

Resistensi dan Viabilitas *Bacillus* S1, SS19 dan DA11 pada Medium yang Terpapar Logam Kadmium (Cd)

Trio Verdian dan Enny Zulaika

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia

e-mail: enny@bio.its.ac.id

Abstrak— Keberadaan logam berat di lingkungan memiliki efek toksik. Upaya untuk mengurangi efek toksik di lingkungan salah satunya menggunakan mikroorganisme yang resisten logam berat. *Bacillus* S1, SS19 dan DA11 resisten logam kadmium, apakah isolat *Bacillus* tersebut juga mempunyai viabilitas yang tinggi pada media yang terpapar logam Cd. Uji rekonfirmasi untuk resistensi genus *Bacillus* S1, SS19 dan DA11 menggunakan media *nutrient agar* yang mengandung $CdCl_2$ dengan konsentrasi 10, 20 mg/L dan seterusnya sampai konsentrasi yang dapat ditoleransi isolat. Uji viabilitas dilakukan pada media *nutrient broth* yang dipapar $CdCl_2$ dengan konsentrasi 10, 20 dan 30 mg/L. Viabilitas divisualisasi dengan bentuk kurva pertumbuhan. Semua isolat *Bacillus* S1, SS19 dan DA11 resisten pada media *nutrient agar* yang mengandung $CdCl_2$ sampai dengan konsentrasi 30 mg/L.

Kata Kunci : *Bacillus*, Kadmium, Logam Berat, Resistensi

I. PENDAHULUAN

KADMIUM merupakan unsur kimia dalam tabel periodik yang memiliki lambang Cd dan nomor atom 48 dengan masa jenis $8,65 \text{ g/cm}^3$ [1]. Kadmium termasuk ke dalam golongan logam berat karena memiliki massa jenis lebih dari 5 g/cm^3 [2]. Logam berat kadmium bersifat toksik bagi makhluk hidup walaupun dalam konsentrasi yang rendah dan tidak dapat didegradasi sehingga selalu ada di lingkungan dalam keadaan persisten [3].

Keberadaan kadmium di lingkungan diakibatkan oleh kegiatan antropogenik. salah satunya berasal dari industri *electroplating* [4]. Kadmium memiliki efek toksik yang sangat tinggi dan memiliki waktu paruh yang panjang di dalam tubuh organisme [5]. Efek toksik dari kadmium disebabkan antara kadmium dan gugus fungsional protein dapat membentuk ikatan ligan sehingga protein tersebut kehilangan fungsinya [6]. Kadmium tidak memiliki fungsi biologis di dalam sel tetapi memiliki sifat reaktif yang sangat tinggi dan dapat menginaktifkan berbagai macam aktivitas enzim yang diperlukan [7].

Upaya yang dilakukan dalam menanggulangi pencemaran logam berat dengan melakukan remediasi, salah satunya menggunakan mikroorganisme yang dikenal dengan metode bioremediasi. [8]. Beberapa bakteri resisten terhadap kadmium, di antaranya *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*

[9]. Isolat *Bacillus* yang diisolasi dari Sungai Kalimas Surabaya resisten terhadap logam berat Cd tetapi belum diketahui viabilitasnya ketika tercekam Cd.

II. METODOLOGI PENELITIAN

A. Rekonfirmasi Uji Resistensi Isolat *Bacillus* Terhadap Cd

Isolat *Bacillus* umur 24 jam dengan kode S1, S6, SS19, DA11, A6, dan *Bacillus cereus* ATCC 1178 sebagai kontrol ditumbuhkan di pada media *nutrient agar*- $CdCl_2$ dengan metode *continue streak plate*. Konsentrasi $CdCl_2$ yang digunakan mulai dari 10 mg/L meningkat sampai dengan konsentrasi yang dapat ditoleransi bakteri. Kultur diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Koloni yang tumbuh merupakan isolat yang resisten terhadap $CdCl_2$.

B. Uji Viabilitas Isolat *Bacillus* yang Tercekam $CdCl_2$

Berdasar uji resistensi dipilih 3 isolat yang lebih resisten dibanding isolat yang lain untuk diuji viabilitasnya pada media *nutrient broth* yang mengandung $CdCl_2$ dengan konsentrasi 10, 20 dan 30 mg/L.

