

KEMAMPUAN ISOLAT BAKTERI DARI SEDIMENT SITU SEBAGAI AQUATIC BIOREMOVAL AGENT ION LOGAM TIMBAL (Pb)

Awalina Satya dan Sekar Larashati

Pusat Penelitian Limnologi-LIPI, Kompleks LIPI Cibinong Life Science Center

awalina@gmail.com

ABSTRAK

Pencemaran logam berat di perairan danau atau situ telah umum terjadi yang biasanya timbul akibat kegiatan anthropogenic yang intensif di sekitarnya. Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan isolat bakteri yang dapat diimplementasikan penggunaanya sebagai bioremoval agent pada sistem pengolahan limbah atau lingkungan perairan danau atau situ yang tercemar oleh ion Pb. Pengambilan contoh sedimen dari Situ Cipondoh dan Situ Pamulang dilakukan pada 3 Desember 2008. Isolasi bakteri dilakukan dengan menggunakan metode 'pour plate'. Medium yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri adalah medium Nutrient Agar (NA) yang ditambahkan logam berat timbal (Pb) dengan variasi konsentrasi 10, 25 dan 50 mg/L. Pertumbuhan bakteri diamati pada umur 24-48 jam. Determinasi kandungan ion Pb dilakukan dengan Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometer (GrAAS) dengan didahului proses digesti-ekstraksi menggunakan larutan campuran aqua regia dan hydrogen peroxyde 30 % pada suhu 121°C dan tekanan 15 Psig selama 30 menit. Nilai recovery hasil pengukuran dengan Certified Reference Material SRM-NIST-1515 Apple leaves adalah 99,8 %. Hasil isolasi bakteri dari sampel sedimen situ Cipondoh dan situ Pamulang menunjukkan bahwa tidak ada bakteri yang tumbuh pada medium yang mengandung 50 mg Pb/L, namun isolat bakteri dari sedimen situ Pamulang dapat tumbuh pada medium yang mengandung 10 dan 25 mgPb/L. Isolat bakteri dari perairan situ Pamulang berpotensi untuk dijadikan agen bioremediasi Pb. Penurunan konsentrasi Pb dalam medium pertumbuhan bakteri yang tertinggi (100 %) dimiliki oleh isolat OPIN10. Akumulasi konsentrasi Pb dalam sel bakteri tertinggi (220,75 µg/g bobot basah sel) dimiliki oleh isolat OPIN25.

Kata Kunci: bioremoval, Pb, isolate bakteri, sedimen, Situ Cipondoh, situ Pamulang

ABSTRACT

Heavy metals pollution has been occurred widely moreover in places where anthropogenic activities are intensively occupy. The aim of this study was to obtain bacterial isolates which could be implemented as bioremoval agent on waste water treatment system or lakes water environment that have been polluted by the ion of lead (Pb). Sediment samples were taken from Situ Cipondoh dan Situ Pamulang in 3 December 2008. Bacterial isolation was conducted by 'pour plate' methods. Bacteria were grown in Nutrient Agar (NA) medium which spiked with Pb ions varied in 10, 25 and 50 mg/L concentrations. Bacterial growth observed in 24-48 hours ages. Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometer (GrAAS) was used to determine remaining Pb ion content in medium and in bacterial biomass preceded by extrcation-digestions process using aqua regia and hydrogen peroxyde 30 % solutions mixtures in 121°C temperature and pressures in 15 Pressure per squares inches (Psig) within 30 minutes. Measuring recovery using Certified Reference Material SRM-NIST-1515 Apple leaves was 99,8 %. The results show that bacterial isolates originate from situ Cipondoh dan situ Pamulang sediments were not capable to withstand in medium containing 50 mg Pb /L, however bacterial isolate of situ Pamulang sediment can survive in medium containing 10 and 25 mgPb/L. Bacterial isolate from situ Pamulang sediments suggested have potentially used as Pb ion bioremoval agent. The highest declining Pb concentration in bacterial grown medium (100 %) possesed by OPIN10 isolate. Highest accumulation of Pb in bacterial cells (220,75 µg/g dry weight) found in OPIN25 isolate.

