-macconkey-agar-plates-protocols](http://www.microbelibrary.org/component/resource/laboratory-test/2855-macconkey-agar-plates-protocols). [21 Desember 2015].
- Anonim 2015. *Gram Positive Bacilli*. [Http://www.microbiology.free.fr/Presentation/s/g+bacilli.pdf](http://www.microbiology.free.fr/Presentation/s/g+bacilli.pdf). [29 Desember 2015].
- Arinda T. dan M Shovitri. 2012. Tingkat Resistensi Merkuri dan Variasi Fragmen Genom Bakteri *Bacillus* dari Kali Mas Surabaya. Tugas Akhir. Surabaya: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh November.
- Badjoeri M. dan Zarkasyi H. 2010. Isolasi dan seleksi bakteri bioremoval logam berat merkuri. *Prosiding Seminar Nasional Limnologi V*.
- Bambang P. 2012. Teknik bioremediasi sebagai alternatif dalam upaya pengendalian pencemaran air. *Jurnal Ilmu Lingkungan* 1(1):38-48.
- Bandow JE, Brötz H, Hecker H. 2002. *Bacillus subtilis* tolerance of moderate concentrations of rifampin involves the b-dependent general and multiple stress response. *J Bacteriol.* 184(2):459-467.
- Barkay T, Döbler W. 2005. Microbial Transformations of Mercury: Potentials, Challenges, and Achievements in Controlling Mercury Toxicity in the Environment. *Adv Appl Microbiol.* 57:1-52.
- Barkay T, Miller SM, Summers AO. 2003. Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems. *FEMS Microbiol. Rev.* 27:355-384.
- Bollenbach E. 2010. Reactions in Litmus Milk. *ASM Microbelibrary*. <http://www.microbelibrary.org/library/laboratory%20test/2733-reactions-in-litmus-milk>. [20 Desember 2015].
- Brown NL, Shih YC, Glendinning KJ, Hobman JL, Wilson JR. Mercury Transport and Resistance. *Biochem Soc Trans.* 30:715-718.
- Buthelezi SP, Olaniran AO, Pillay B. 2009. Turbidity and antimicrobial load removal from river water using bioflocculant from indigenous bacteria isolated from wastewater in South Africa. *African Journal of Biotechnology.* 8(14):3261-3266.
- De J. 2004. Mercury-resistant marine bacteria and their role in bioremediation of certain toxicants. [Tesis]. India: National Institute of Oceanography Goa University.
- Dirayah R., Husain dan IH Muchtar. 2005. Bakteri pengkompleks logam pb dan cd dari limbah cair PT kawasan industri Makassar. *Marina Chimica Acta.* 6(1):25-28.
- Dwyana S, Fahrudin. 2012. Uji resistensi antibiotik pada bakteri resisten merkuri (Hg) yang di isolasi dari kawasan Pantai Losari Makassar. *Jurnal Sainsmat.* 1(2):199-204.
- Emilia I, Suheryanto, Hanafiah Z. 2013. Distribusi logam kadmium dalam air dan sedimen di Sungai Musi Kota Palembang. *JPS.* 16(2):59- 64.
- Fatimawali, Badaruddin F dan Yusuf I. 2011. Isolasi dan identifikasi bakteri resisten merkuri dari muara sungai sario yang dapat digunakan untuk detoksifikasi limbah merkuri. *Jurnal Ilmiah Sains* 11:281-288.
- Gilmour CC, Elias DA, Kucken AM. Brown SD, Palumbo AV, Schadt CW, Wall

- JD. 2011. Sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio desulfuricans* ND132 as a model for understanding bacterial mercury methylation. *Appl Environ Microbiol.* 77(12):3938-3951.
- Hartsock A. 2015. *E. Coli*: Common strains and pathogenic varieties of *E. Coli* Bacteria. [Http://study.com/academy/lesson/e-coli-common-strains-and-pathogenic-varieties-of-e-coli-bacteria.html](http://study.com/academy/lesson/e-coli-common-strains-and-pathogenic-varieties-of-e-coli-bacteria.html) [22 November 2015].
- Holm HW, Cox MF. 1974. Transformation of elemental mercury by bacteria. *Applied Microbiology.* 29(4):491-494.
- Hughes MN. dan RK Poole. 1989. *Metals and microorganism*. London: Chapman and Hall.
- Ijong FG. 2011. Laju reduksi merkuri oleh *Pseudomonas* diisolasi dari perairan Pantai Teluk Manado. *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis.* 7(2):66-727.
- Ijong FG dan Dien HA. 2011. Karakteristik bakteri pereduksi merkuri (*Escherichia coli*) diisolasi dari perairan Pantai Teluk Manado. *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis* 7(3):103-108.
- Kanzil T., Fatimawali. dan Manampiring A. 2015. Uji resistensi bakteri *Bacillus* sp. yang diisolasi dari plak gigi terhadap merkuri dan eritromisin. *Jurnal E-Biomedik.* 3(1):80-83.
- Lasut M. 2011. *Penurunan Kualitas Lingkungan Akibat Aktivitas Tambang*. Jakarta: Aksara Karunia.
- Lehman D. 2013. Triple Sugar Iron Agar Protocols. *ASM Microbelibrary.* <http://www.microbelibrary.org/component/resource/laboratory-test/2842-triple-sugar-iron-agar-protocols>. [20 Desember 2015].