Satu ose isolat diinokulasi secara aseptis ke dalam 10 ml media *nutrient broth* -Cd dan diinkubasi selama 24 jam di atas *rotary shaker*. Selanjutnya 10 ml kultur ditambahkan ke dalam 90 ml media *nutrient broth*-Cd dan diinkubasi selama 24 jam di atas *rotary shaker*. Diambil 20 ml kultur dan ditambahkan ke dalam 180 ml media *nutrient broth*-Cd dengan konsentrasi 10, 20 dan 30 mg/L dan diinkubasi selama 24 jam di atas *rotary shaker*. Selanjutnya diukur *optical density* (OD) dengan spektrofotometer ($\lambda = 600 \text{ nm}$). Pengukuran OD dilakukan setiap setengah jam dari jam ke-0 sampai dengan jam ke-4, setelah jam ke-4 dilakukan pengukuran setiap 2 jam sekali. Viabilitas isolat divisualisasikan ke dalam kurva pertumbuhan.

III. HASIL DAN DISKUSI

A. Resistensi *Bacillus* Terhadap $CdCl_2$

Hasil uji resistensi yang diperoleh menunjukkan isolat *Bacillus* tumbuh sangat baik pada medium *nutrient agar* yang mengandung logam Cd konsentrasi 10, 20 dan 30 mg/L. Sedangkan pada konsentrasi 40 mg/L semua isolat *Bacillus* tumbuh kurang baik kecuali isolat *Bacillus* A6 dan S6. Pada

konsentrasi 50 mg/L hanya isolat *Bacillus* DA11 dan *B. cereus* yang tumbuh dan pertumbuhannya kurang baik, sedangkan isolat A6, S6, S1 dan SS19 tidak tumbuh sama sekali. Hasil uji resistensi dapat dilihat dalam Tabel 1.

Tabel 1. Resistensi *Bacillus* Terhadap CdCl₂

Isolat <i>Bacillus</i>	Pertumbuhan isolat pada medium nutrient agar yang mengandung CdCl ₂ (mg/L)				
	10	20	30	40	50
A6	+++	+++	+++	-	-
DA11	+++	+++	+++	++	+
S1	+++	+++	+++	++	-
S6	+++	+++	+++	-	-
SS19	+++	+++	+++	+	-
<i>B. cereus</i>	+++	+++	+++	++	+

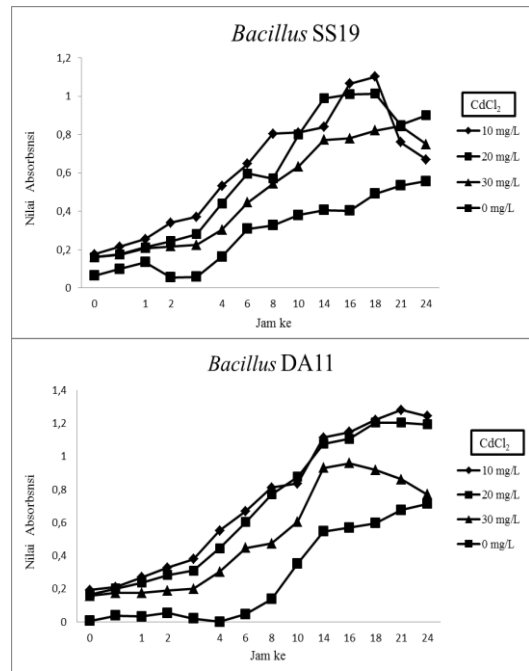
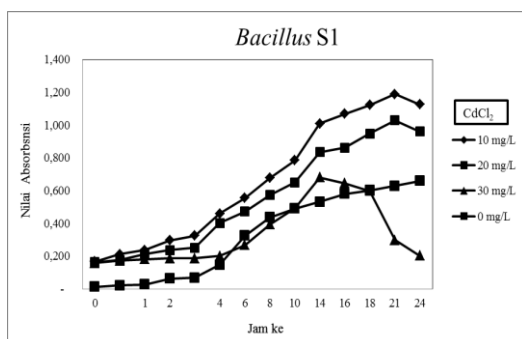
Keterangan: +++ (sangat baik), ++ (baik), + (kurang baik), - (tidak tumbuh)