Keywords: bioremoval agent, Pb, bacterial isolate, sediment, Situ Cipondoh, situ Pamulang

PENDAHULUAN

Diantara ke lima belas danau prioritas nasional tentu ada yang mengalami masalah pencemaran logam berat akibat kegiatan antropogenik yang intensif terjadi di sekitarnya. Masalah utama dari pencemaran logam berat (diantaranya adalah ion logam timbal (Pb)) adalah karena logam tersebut dapat terakumulasi dalam rantai makanan akuatik. Penggunaan bakteri sebagai metoda bioremoval mempunyai beberapa keuntungan, seperti biaya yang rendah, efisiensi yang tinggi, biosorbennya dapat diregenerasi, tidak perlu nutrisi tambahan, kemampuannya dalam me-recovery logam dan *sludge* yang dihasilkan sangat minim. Kebanyakan bakteri yang digunakan untuk bioremoval logam berat diisolasi dari tempat yang tercemar logam berat. Situ Cipondoh dan situ Pamulang adalah dua buah perairan situ terletak di tepi jalan raya kota Tangerang yang cukup ramai dan dikelilingi oleh pemukiman padat penduduk dengan berbagai aktifitas antropogenik yang diindikasikan telah menyumbangkan *input* Pb ke badan air tersebut. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan pengisolasian dan pengujian kemampuan bakteri dari sedimen Situ Cipondoh dan Situ Pamulang dalam menurunkan kuantitas ion Pb dalam media hidupnya.

Logam berat merupakan unsur berbentuk kation yang stabil dalam bentuk hidroksida dan oksida. Tembaga (Cu), seng (Zn), nikel (Ni) dan kobal (Co) adalah contoh logam berat yang tidak berbahaya dan menjadi “*trace element*” penting untuk metabolisme makhluk hidup dalam jumlah rendah. Beberapa Logam berat lain seperti timbal (Pb), kadmium (Cd), krom (Cr) dan merkuri (Hg) merupakan unsur yang tidak memiliki fungsi biologis penting namun tetap dapat terakumulasi dalam sel (Gadd, 1990; Darmono, 1995).

Logam berat dalam sel dapat berikatan dengan gugus sulfuhidril (-SH) dari asam-asam amino sehingga menyebabkan inhibisi kinerja enzim. Selain itu, kerja ion-ion fisiologis dapat terganggu oleh adanya logam berat, seperti logam Cd yang mengganggu kerja ion Zn atau Ca. Senyawa oksianion logam berat apabila tereduksi dalam sel dapat menghasilkan radikal bebas yang akan berikatan dengan Deoxyribonucleic Acid (DNA) sehingga dapat mengakibatkan mutasi (Nies, 1999). Alergi dan kanker adalah dampak yang ditimbulkan oleh adanya logam berat berbahaya di dalam sel makhluk hidup.

Paparan logam berat di lingkungan menyebabkan adanya kontak antara mikroorganisme dan logam berat. Beberapa mikroorganisme tersebut memiliki mekanisme dalam remediasi logam berat di lingkungan. Salah satunya melalui mekanisme bioremoval, yang didefinisikan sebagai terakumulasi dan terkonsentrasi polutan oleh material biologi (Suhendrayatna, 2001).

Mikroorganisme yang mampu melakukan remediasi logam berat di antaranya adalah bakteri, contohnya yaitu *Bacillus* sp, *Pseudomonas* sp, dan *Escherichia coli*; kapang, contohnya yaitu *Penicillium chrysogenum*, *Rhizopus stolonifer* dan *Aspergillus oryzae*; sementara khamir, contohnya yaitu *Saccharomyces cerevisiae* (Gupta *et al.*, 2000; Suhendrayatna, 2001).

Bioremoval logam berat dilakukan oleh mikroorganisme dengan membentuk ikatan antara sel dan logam berat, baik secara adsorpsi maupun absorpsi atau kompleksasi sehingga ion logam tersebut dapat terikat pada permukaan sel atau terakumulasi di dalam sel. Selain proses bioremoval, mikroorganisme juga dapat melakukan proses reduksi logam berat sehingga terbentuk kompleks ion logam berat yang tidak toksik (Nies, 1999; Suhendrayatna, 2001).