- Lestaris T. 2010. faktor-faktor yang berhubungan dengan keracunan merkuri (Hg) pada penambang emas tanpa ijin (peti) di Kecamatan Kurun, Kabupaten Gunung Mas, Kalimantan Tengah. [Tesis]. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Lindell SS dan Quinn P. 1975. Use of bile-esculin agar for rapid differentiation of Enterobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology.* 1(5):440-443.
- Manampiring AE. dan Keppel BJ. 2011. Studi populasi bakteri resisten merkuri di daerah aliran Sungai Tondano, Kelurahan Ketang Baru, Manado. *Jurnal Ilmiah Sains* 11: 26-30.
- MacWilliams MP. 2013. Indole Test Protocol. *ASM Microbelibrary.* [Http://www.microbelibrary.org/component/resource/laboratory-test/3202-indole-test-protocol](http://www.microbelibrary.org/component/resource/laboratory-test/3202-indole-test-protocol). [20 Desember 2015].
- McDevitt S. 2013. Methyl Red and Voges-Proskauer Test Protocols. *ASM Microbelibrary.* <http://www.microbelibrary.org/component/resource/laboratory-test/3204-methyl-red-and-voges-proskauer-test-protocols>. [20 Desember 2015].
- Mecola J. 2015. *Mercury Detoxification Protocol.* https://www.mecola.com/article/mercury/detox_protocol.htm. [25 November 2015].
- Mahon, Manuselis. 2011. *Gram Positive Bacilli. CLS 418 Clinical Microbiology I Student Laboratory 2nd Edition.*
- Narita M, Chiba K, Nishizawa H, Ishii H, Huang CC, Kawabata Z, Silver S, Endo G. 2003. Diversity of mercury resistance determinants among *Bacillus* strains isolated from sediment of Minamata Bay. *FEMS Microbiology Letters.* 223:73-82.
- Nurlailah. 2013. Pengaruh penambahan berbagai konsentrasi merkuri (Hg) terhadap dinamika bakteri pereduksi merkuri (Hg) pada air sumur. [Skripsi]. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 82 Tahun 2001. *Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air*. Jakarta: Presiden Republik Indonesia.
- Probiotic.org. 2009. *Bacillus Subtilis.* [Http://www.probiotic.org/bacillus-subtilis.htm](http://www.probiotic.org/bacillus-subtilis.htm). [18 November 2015].
- Prasojo HW, Syamsuri I, Sueb. 2013. Analisis kadar merkuri (Hg) *Gracilaria* sp. di tambak Desa Kupang Sidoarjo. *Penelitian Ilmu Hayati.* Malang: Universitas Negeri Malang.
- Pratiwi AY. 2012. Penapisan bakteri resisten terhadap merkuri sebagai alternatif agen bioremediasi pada pencemaran

- tanah pertambangan. [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Reiner C. 2013. Carbohydrate Fermentation Protocol. *ASM Microbelibrary*. <http://www.microbelibrary.org/library/laboratory-test/3779-carbohydrate-fermentation-protocol>. [20 Desember 2015].
- Ruslan. 2010. Kajian penyebaran merkuri di aliran Sungai Poboya Kotamadya Palu. Palu: FMIPA, Universitas Tadulako.
- Setiawan AA, Emilia I, Suheryanto. 2013. Kandungan merkuri total pada berbagai jenis ikan *catfish* di Perairan Sungai Musi Kota Palembang. Makalah di *Seminar Nasional Sains dan Teknologi V*. Lembaga Penelitian Universitas Lampung, 19-20 Nopember 2013: 741-750.
- Shields P, Cathcart L. 2013. Motility Test Medium Protocol. *ASM Microbelibrary*. [Http://www.microbelibrary.org/library/laboratory-test/3658-motility-test-medium-protocol](http://www.microbelibrary.org/library/laboratory-test/3658-motility-test-medium-protocol). [20 Desember 2015].
- Sholikah U. dan Kuswytasari ND. 2012. Uji potensi genera *Bacillus* sebagai bioakumulator merkuri. [Tugas akhir]. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Shovitri M, Zulaika E, dan MP Koentjoro. 2010. Bakteri Tahan Merkuri dari Kalimas Surabaya Berpotensi Sebagai Agen Bioremediasi Merkuri. *Berkala Penelitian Hayati*.
- Silver S, Phung LT. 1996. Bacterial heavy metal resistance. *Annual. Rev. Microbiol.* 50:753-789.
- Smit E, Wolters A, Elsas JDV. 1998. Self-transmissible Mercury Esistance Plamids with Gene Mobilizing Capacity in Soil Bacterial Populations: Influence of Wheat Roots and Mercury Addition. *Appl. Environ Microbiol.* 64:1210-1219.
- Sonnenwirth AC, Jarett L. 1980. *Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis Volume 2*. Mosby-Year Book.
- Vetrian C, Chew YS, Miller SM, Yagi J, Coombs J, Lutz RA, Barkay T. 2005. Mercury Adaptation among Bacteria from a Deep-Sea Hydrothermal Vent. *Appl Environ Microbiol.* 71(1):220-226.
- Widhiyatna D. 2005. Pendataan penyebaran merkuri akibat pertambangan emas di Daerah Tasikmalaya, Provinsi Jawa Barat. *Kolokium Hasil Lapangan-DIM 2005*.