Mekanisme resistensi bakteri terhadap logam berat kadmium (Cd) dapat dilakukan dengan bantuan protein metallothionein. Ion logam berat akan berikatan dengan kelompok gugus (-SH) pada protein metallothionein sehingga dapat menghambat aktivitas dan fungsi enzim yang mengandung gugus (-SH). Kation dipisahkan menjadi senyawa kompleks dengan tiol, sehingga toksisitas ion logam berat dapat dikurangi atau bahkan hilang [11]. Protein metallothionein yang berikatan dengan logam pada sel bakteri memiliki batas maksimum. Hal ini direspon bakteri dengan meningkatkan pembelahan sel untuk memperbanyak produksi Protein metallothionein. Menurut [12] bakteri Gram positif memiliki kemampuan lebih tinggi dalam mengikat logam dibandingkan bakteri Gram negatif disebabkan adanya gugus karboksil yang lebih banyak pada dinding sel bakteri Gram positif.

Berdasar uji resistensi. Isolat yang diuji viabilitasnya pada media *nutrien broth* yang mengandung logam Cd adalah isolat *Bacillus* S1, SS19 dan DA11.

B. Viabilitas Isolat *Bacillus* yang Tercekam CdCl₂

Hasil kurva pertumbuhan *Bacillus* S1, SS19 dan DA11 yang terpapar logam Cd dengan konsentrasi 10, 20 dan 30 mg/L menunjukkan pola pertumbuhan yang hampir sama dengan pola pertumbuhan pada medium tanpa logam (Gambar 1).



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan *Bacillus* S1, SS19 dan DA11 tercekam logam Cd

Berdasarkan Gambar 1, fase lag ketiga isolat *Bacillus* yang terpapar logam sedikit lebih lambat dibanding pada medium tanpa logam (kontrol). Hal ini terjadi karena masing-masing isolat telah ditumbuhkan dalam medium *nutrient broth* tanpa logam, kemudian dipindah ke medium *nutrient broth* yang mengandung logam Cd. Penambahan logam Cd menyebabkan adanya adaptasi sehingga terjadi perlambatan fase lag. Adanya perbedaan lama fase lag dipengaruhi oleh konsentrasi logam Cd yang terdapat di dalam medium. Semakin tinggi konsentrasi logam Cd maka fase lag akan lebih panjang. [13] inokulasi kultur dari medium yang berbeda dapat memperpanjang fase lag.

Penambahan logam Cd ke dalam medium menyebabkan fase kematian lebih singkat dibandingkan dengan medium tanpa logam Cd. Fase kematian isolat *Bacillus* terjadi lebih cepat pada konsentrasi logam Cd 30 mg/L dibandingkan 20, 10 dan 0 mg/L. Paparan logam mengakibatkan bakteri merespon dengan meningkatkan jumlah pembelahan sel untuk produksi protein metallothionein yang mengandung gugus sulfhidril (-SH). Menurut [14] Cd merupakan logam berat yang memiliki efek toksisitas tinggi bagi organisme, bahkan pada tingkat konsentrasi yang rendah.

Logam berat dalam sel dapat berikatan dengan gugus sulfhidril (-SH) dari asam-asam amino sehingga menyebabkan terhambatnya kinerja enzim yang mempunyai gugus sulfhidril (-SH) dan mempunyai peranan penting dalam proses metabolisme sel. Selain itu, kerja ion-ion fisiologis dapat terganggu oleh adanya logam berat, seperti logam Cd yang mengganggu kerja ion Zn atau Ca. Hal ini disebabkan adanya kesamaan bilangan valensi antara logam Cd, Zn dan Ca. Senyawa oksianion logam berat apabila tereduksi dalam sel dapat menghasilkan radikal bebas yang akan berikatan dengan Deoxyribonucleic Acid (DNA) sehingga dapat mengakibatkan mutasi [11].