Masalah utama dari pencemaran logam berat adalah karena logam tersebut dapat terakumulasi sampai pada rantai makanan (Barwick and Maher, 2003; Suhendrayatna, 2001). Oleh karena itu diperlukan suatu mekanisme yang efektif untuk mengolah limbah yang mengandung logam berat dan memulihkan lingkungan yang tercemar oleh logam berat.

Remediasi logam berat di lingkungan dapat menggunakan beberapa cara seperti cara kimia, fisika dan biologi. Cara fisika dan kimia yang dilakukan biasanya membutuhkan biaya yang mahal dan memakan waktu yang cukup lama. Oleh karena itu dilakukan cara lain yaitu secara biologis menggunakan bakteri. Penggunaan bakteri sebagai metoda bioremoval mempunyai beberapa keuntungan, seperti biaya yang rendah, efisiensi yang tinggi, biosorbennya dapat diregenerasi, tidak perlu nutrisi tambahan, kemampuannya dalam me-recovery logam dan *sludge* yang dihasilkan sangat minim

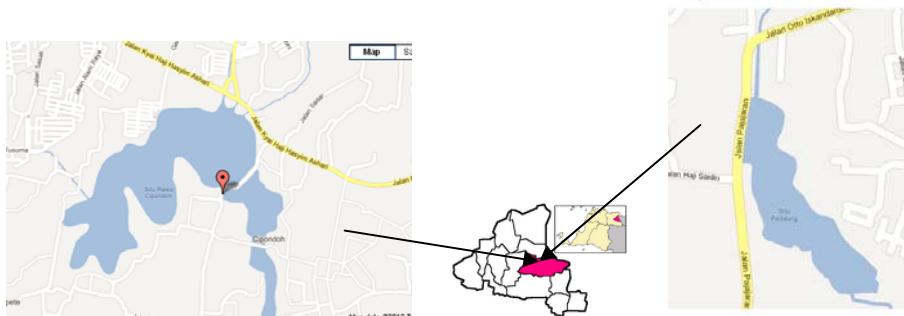
Kebanyakan bakteri yang digunakan untuk bioremoval atau bioremediasi logam berat diisolasi dari tempat yang tercemar logam berat. Beberapa ruas sungai Cisadane hilir diduga telah tercemar oleh logam berat dari limbah industri dan rumah tangga

sekitarnya. Oleh karena itu pada penelitian ini akan diisolasi dan diuji kemampuan bakteri dari sedimen Situ Cipondoh dan Situ Pamulang dalam menurunkan logam berat.

Tujuan dari penelitian ini adalah : Mendapatkan isolat bakteri yang dapat digunakan untuk aplikasi pada sistem pengolah limbah atau lingkungan tercemar logam berat. Sedangkan sasaran dari hasil penelitian ini adalah dapat dijadikan salah satu komponen dalam teknologi alternatif untuk mengurangi Pb dari sistem perairan tercemar serta diperolehnya bakteri yang dapat dimanfaatkan sebagai agen bioremediasi Pb di lingkungan.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan contoh sedimen dilakukan di perairan pada bagian tengah dan outlet Situ Cipondoh dan situ Pamulang (Kotamadya Tangerang Provinsi Banten) pada 3 Desember 2008 (Gambar 1). Pada saat bersamaan juga dilakukan pengukuran pH, konduktifitas, oksigen terlarut (DO), suhu dan turbiditas perairan. Determinasi kandungan ion Pb juga dilakukan pada air permukaan, akar dan daun salvinia (*Salvinia sp*) serta akar dan daun eceng gondok (*Eichornia crassipes*).



Gambar 1. Situ Pondoh dan Situ Pamulang di Kotamadya Tangerang-Provinsi Banten
(<http://www.nusaland.com/travel/map>)

Isolasi bakteri dilakukan dengan menggunakan metode 'pour plate'. Medium yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri adalah medium Nutrient Agar (NA) yang ditambahkan logam berat timbal (Pb) dengan konsentrasi 10, 25 dan 50 mg/L. Sebanyak 1 g sampel sedimen dimasukkan ke dalam 9 mL akuades steril (pengenceran 10^{-1}) demikian selanjutnya sampai 10^{-9} . Masing-masing pengenceran dituang satu mL ke dalam cawan petri steril yang selanjutnya dituang medium ke dalam cawan petri tersebut. Pertumbuhan bakteri diamati pada umur 24-48 jam.

Koloni bakteri yang tumbuh dimurnikan sampai benar-benar murni dengan cara menggoreskan koloni tersebut pada agar secara “*four way streak*”. Koloni bakteri murni tersebut digores ke agar miring dan dilakukan pewarnaan Gram pada umur 24 jam kemudian diamati dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 1000x . Sel bakteri dengan bentuk dan warna homogen merupakan koloni bakteri yang sudah murni.

Kurva pertumbuhan bakteri

Sebanyak 10% (v/v) inokulum monokultur bakteri diinokulasikan ke dalam labu Erlenmeyer 500 mL yang berisi 250 mL NB. Inkubasi dilakukan dalam ‘shaker inkubator’ dengan kocokan 120 rpm pada suhu kamar. Selang waktu tertentu dilakukan pengukuran jumlah sel dengan menggunakan metode kekeruhan terhadap medium yang telah mengandung biakan bakteri dengan menggunakan spektrofotometer pada λ_{600} dan penghitungan koloni secara ‘total plate count’. Kurva standar dibuat dengan menghubungkan antara OD dan log jumlah sel/mL.

Hasil pengamatan isolat bakteri dibuat dalam bentuk kurva tumbuh. Umur inokulum optimum didapatkan pada pertengahan fase eksponensial dengan jumlah sel/mL tertentu. Selanjutnya berdasarkan umur inokulum optimum tersebut masing-masing isolat diinokulasikan untuk percobaan selanjutnya.

Uji kemampuan isolat bakteri bioremoval dalam menurunkan logam berat

Uji kemampuan isolat bakteri dalam menurunkan logam berat di medium tumbuh dilakukan dengan menginokulasikan 10% (v/v) suspensi bakteri ke dalam 50 mL medium NB yang ditambahkan Pb konsentrasi 20 mg/L kemudian diinkubasi selama 24 jam. Pengukuran pertumbuhan bakteri dengan metode kekeruhan dilakukan pada jam ke-0 dan 24.

Suspensi tersebut kemudian disaring menggunakan kertas saring 0,45 μm . Sebelumnya, kertas saring ditimbang terlebih dahulu untuk menentukan bobot kertas saring kosong. Setelah terpisah dilakukan pengukuran konsentrasi Pb pada filtrat menggunakan Atomic Absorption Spectrophotometer. Kertas saring dan residu kemudian ditimbang setelah dikeringkan terlebih dahulu dengan memanaskan dalam oven 60-65 °C selama 24-48 jam (Kader *et al.*, 2007). Sebelum pengukuran dilakukan proses preparasi dengan menambahkan larutan HCl dan HNO₃ kemudian di autoklaf selama 30 menit, suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm (ASTM, 2002).

Peralatan gelas yang digunakan dalam uji resistensi dan penurunan logam berat di medium oleh bakteri, dibilas terlebih dahulu dengan larutan HNO_3 dan HCl 1:1 (Csuros and Csuros, 2002).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1 menyajikan nilai rerata parameter yang di amati pada kedua perairan situ tersebut. Nilai pH, konduktifitas, DO, suhu dan turbiditas menunjukkan bahwa kedua situ ini memang typical perairan danau dangkal di wilayah tropis (Chapman, 1996).

Tabel 1. Data parameter yang diobservasi pada Situ Cipondoh dan Situ Pamulang Desember 2008.