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan diskusi diatas maka kesimpulan dari penelitian adalah

- (1) Semua isolat *Bacillus* resisten pada media *nutrient agar* yang mengandung logam CdCl₂ sampai dengan 30 mg/L.
- (2) Isolat *Bacillus* S1, SS19 dan DA11 mempunyai viabilitas pada media *nutrient broth* yang mengandung CdCl₂ sampai dengan konsentrasi 30 mg/L.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis T.V mengucapkan terima kasih kepada Dr. Enny Zulaika, MP atas dukungan penelitian melalui pendanaan PNBPN ITS tahun anggaran 2015 sesuai nomor kontrak 003246.IT2.11/PN.08/2015

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Widowati W, Sastiono A, Jusuf R. R. 2008. Efek Toksik Logam Pencegahan dan Penanggulangan Pencemaran. Penerbit Andi. Yogyakarta.
- [2] Duruibe, J.O., Ogwuegbu, M.O.C., & Egwurugwu, J.N. 2007. Heavy Metal Pollution and Human Biotoxic Effects. Full Length Research Paper. International Journal of Physical Sciences, Vol 2 (5): 112-118
- [3] J. P. Chen, *Decontamination of Heavy Metals: Process, Mechanisms, and Applications*. Florida: Taylor & Francis Group (2012).
- [4] Chien, S.H., Carmona, G., Prochnow, L.L., & Austin, E.R. 2003. Cadmium Availability from Granulated and Bulk-Blended Phosphate-Potassium Fertilizers. J. Environ. Qual. 32: 1911-1914
- [5] Patrick, L. 2003. Toxic Metals and Antioxidants. Part II the Role of Antioxidant in Arsenic and Cadmium Toxicity – Toxic Metals part II. Review. Alternativer Medicine Review.
- [6] Alfian. 2005. Analisis Kadar Logam Kadmium (Cd²⁺) dari Kerang yang Diperoleh dari Daerah Belawan secara Spektrofotometer Serapan Atom. Jurnal Sains Kimia Vol 9, No.2: 73-76
- [7] Jonak, C., Nakagami, H., & Hirt, H. 2004. Heavy Metal Stress. Activation Mitogen-Activated Protein Kinase Pathways by Copper and Cadmium. Plant Physiology 136: 3276-3283.
- [8] Hatmanti A. 2000. Pengenalan *Bacillus* SPP. Balitbang Lingkungan Laut, Puslitbang Oseanologi-LIPI, Jakarta. Oseana, Volume XXV, Nomor 1, 2000 : 31-41
- [9] L. Yun-guo, F. Bao-ying, F. Ting, Z. Hai-zhou, and L. Xin, "Tolerance and Removal of Chromium (VI) by *Bacillus* sp. Strain YB-1 Isolated from Electroplating Sludge," *Trans Nonferrous Met. Soc. China*, Vol 18 (2008) 480-487.
- [10] Zulaika E., Luqman A., Arinda T., & Sholikah U. 2012. Bakteri Resisten Logam Berat yang Berpotensi Sebagai Biosorben dan Bioakumulator. Seminar Nasional *Waste Management for Sustainable Urban Development*. Teknik Lingkungan, FTSP-ITS, 21 Pebruari 2012
- [11] Nies, D.H. 1999. Microbial heavy metal resistance: molecular biology and utilisation for biotechnological processes. Appl. Microbiol Biotechnol. 51: 730-750.
- [12] Colak, F., Atarb, N., Yazicioglu, D. & Olgun, A. 2011. Biosorbition of lead from aqueous solution by *Bacillus* strains processing heavy-metal resistance. Chemical Engineering Journal, 173: 422 – 428
- [13] Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. 2002.. Microbiology, 5th Edition. New York: McGraw-Hill.
- [14] Almeida, J. A., Barreto, R.E., Novelli, L. B., Castro, F. J., and Moron, S. E. 2009. Oxidative Stress Biomarkers and Agressive Behavior in Fish Exposed to Aquatic Cadmium Contamination. Neotropical Ichthyology 7: 103-108