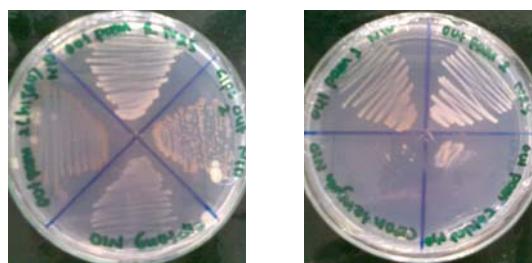
No	Parameter	Situ Cipondoh	Situ Pamulang
1	GPS	S:06°11'40.4" E: 106°40'33.3"	S:06°11'50.8" E: 106°40'28.7"
2	pH	6.90	7.12
3	Konduktifitas, mS/cm	0.283	0.152
4	DO, mg/L	5.72	4.77
5	Suhu air, °C	29.95	30.90
6	Turbiditas, NTU	10	17
7	Pb air ($\mu\text{g}/\text{L}$)	<0.01	0.22
8	Pb sediment ($\mu\text{g}/\text{g}$)	<0.01-0.54	0.22-0.62
9	Pb akar <i>Salvinia</i> ($\mu\text{g}/\text{g}$)	<0.01	*
10	Pb daun <i>Salvinia</i> ($\mu\text{g}/\text{g}$)	0.02	*
11	Pb akar <i>Eichornia</i> ($\mu\text{g}/\text{g}$)	0.17	<0.01
12	Pb daun <i>Eichornia</i> ($\mu\text{g}/\text{g}$)	<0.01	<0.01

*) tidak diukur

Konduktifitas rerata di situ Cipondoh sedikit lebih tinggi dibandingkan Situ Pamulang kemungkinan hal ini disebabkan oleh lokasi Situ Cipondoh relatif lebih banyak dikelilingi oleh sumber bahan pencemar (jalan raya lebih ramai, pasar, areal pertokoan, pemukiman padat penduduk) dibandingkan Situ Pamulang. Situ Cipondoh lebih berada di areal tengah perkotaan dibandingkan Situ Pamulang. Kandungan ion Pb di air juga masih dibawah batas aman untuk kehidupan biota akuatik menurut *Canadian Water quality standard* yaitu 10 $\mu\text{gPb}/\text{L}$. Kadar ion Pb dalam sedimen kedua situ ini juga masih dibawah background level untuk rerata sedimen danau di Amerika utara yaitu 35 $\mu\text{g}/\text{g}$ (*Canadian Council of Minister of Environment*, 1999). Demikian pula untuk kandungan Pb di makrofita akuatik yang diamati juga masih sangat rendah. Meskipun demikian upaya pencarian isolat bakteri yang potensial untuk Pb *bioremoval*

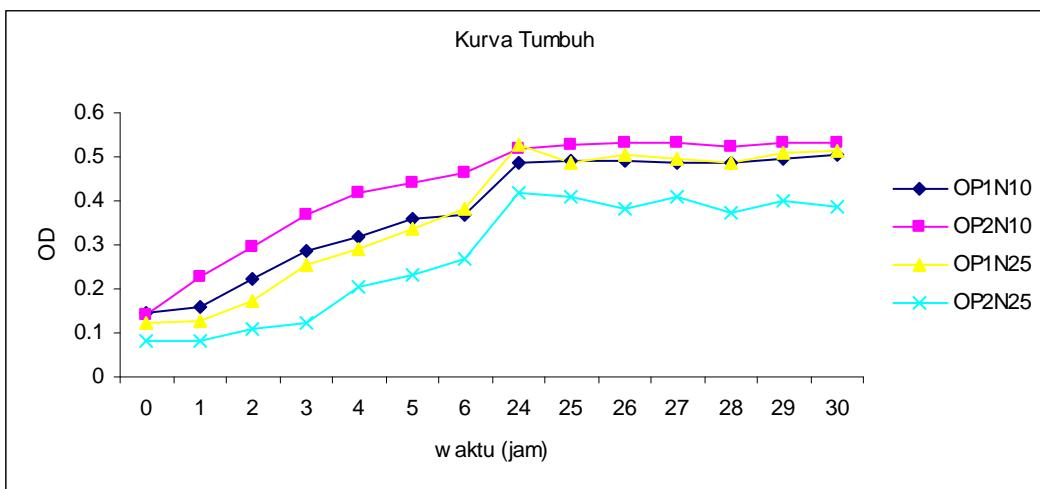
agent tetap dilakukan mengingat posisi/lokasi perairan kedua situs ini masih memiliki peluang besar untuk mendepositi Pb di bagian sedimennya.

Hasil isolasi bakteri dari sampel sedimen situs Cipondoh dan situs Pamulang menunjukkan tidak ada bakteri yang mampu tumbuh pada medium mengandung 50 mg Pb /L, namun isolat bakteri dari sedimen situs Pamulang dapat tumbuh pada medium yang mengandung 10 dan 25 mgPb/L. Isolat bakteri dari sedimen situs Pamulang yang tumbuh pada media dengan konsentrasi Pb 10 dan 25 mgPb/L berasal dari bagian outlet dengan kode OP1N10, OP2N10, OP1N25, dan OP2N25.



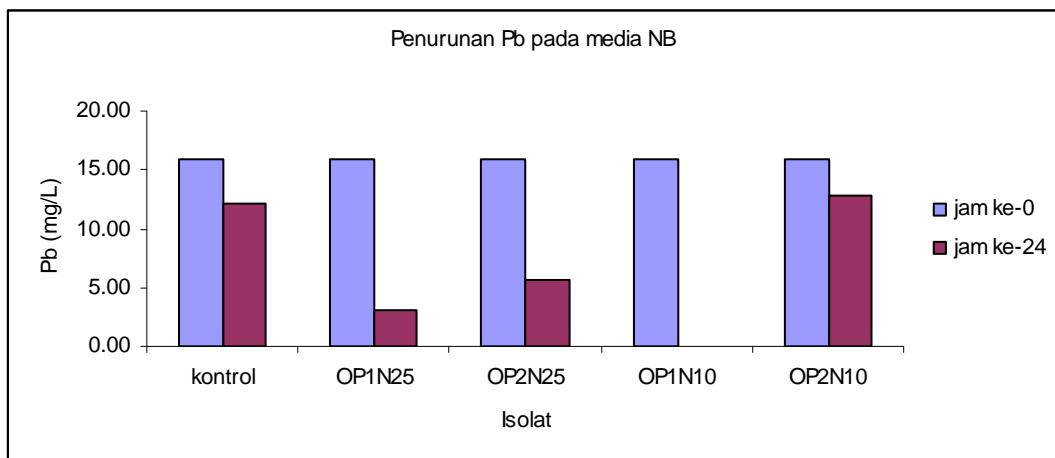
Gambar 2 Isolat bakteri yang mampu tumbuh pada media yang mengandung Pb konsentrasi 25 mg/L.

Umur inokulum optimum masing-masing isolat adalah jam ke- 4 untuk isolat OP2N10 dan OP1N25, serta antara jam ke-3 dan 4 untuk isolat OP1N10 dan OP2N25.



Gambar 3. Kurva pertumbuhan isolat bakteri OP2N10, OP1N25, OP1N10, dan OP2N25.

Keempat isolat tersebut kemudian ditumbuhkan pada media pertumbuhan yang mengandung Pb konsentrasi 20 mg/L dan diinkubasi selama 24 jam. Pada jam ke-0 dan 24 dilakukan pengukuran konsentrasi Pb pada filtrat dan residu atau sel bakteri. Hasil pengukuran konsentrasi Pb adalah sebagai berikut:



Gambar 4. Penurunan konsentrasi Pb dalam media pertumbuhan yang ditambahkan 20 mgPb/L. Keterangan: kontrol = medium pertumbuhan tanpa inokulum bakteri.

Penurunan konsentrasi Pb tertinggi tampak pada isolat OP1N10 sebesar 100% sedangkan penurunan konsentrasi Pb terendah tampak pada isolat OP2N10. Isolat OP1N25 memiliki kemampuan menurunkan konsentrasi Pb sebesar 74% dan isolat OP2N25 memiliki kemampuan sebesar 53%. Kemampuan bakteri dalam menurunkan konsentrasi logam berat di lingkungan tumbuhnya dapat disebabkan karena kemampuan bakteri dalam mengakumulasi logam berat tersebut. Bakteri memiliki permukaan sel yang bermuatan negatif karena terbentuk dari berbagai struktur anion sedangkan logam berat adalah ion bermuatan positif sehingga dapat terjadi ikatan antara permukaan sel bakteri dan ion logam berat (Niu *et al.*, 1993). Bakteri juga dapat mengakumulasi logam berat di dalam sel dengan membentuk ikatan antara logam berat dengan suatu protein dalam sel yang disebut metalotionein (Gadd, 1990).

Kemungkinan Isolat-isolat bakteri dalam penelitian ini memiliki kemampuan dalam mengakumulasi Pb di atau dalam selnya. Hasil pengukuran konsentrasi Pb dari sel bakteri dalam waktu 24 jam adalah sebagai berikut:

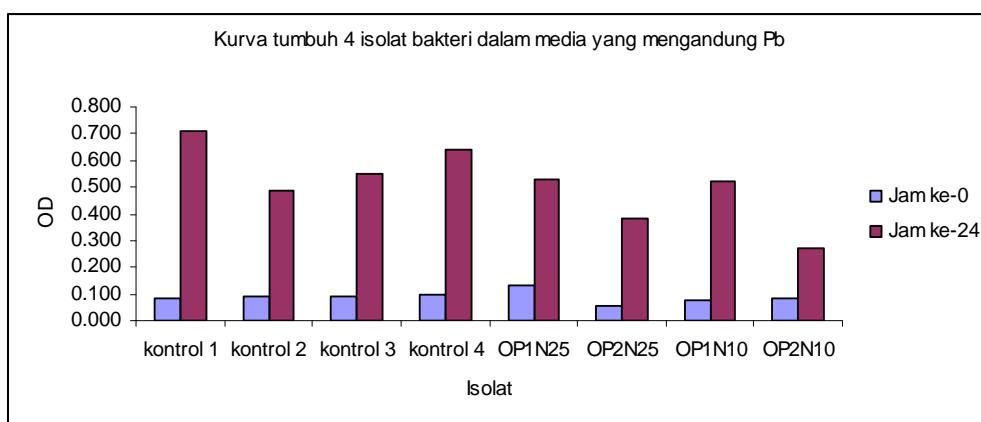
Tabel 1. Konsentrasi Pb di sel isolat bakteri

Kode isolat	Konsentrasi Pb di sel bakteri ($\mu\text{g/g sel}$)	
	Jam ke-0	Jam ke-24
Kontrol 1	tt	tt
Kontrol 2	tt	tt
Kontrol 3	tt	tt
Kontrol 4	tt	tt
OP1N10	tt	189,25
OP2N10	tt	87,79
OP1N25	tt	220,75
OP2N25	tt	160,65

Akumulasi Pb tertinggi terdapat pada isolat OP1N25 yaitu sebesar 220,75 $\mu\text{g/g}$ sel. Jika dibandingkan dengan isolat OP1N10, penurunan konsentrasi Pb oleh isolat OP1N25 lebih rendah namun akumulasinya di sel lebih tinggi. Nilai rapat optis isolat OP1N25 lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrolnya pada jam ke-24. Kemungkinan laju akumulasi Pb di sel bakteri ini tinggi sehingga mengakibatkan toksik dan akhirnya mempengaruhi pertumbuhan bakteri itu sendiri. Kemampuan bakteri

dalam menurunkan logam berat di lingkungan tumbuhnya juga dipengaruhi oleh jumlah sel sehingga jumlah sel yang rendah akan menurunkan kemampuannya dalam menurunkan konsentrasi logam berat di lingkungannya.

Isolat OP1N10 kemungkinan juga memiliki resistensi terhadap Pb sehingga pertumbuhan sel tidak terganggu dengan adanya Pb di lingkungan tumbuhnya. Hal tersebut tampak dari nilai rapat optisnya dimana dalam waktu 24 jam naik dari 0,07 menjadi 0,52. Kondisi tersebut sama dengan kontrol dimana bakteri tumbuh dalam media yang tidak mengandung Pb. Nilai rapat optis isolat OP2N10 jika dibandingkan dengan kontrol tampak berbeda. Pada media yang tidak mengandung Pb, nilai rapat optis naik dari 0,09 menjadi 0,55 sedangkan pada media yang mengandung Pb nilai rapat optis naik dari 0,09 menjadi 0,27. Kemampuan resistensi isolat OP2N10 kemungkinan rendah sehingga tidak optimal dalam menurunkan Pb di media tumbuhnya.



Gambar 5. Kurva tumbuh 4 isolat bakteri dalam media NB yang ditambahkan Pb 20 mg/L. Keterangan: Kontrol = bakteri yang ditumbuhkan dalam media tanpa Pb, 1= OP1N25, 2= OP2N25, 3= OP1N10, 4= OP2N10.

KESIMPULAN

Isolat berasal dari sedimen perairan situ Pamulang berpotensi untuk dijadikan agen bioremediasi Pb. Penurunan konsentrasi Pb tertinggi dimiliki oleh isolat OP1N10. Akumulasi konsentrasi Pb tertinggi dimiliki oleh isolat OP1N25.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih pada Puslit Limnologi-LIPI yang telah membiayai kegiatan ini melalui kegiatan Tolok Ukur Pengembangan Sistem Analisis dan Kajian Toksisitas Logam Berat pada Lingkungan Perairan Darat-Program DIPA 2008.

DAFTAR PUSTAKA

- ASTM Designation: D 1971-02. (2002). Standard Practises for digestion of water samples for determination of metals by flame atomic absorption, graphite furnace atomic absorption, plasma emission spectroscopy, or plasma mass spectrometry. An American National Standard. Annual book of ASTM Standards, Vol.11.01
- Barwick, M and W.Maher. 2003. Biotransference and biomagnifications of selenium,copper,cadmium,zinc,arsenic and lead in a temperate seagrass ecosystem from Lake Macquarie estuary, NSW. Australia. Marine Environmental Research 56(2003) Elsevier Science Direct. page 471-502.
- Canadian Environmental Quality Guidelines. (1999). Canadian water quality guidelines for the protection of aquatic life. Canadian council of minister of the environment.
- Chapman, D. (Ed.). (1996). Water quality assessments. A guide to the use of biota, sediments and water in environmental monitoring. Second edition. Published on Behalf of UNESCO/WHO/UNEP. University Press, Cambridge.
- Atlas, R. M. dan R. Bartha.1993. Microbial Ecology. Fundamentals and applications. 3rd (Ed.). The Benjamin/Cummings Publishing Co. Inc. Redwood. 563 p.
- Cappuccino, J.G & N. Sherman. 1987. *Microbiology: a laboratory manual*. The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc, California.
- Church, T. M., and Scudlark, J. R. 1997. Trace Metals In Estuaries : A Delaware Bay Synthesis. In Allen, H. E. .et. al (Eds). Metals in Surface Waters. Ann Arbor Press. USA. 262 p.
- Csuros, M and Csuros,C. (2002). Sample collection for metal analysis. Dalam buku Environmental sampling and analysis for metals.Lewis Publisher. A CRC Press Company. Boca Raton. 371 p.
- Gadd, G.M. 1990. Environmental Biotechnology: Microbiology of extreme environment. McGraw-Hill Publ.Co. New York
- Kader, J., P. Sannasi, O.Othman, B.S. Ismail & S. Salmijah. 2007. Removal of Cr (VI) from aqueous solutions by growing and non-growing populations of

- environmental bacteria consortia. Global Journal of Environmental Research (1): 12-17.
- Nies, D.H. 1999. Microbial heavy metal resistance: molecular biology and utilisation for biotechnological processes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **51**: 730-750.
- Nies, D.H. & S. Silver. 1995. Ion efflux systems involved in bacterial metal resistances. *Journal of Industrial microbiology* **14**: 186-199.
- Suhendrayatna, 2001. Bioremoval Logam Berat Dengan Menggunakan Microorganisme: Suatu Kajian Kepustakaan. Institute for Science and Technology Studies (ISTECS). Department of Applied Chemistry and Chemical Engineering Faculty of Engineering, Kagoshima. University Korimoto, Kagoshima, Japan.